UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (UNIRIO)

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE (CCBS)

INSTITUTO BIOMÉDICO (IB)

CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

RODRIGO DE LIMA PIMENTEL

EFEITOS DA ELETROESTIMULAÇÃO TRANSCUTÂNEA EM PONTOS DE ACUPUNTURA SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR E O ESTRESSE OXIDATIVO

RIO DE JANEIRO

2018

RODRIGO DE LIMA PIMENTEL

EFEITOS DA ELETROESTIMULAÇÃO TRANSCUTÂNEA EM PONTOS DE ACUPUNTURA SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR E O ESTRESSE OXIDATIVO

Monografia apresentada ao curso de graduação em Biomedicina da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como pré-requisito para a obtenção do grau de bacharel.

Professor orientador: Luiz Fernando Rodrigues Junior

RIO DE JANEIRO

2018

RODRIGO DE LIMA PIMENTEL

EFEITOS DA ELETROESTIMULAÇÃO TRANSCUTÂNEA EM PONTOS DE ACUPUNTURA SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR E O ESTRESSE OXIDATIVO

Monografia apresentada ao curso de graduação em Biomedicina da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como pré-requisito para a obtenção do grau de bacharel.

Aprovado em..... de ..... de 2018

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Ms. Marcelo Carvalho Vieira - IECAC

_____

Profª. Dra. Cristiane Barbosa Rocha - UNIRIO

_____

Prof. Dr. Luiz Fernando Rodrigues Junior - UNIRIO

AGRADECIMENTOS

À minha mãe e meu pai, agradeço por estarem sempre ao meu lado, a me apoiarem em tudo, a me ensinarem valores que levarei por toda minha vida e por dedicarem a vida de vocês à criação do meu irmão e a minha, vocês são a minha base e o meu maior tesouro, meu maior objetivo é que eu possa orgulhá-los cada vez mais e dar a vocês tudo o que merecem.

Ao meu irmão, por sempre estar presente nos melhores e piores momentos da minha vida e que mesmo com seu jeito mais esmerado e protetor faz questão de estar comigo e de se importar comigo.

À Cida, minha madrinha e extensão da minha família, por tudo o que fez e faz por mim e pela minha família, e por sempre nos socorrer nas dificuldades.

Ao meu companheiro, Renan Pessoa, por ter sido o melhor presente da minha vida, suportar-me nos momentos mais difíceis, consagrar os momentos mais felizes, tornar-me mais responsável e focado, ser meu escape do estresse do dia-a-dia e por mostrar que a determinação e o amor são sinônimos.

Aos meus queridos amigos da UNIRIO, os que entraram na turma de 2014.1 e os que a ela foram agregados, nos tornando um grupo heterogêneo, mas muito unido. À Geyzzara Diniz, Gisele Souza, Jéssica Blanco, Juliana Magalhães, Michelle Gomes, Nicole Chaparro, Raquel Gorrera e Yara Dabdab, sintam-se igualmente agradecidos. Agradeço por serem motivo de muitas das minhas risadas, por compartilharem um pouco da vida de vocês comigo e por me lembrarem que embora sozinho talvez se chegue mais rápido, junto com certeza se chegará mais longe.

Especialmente, agradeço a Jéssica Blanco e a Juliana Magalhães, mais do que amigas, vocês se tornaram minhas irmãs, as pessoas com quem eu passei a compartilhar os meus sentimentos e inseguranças. Graças a nossa amizade suportamos com êxito os obstáculos e provações da faculdade. Com vocês, sinto a segurança de uma amizade verdadeira que perdurará além dos muros da faculdade.

Aos meus cachorros Bob, Nina e Zeus, que mesmo sem entender nada, tem o amor mais puro do mundo e retribuem muito mais do que damos a eles, sem pedir nada em troca, no máximo uma coçada na barriga ou um pouquinho de atenção.

Às professoras Patrícia O'Campo e Karla Loureiro, por terem me ensinado muito além de suas disciplinas e dos conceitos práticos e teóricos, por externar o amor

à profissão e realmente se preocuparem com seus alunos, os aproximando ao seu lado caritativo.

Ao meu orientador, Luiz Fernando Rodrigues Júnior, por ter me aceitado como aluno de iniciação científica, ter me apresentado um novo olhar sobre o mundo da pesquisa e por ter se tornado um grande amigo. Agradeço por todas as vezes que me ajudou e me ensinou, onde bastava apenas uma caneta e um rascunho para que os assuntos mais complexos se clarificassem, por estar sempre disponível e receptivo.

Finalmente, a todos que contribuiram para esta e todas as outras pesquisas.

“*A persistência é o menor caminho do êxito.”*

(Charles Chaplin)

RESUMO

Introdução: A eletroestimulação transcutânea em pontos de acupuntura (TEAS) pode ativar tecidos profundos e induzir os efeitos da acupuntura sem a introdução de agulhas. Embora já tenha sido demonstrado que a estimulação com agulhas no acuponto Neiguan (PC-6) induz respostas ao estresse oxidativo e efeito cardioprotetor, os efeitos da TEAS neste acuponto sobre o estresse oxidativo nunca foi relatado. **Objetivo:** Avaliar efeitos da eletroestimulação transcutânea no ponto de acupuntura Neiguan (PC6) sobre o estresse oxidativo em indivíduos saudáveis. **Metodologia:** Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado que utilizou sujeitos saudáveis do sexo masculino (18 a 30 anos), recrutados aleatoriamente no campus da UNIRIO. Foram alocados randomicamente em grupo Controle (N=14), grupo Placebo (N=14) e grupo Eletroestimulado (TEAS, N=13), e submetidos ao protocolo experimental, que consistiu em: período de acomodação (20 minutos); período de eletroestimulação (40 minutos); e período de recuperação (30 minutos) . Para estudo do estresse oxidativo utilizou-se a dosagem de ROS utilizando a sonda fluorimétrica DCFH-DA em amostras de saliva. Uma revisão sistemática nas bases Pubmed e SciELO foi realizada para verificar os achados mais recentes na bibliografia e relacioná-los à DCVs. CAAE: 47780515.3.0000.5285. **Resultados:** A TEAS no acuponto PC6 não modificou significamente o estado oxidativo no grupo TEAS, quando comparado aos grupos Controle e Placebo. Não foram encontrados estudos que abordem o uso da TEAS no estresse oxidativo. **Conclusão:** Os resultados sugerem que a TEAS no ponto de acupuntura PC6, em indivíduos saudáveis, não altera o estresse oxidativo.

Palavras-chave: Estresse oxidativo; Eletroestimulação transcutânea em ponto de acupuntura; Neiguan; PC6; Cardioproteção.

ABSTRACT

Introduction: Transcutaneous electrical acupoints stimulation (TEAS) can activate deep tissue and induce the effects of acupuncture without the introduction of needles. Although it has been shown that needle stimulation in the Neiguan acupoint (PC-6) induces responses to oxidative stress and cardioprotective effect, the effects of TEAS in this acupoint on oxidative stress have never been reported. **Objective:** To evaluate the effects of transcutaneous electrostimulation at the Neiguan acupuncture point (PC6) on oxidative stress in healthy individuals. **Methodology:** A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial using healthy male subjects (18-30 years old) randomly recruited at the UNIRIO campus. They were randomly assigned to a control group (N=14), Placebo group (N=14) and an electrostimulated group (TEAS, N=13), and submitted to the experimental protocol, which consisted of an accommodation period (20 minutes); electrostimulation period (40 minutes); and recovery period (30 minutes). For the study of oxidative stress the ROS dosage was used the fluorometric probe DCFH-DA in saliva samples was used. A systematic review of the PubMed and SciELO databases was performed to verify the most recent findings in the literature and to relate them to CVDs. CAAE: 47780515.3.0000.5285. **Results:** The TEAS in the acupoint PC6 did not significantly modify the oxidative status in the TEAS group when compared to the Control and Placebo groups. There are no studies that discuss the use of TEAS in oxidative stress. **Conclusion:** The results suggest that TEAS at PC6 acupuncture point in healthy individuals does not change oxidative stress in healthy individuals.

Keywords: Oxidative stress; Transcutaneous electrical acupoints stimulation; Neiguan; PC6; Cardioprotection.

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

CA – Circunferência Abdominal

CQ – Circunferência do Quadril

DAC – Doença Arterial Coronariana

DCF - 2'-7'diclorofluoresceína

DCFH-DA - 2’7’-diclorofluoresceína diacetato

DCV – Doença Cardiovascular

DCNT - Doença Crônica Não Transmissível

DIC – Doença Isquêmica do Coração

EA – Eletroacupuntura

FC – Frequência Cardíaca

HF – Alta frequência

Hz – Hertz

IAM – Infarto Agudo do Miocárdio

IMC – Índice de Massa Corporal

GSH – Glutadiona-reduzida

GSH-Px – Glutationa-peroxidase

GSSG – Glutadiona-oxidada

LF – Baixa frequência

PA – Pressão Arterial

PBS – Tampão fosfato-salino

PC6 – Pericárdio 6

PIR – Precondicionamento Isquêmico Remoto

RCQ – Relação Cintura-quadril

SARA – Síndrome da Angústia Respiratória Aguda

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

SOD - Superóxido-dismutase

SUS – Sistema Único de Saúde

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TEAS – *Transcutaneous Electrical Acupoints Stimulation*

U.F. – Unidade de Fluorescência

ULF – Frequência ultra baixa

VFC – Variabilidade da Frequência Cardíaca

VLF – Frequência muito baixa

XO – Xantina Oxidase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação da localização anatômica do acuponto Neiguan (PC6).....6

Figura 2: EROs vascular. 8

Figura 3: Sinalização intracelular mediada por ERO.....10

Figura 4: Representação esquemática do protocolo experimental.....17

Figura 5: Princípio da reação do ensaio de dosagem de ROS.....19

Figura 6: Desenho esquemático representativo do estudo. 21

Figura 7: Fluxograma do processo de seleção dos artigos realizado na revisão sistemática sobre o uso de acupuntura, eletroacupuntura e eletroestimulação em ponto de acupuntura relacionado a doenças cardiovasculares.....24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados antropométricos.....22

Tabela 2: Comparação do estresse oxidativo, por período e grupo, em relação ao grupo controle. 23

Tabela 3: Artigos incluídos na revisão de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. 25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1

1.1. Acupuntura, Eletroacupuntura e Eletroestimulação Transcutânea em Pontos de Acupuntura.....4

1.2 Ponto de Acupuntura Neiguan (PC6) 5

1.3. Estresse Oxidativo e Fatores de Risco Cardiovascular 7

1.4 Cardioproteção com o uso de métodos alternativos.....11

2. OBJETIVOS 13

2.1 Objetivo Geral.....13

2.2 Objetivos Específicos.....13

3. MATERIAIS E MÉTODOS.....14

3.1. Revisão Bibliográfica dos Efeitos dos Métodos Alternativos nas Doenças Cardiovasculares 14

3.1.1 Critérios de inclusão e exclusão.....14

3.2 Ensaio experimental 14

3.3. Eletroestimulação Transcutânea no Ponto de Acupuntura Neiguan PC6 16

3.4. Ensaio de Estresse Oxidativo em Saliva.....17

3.4.1 Dosagem de Proteínas Totais.....17

3.4.2 Dosagem de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) 17

3.5. Análise estatística.....19

4. RESULTADOS 20

4.1. Participação.....20

4.2. Variáveis antropométricas 22

4.3. Estresse Oxidativo.....23

4.4. Revisão 23

5. DISCUSSÃO 28

5.1 Análise Bibliográfica e Pré-experimental 28

5.2 TEAS na modulação do estresse oxidativo 31

6. CONCLUSÃO 34

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 35

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCVs) englobam as doenças do coração, doenças cerebrovasculares (DCBV) e doenças dos vasos sanguíneos (Beere *et al.*, 2000; Netter, 2000). Essas doenças geralmente causam resultados negativos na qualidade de vida, limitações na vida social e no trabalho e muitas vezes levam à morte prematura (Cipriano *et al.*, 2014). As DCVs correspondem à maior causa de morte no mundo, sendo responsáveis por cerca de 17,3 milhões de óbitos por ano, podendo chegar a mais de 20,3 milhões até 2030,. Mais de 3 milhões desses óbitos ocorreram em indivíduos com menos de 60 anos de idade e em grande parte poderiam ser evitadas com simples medidas de incentivo à mudanças em hábitos de vida (Laslett *et al.*, 2012).

Estima-se que 45,9% dos indivíduos em todo o mundo tenham algum tipo de doença crônica não transmissível (DCNT), sendo a mais frequente a DCV (Lessa *et al.*, 1996), com uma prevalência no Brasil de aproximadamente 35% em indivíduos com 40 anos ou mais (Ribeiro *et al.*, 2012). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 17,5 milhões de pessoas morreram por DCVs em 2012, representando 31% de todas as mortes em nível global (World Health Organization, 2010). Desses óbitos, estima-se que 7,4 milhões ocorreram devido às doenças coronarianas e 6,7 milhões devido a acidentes vasculares cerebrais (AVCs) (Mendis *et al.*, 2011). O número global de óbitos por DCV aumentou durante a última década em 12,5% (Coli, 2016), sendo que nas duas últimas décadas, a prevalência de DCVs em países de baixa e média renda têm sido ainda mais preocupantes, correspondendo a 80% dos óbitos totais (Moran *et al.*, 2014).

No Brasil, a alta prevalência de DCVs e suas complicações são responsáveis por um alto custo com internações e medicamentos, representando 69% dos gastos hospitalares no Sistema Único de Saúde (SUS). No ano de 2007, ocorreram 1.155.489 internações por doenças cardiovasculares, com custo global de R$ 1.466.421.385,12 e um total de 91.182 óbitos. Estima-se que o custo global do investimento em prevenção e tratamento das DCVs será de US$ 47 trilhões nos próximos 25 anos (Laslett *et al.*, 2012). O impacto econômico oriundo dos gastos pelas DCVs é uma grande ameaça ao desenvolvimento social e econômico, principalmente em virtude da expressiva morbidade e influência na qualidade de vida e produtividade da

população adulta, além da grande proporção de óbitos prematuros (Villela *et al.*, 2014).

Os principais fatores ambientais modificáveis das DCV são os hábitos alimentares inadequados, como consumo elevado de sódio, lipídios, ácidos graxos saturados e trans, e colesterol, o sedentarismo e a obesidade, associados às mudanças no estilo de vida como a cessação do tabagismo e o controle do estresse psicoemocional. Desta forma, uma mudança de estilo de vida poderia contribuir para uma redução de risco cardiovascular (V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2007; Mendis *et al.*, 2011).

A doença isquêmica do coração (DIC) ou doença arterial coronariana (DAC) destaca-se como umas das DCVs de maior incidência e maior taxa de óbitos no mundo (Baena, 2013). No Brasil, embora com implementação e atuação das políticas públicas de prevenção das DCVs, a mortalidade por DAC não foi reduzida nos últimos anos (Mansur e Favarato, 2016), sendo os indivíduos do sexo masculino os mais acometidos (Villela *et al.*, 2014).

A DAC é uma doença inflamatória das artérias coronárias que está diretamente relacionada à disfunção endotelial e ao processo de aterosclerose (Herman e Moncada, 2005). O processo de aterosclerose pode ser instituído em condições fisiológicas normais, apresentando características de aleatoriedade e espontaneidade. Entretanto, distúrbios metabólicos, fisiológicos e hábitos comportamentais aumentam significativamente sua ocorrência e progressão (Gottlieb *et al.*, 2005). Na DAC, a perfusão do tecido muscular cardíaco se torna ineficiente, estando associado ao grau de obstrução do lúmen vascular coronariano pela formação de placas ateroscleróticas (Pinho *et al.*, 2010) e consequente agregação plaquetária, com a formação de trombos. Com isso, desenvolve-se um quadro de isquemia tecidual que pode levar à morte celular, constituindo o quadro clínico do Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) (Mendis *et al.*, 2011).

O IAM é uma das principais manifestações clínicas da DAC e decorre da redução abrupta e obstrução do lúmen coronariano pela formação de trombo local, desencadeado pela desestabilização da placa aterosclerótica e/ou vasoespasmo sobre a placa, levando ao quadro de isquemia (Gottlieb *et al.*, 2005). Assim, o miocárdio sofre danos progressivos de acordo com o tempo de evolução, representados pela área de isquemia, lesão e necrose tecidual, sucessivamente (Pesaro *et al.*, 2004).

A restauração do fluxo sanguíneo após o estabelecimento da isquemia miocárdica pode ser um tratamento que vise reduzir a morte celular, mas não é um procedimento inteiramente benigno (Williams, 1996). O rápido reestabelecimento do fluxo sanguíneo pode ocasionar arritmias de reperfusão, disfunção contrátil do miocárdio, geração de radicais livres, aumento da sobrecarga de cálcio e infiltração de neutrófilos que levam a uma exacerbação da injúria tecidual(Park e Lucchesi, 1999). Essa injúria de reperfusão ocorre também em cirurgias cardíacas que utilizem cardioplegia com clampeamento aórtico, sendo a magnitude da lesão tecidual dependente do tempo total de isquemia miocárdica (Salerno *et al.*, 2009).

Embora tenha ocorrido avanço no tratamento farmacológico da injúria miocárdica de reperfusão, o manejo clínico desta condição ainda é inadequado. Este contexto permite o desenvolvimento de novas estratégias cardioprotetoras que amenizem a injúria miocárdica de reperfusão (Yang *et al.*, 2010). O precondicionamento isquêmico remoto (PIR), em que a cardioproteção contra eventos isquêmicos com potencial letal é induzida por breves períodos de isquemia em tecidos remotos ao coração (Mastitskaya *et al.*, 2012), é um exemplo de intervenção que demonstrou reduzir a extensão da lesão miocárdica perioperatória em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica (Hausenloy *et al.*, 2007).

Os mecanismos envolvidos no PIR ainda não foram totalmente elucidados, porém, acredita-se que a indução da cardioproteção envolve a liberação e/ou produção de mediadores pelo tecido isquêmico, ainda que as substâncias envolvidas não tenham sido definitivamente identificadas (Hausenloy *et al.*, 2007).

Alguns autores apoiam a hipótese de que a cardioproteção seria induzida pela liberação de fatores humorais na corrente sanguínea a partir do estímulo isquêmico remoto em diversos órgãos, como rins, mesentério e músculo esquelético (Costa *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2010)). Outros autores defendem a hipótese neuronal, a qual alega que as substâncias produzidas por tecidos remotos submetidos à isquêmica atuam localmente em vias neurais aferentes, ativando vias eferentes para a indução da cardioproteção (Costa *et al.*, 2013). Ou seja, a cardioproteção poderia depender da estimulação nervosa.

1.1 Acupuntura, Eletroacupuntura e Eletroestimulação Transcutânea em Pontos de Acupuntura

A acupuntura é um método terapêutico tradicional do leste asiático, datado de mais de 2000 anos (Ren *et al.*, 2010). Este é baseado na estimulação neural periférica pela introdução de agulhas em regiões específicas da superfície do corpo, denominadas acupontos ou pontos de acupuntura, com o intuito de promover alterações orgânicas e funcionais para fins terapêuticos ou simplesmente neuromodulação (Jiang, 2003). A acupuntura é uma potente forma de estimulação sensorial, sendo este o ponto-chave, no qual a comunidade científica ocidental iniciou os estudos, investigando sua eficácia e seus mecanismos fisiológicos de ação primeiramente sobre o alívio da dor. Recentemente é crescente o número de estudos em um amplo espectro de patologias com diversas origens, como as infecciosas, inflamatórias, as disfunções do sistema nervoso autônomo (SNA), periférico e central e os transtornos metabólicos (Andersson e Lundeberg, 1995; Kaptchuk, 2002).

A eletroacupuntura (EA) é um método derivado da acupuntura em que a estimulação do acuponto é realizada por meio de corrente elétrica pulsátil aplicada através das agulhas metálicas a partir de um aparelho eletroestimulador (Ma, D. *et al.*, 2015). Uma das principais vantagens na utilização da EA, no âmbito clínico ou de pesquisa, é sua capacidade de definir a intensidade de forma objetiva e quantificável, através da alteração da amplitude de onda e frequência (Napadow *et al.*, 2005).

Já é sabido que a EA inibe efeitos simpáticos por regulação da expressão de óxido nítrico sintase (NOS) no sistema nervoso central (Ma e Li, 2002; Chen e Ma, 2003). O óxido nítrico (NO), que é produzido por células endoteliais vasculares a partir do seu precursor, é um vasodilatador potente e desempenha um papel anti-hipertensivo importante na homeostase da pressão arterial (PA) (Li *et al.*, 2012). O efeito depressor da EA na pressão sanguínea é causada principalmente pela vasodilatação dos vasos mesentéricos causado pela inibição do tônus simpático, responsável pela vasoconstrição (Li *et al.*, 2012).

A eletroestimulação transcutânea em ponto de acupuntura (TEAS, do inglês *transcutaneous electrical acupoints stimulation*) é uma metodologia que se baseia em mecanismos similares ao da acupuntura para obter efeitos terapêuticos (Ma, D. *et al.*, 2015). A TEAS se baseia na aplicação de corrente elétrica pulsátil na superfície da pele, nas regiões correspondentes aos acupontos, por meio de eletrodos. Estudos

realizados com ratos demonstraram que a eficácia e os mecanismos de resposta a analgésicos induzidos pela TEAS são semelhantes aos induzidos por eletroacupuntura (Ma, D. *et al.*, 2015). Ademais, foi demonstrado que a estimulação elétrica em ponto de acupuntura com o uso de eletrodos consegue atingir tecidos mais profundos e induzir os efeitos pretendidos com a acupuntura, sem a necessidade da utilização de agulhas (Ni *et al.*, 2012; Ma, D. *et al.*, 2015), reduzindo, portanto, as intercorrências decorrente do uso da agulha como o incômodo da perfuração, risco de futuras infecções (Chan *et al.*, 2017) e de argiria localizada (Park *et al.*, 2017).

Os benefícios do tratamento com TEAS para o sistema cardiovascular ainda são pouco estudados, e grande parte dos mecanismos desta técnica ainda não estão totalmente elucidados. Estudos relacionados a modulação do SNA e seu papel no desenvolvimento e progressão de doenças cardiovasculares já estão emergindo como uma estratégia terapêutica para o tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares, como a insuficiência cardíaca (He *et al.*, 2016).

1.2 Ponto de Acupuntura Neiguan (PC6)

O acuponto PC6 está localizado entre os tendões do músculo flexor carpo-radial e do músculo palmar longo, 2 cun acima do punho, no centro do lado anterior do antebraço, entre os tendões (Figura 1). Cun é uma unidade chinesa tradicional de comprimento, sua medida tradicional é a largura do polegar da própria pessoa (Roboubi, 2006). A aplicação de estímulos neste acuponto, tanto mecânico quanto elétrico, tem demonstrado diversos efeitos. Em uma revisão sistemática, a estimulação do acuponto PC6 produziu efeitos benéficos clinicamente significativos na redução da incidência de náuseas e vômitos e da necessidade do uso de antieméticos (Stott, 2016).

Em outros estudos, a estimulação do ponto PC6 em conjunto com outros acupontos tem sido utilizada para avaliar a redução dos sintomas de abstinência em indivíduos viciados em substâncias opioides. Foi relatada a utilização de EA nos pontos PC6 e ST36 em indivíduos viciados em heroína e observou-se que esta intervenção poderia potencialmente reduzir as taxas de recaída, inibindo o viés de atenção à heroína (Motlagh *et al.*, 2016). A mesma associação de acupontos foi relacionada com o aumento da sedação em pacientes submetidos à cirurgia

abdominal com o uso de Propofol (Chen *et al.*, 2015). Estudos recentes definiram a eficácia da EA no tratamento e alívio da dor abdominal em pacientes com pancreatite aguda, quando associado o acuponto PC6 a outros acupontos periféricos (Jang *et al.*, 2018). Entretanto, o uso do acuponto PC6 tem se destacado devido a sua influência sobre o sistema cardiovascular.

A estimulação do PC6 em modelo animal e em humanos, tanto com o uso da acupuntura quanto da EA, atua modificando parâmetros cardiovasculares relacionados à modulação do SNA de indivíduos com distúrbios cardiovasculares (Meng, 2004; Tsou *et al.*, 2004; Sahmeddini *et al.*, 2012; Wang, X. *et al.*, 2015).

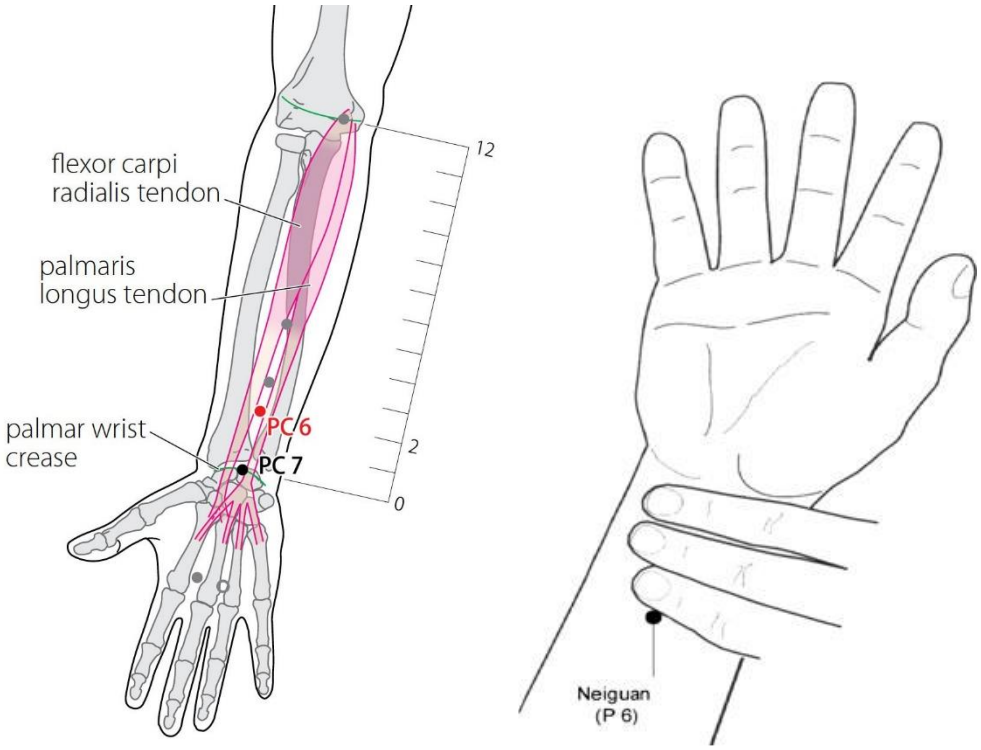

Figura 1: Representação da localização anatômica do acuponto Neiguan (PC6).
Fonte: Adaptado de (Who, 2008) e (Ni *et al.*, 2012).

Em pacientes com DAC, os valores médios da fração de ejeção ventricular esquerdo aumentou significativamente no início, durante e após 15 minutos de acupuntura em PC6 (Ho *et al.*, 1999). Efeito semelhante foi observado em um estudo

clínico em pacientes com angina, utilizando técnica de análise quantitativa por angiografia de radionuclídeos em equilíbrio (ARNE) (Liu *et al.*, 2014).

1.3 Estresse Oxidativo e Fatores de Risco Cardiovascular

No sistema cardiovascular o equilíbrio entre agentes óxido-redutores (ou radicais livres), e o sistema de defesa antioxidante é essencial (Ferreira e Matsubara, 1997). O estresse oxidativo é consequência da produção endógena de agentes óxido-redutores ou espécies reativas de oxigênio (EROs) em resposta a situações não-fisiológicas, como a exposição da célula a agente xenobióticos (Ferreira e Matsubara, 1997) e as desordens do sistema imune e vascular em resposta a diversas patologias (Dusse *et al.*, 2003).

As EROs incluem radicais livres tais como o superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peroxinitrito ($ONOO^-$), oxigênio singlete ($^1O_2$), radical hidroxila ($HO^\bullet$) e os não radicais como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Tousoulis *et al.*, 2008), sendo produtos do metabolismo celular aeróbico pela redução da molécula de oxigênio (Nickenig e Harrison, 2002). As fontes de EROs incluem enzimas como a xantina oxidase (XO), ciclooxigenases, lipooxigenases, mieloperoxidases, monooxigenase do citocromo P450, óxido nítrico sintetase (NOS), peroxidases e a NADPH oxidase (Griendling e Fitzgerald, 2003).

As células possuem sistemas de proteção que podem atuar tanto detoxificando o agente antes que ele cause lesão, quanto reparando a lesão ocorrida; o primeiro sistema é representado pela glutationa reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase, glutationa-peroxidase (GSH-Px) e pela vitamina E. Já o segundo sistema é constituído pelo ácido ascórbico, pela glutationa-redutase e pela GSH-Px, entre outros. A maioria dos agentes antioxidantes está no meio intracelular, com exceção da vitamina E (α-tocoferol), que é um antioxidante estrutural da membrana (Ferreira e Matsubara, 1997).

Na presença e seguinte inativação de um agente oxidante, ocorre a conversão da GSH a glutadiona-oxidada (GSSG) (Shan *et al.*, 1990). Nas circunstâncias em que o sistema óxido-redução esteja íntegro, ocorrerá a recuperação da GSH. Entretanto, em condições de excesso de agentes oxidantes e/ou deficiência dos sistemas de proteção, haverá um maior consumo de GSH elevando a razão GSSG/GSH, o que caracteriza o estresse oxidativo (Ramsay e Singer, 1992; Ferreira e Matsubara, 1997).

Apesar de uma maior de produção de EROs no coração, este órgão está bem equipado com enzimas antioxidantes capazes de eliminar os radicais livres (Wu *et al.*, 2014). Um eficiente mecanismo de defesa contra os radicais superóxidos produzidos durante o estresse oxidativo é proporcionado pela atividade da SOD (Figura 2). As três isoformas distintas de SOD: a SOD cobre-zinco citosólica (Cu/Zn SOD, SOD-1), manganês mitocondrial (MnSOD, SOD-2) e a SOD extracelular (EcSOD, SOD-3) (Peskin e Winterbourn, 2000), evoluíram como um sistema enzimático essencial para a conversão de EROs em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular (Faraci e Didion, 2004). MnSOD é a principal enzima antioxidante que elimina os ânions superóxido na matriz mitocondrial interna e atua como uma primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo mitocondrial, sendo essencial para a proteção do sistema cardiovascular (Miao e St Clair, 2009).

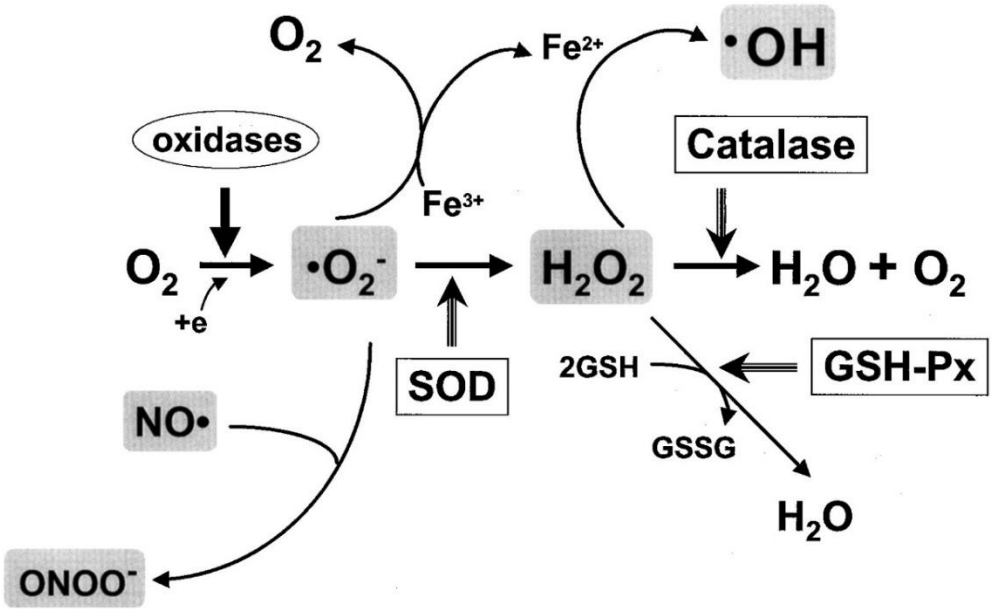

Figura 2: EROs vascular. Destacadas em cinza estão algumas das mais importantes EROs nas células vasculares. As oxidases convertem oxigênio em superóxido ($O_2^{\bullet-}$), que é então dismutado em peróxido de hidrogênio pela SOD. O peróxido de hidrogênio pode ser convertido em água pela catalase ou GSH-Px ou pelo radical hidroxila após reação com Fe^{2+}. Além disso, o superóxido reage rapidamente com o óxido nítrico ($NO^{\cdot}$) para formar peroxinitrito ($OONO^{-}$). Fonte: (Griendling e Fitzgerald, 2003).

O estresse oxidativo, pode ainda se apresentar em diferentes níveis; em níveis moderados as células ainda podem suportar o desequilíbrio sem grandes danos. Porém, níveis mais elevados podem ocasionar em transtorno metabólico, danos à

membrana e morte celular (Mattos, 2009). Altos níveis de agentes óxido-redutores reflete significativamente em processos inflamatórios, degradação de proteínas, danos em tecido, desenvolvimento de neoplasias e danos ao DNA, sendo, portanto, os principais alvos moleculares os lipídios, proteínas, ácido nucléicos e açúcares (Ferreira, 2003).

Atualmente, acredita-se que o estresse oxidativo e os mecanismos de defesa antioxidante prejudicados sejam os principais contribuintes para o processo de degeneração cardiovascular (Bachschmid *et al.*, 2013). Estudos recentes relacionaram as lesões decorrentes do estresse oxidativo com a patogênese de várias doenças (Mezzetti *et al.*, 2000; Lee, 2014; Muriach *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2014), dentre elas as DCVs, como a DAC (Díaz-Vélez *et al.*, 1996; Fineschi, 2015; Neri *et al.*, 2015). Vários estudos demonstraram previamente que o dano aos cardiomiócitos induzido por isquemia e reperfusão cardíaca é predominantemente devido à geração de EROs (Venardos *et al.*, 2007), outros também indicaram que as EROS podem danificar o retículo sarcoplasmático das células cardíacas, induzindo disfunção contrátil e liberação de Ca^{2+} pela modificação da estrutura e função das proteínas cardíacas, o que pode ser importante na formação de lesão de isquemia e reperfusão miocárdica (Saini *et al.*, 2004; Zima e Blatter, 2006).

As EROs, assim como a Angiotensina II, desempenha importante papel no mecanismo molecular e celular da inflamação vascular, via receptor AT-1 (Siti *et al.*, 2015); além disso, foi demonstrado que o estresse oxidativo também causa aumento da enzima conversora de angiotensina (ECA) (Leong *et al.*, 2009), que converte Angiotensina I em Angiotensina II e subsequentemente estimula novamente o receptor AT-1, resultando na produção de ROS pela ação da NAPH oxidase (O'Brien *et al.*, 2009). EROs junto ao receptor AT-1 estimulado ativará vias de fosforilação que culminarão na ativação de fatores de transcrição como o NFkB e AP-1 (Figura 3). Estes desempenham papéis em processos patológicos, tal como nas reações inflamatórias vasculares (Fujioka *et al.*, 2004; Siti *et al.*, 2015).

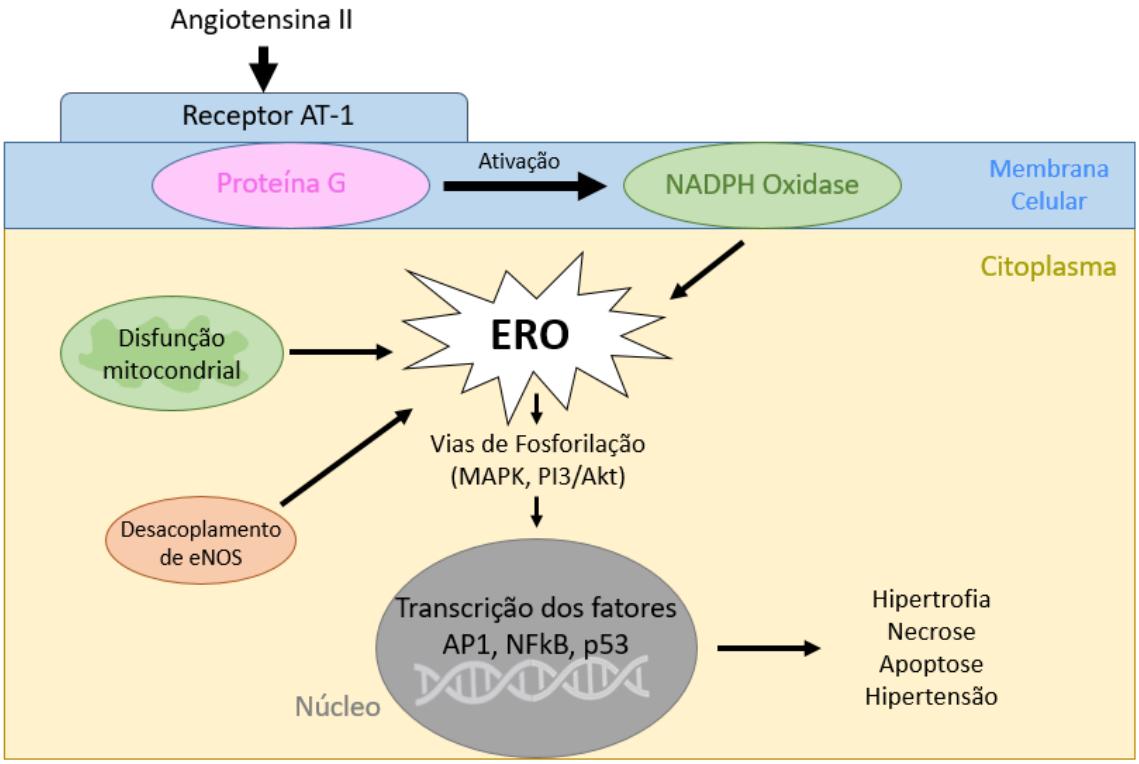

Figura 3: Sinalização intracelular mediada por ERO.

Fonte: Adaptado de (Majzunova *et al.*, 2013)

A produção de EROs também pode ser decorrerente do desacoplamento da enzima eNOS (óxido nítrico sintetase endotelial), um citocromo p450 redutase que requer tetra-hidrobiopterina (BH_4) ligada próximo ao grupo heme para a formação de citrulina e $NO^{\bullet}$. Na ausência de BH_4, eNOS pode produzir EROs como o $O_2^{\bullet-}$ e H_2O_2; o $O_2^{\bullet-}$; gerado pode ainda reagir com $NO^{\bullet}$ gerando $OONO^-$ que oxida BH_4; o desacoplamento de eNOS no endotélio pode levar à disfunção endotelial, preceder o aparecimento de DCVs como a hipertensão e levar ao estado inflamatório (Vasconcelos *et al.*, 2007). Sob condições inflamatórias a XO, presente no endotélio vascular, é supra regulada e catalisa a oxidação de hipoxantina e xantina por O_2, formando $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 e ácido úrico. O $O_2^{\bullet-}$ é gerado no espaço extracelular, reduzindo a biodisponibilidade de $NO^{\bullet}$, o que agrava quadros de hipertensão (Cai e Harrison, 2000).

1.4 Cardioproteção com o uso de métodos alternativos

Por definição, cardioproteção são todos os mecanismos e meios que contribuem para a preservação do coração, reduzindo ou até mesmo prevenindo danos ao miocárdio (Kübler e Haass, 1996), que varia desde a regulação fisiológica do suprimento de oxigênio e sistemas de proteção contra o estresse oxidativo a terapias alternativas e intervenções cirúrgicas. Os estudos mais recentes sobre cardioproteção analisam com frequência os parâmetros do estresse oxidativo e a ação de proteínas séricas, como os marcadores de necrose (Zhang *et al.*, 2017) frente às DCVs com a utilização de métodos alternativos, sobretudo a EA.

A acupuntura e a EA, vêm ganhando suporte experimental como terapia complementar eficaz no tratamento de doenças coronarianas, arritmias, angina pectoris e infarto do miocárdio devido seus efeitos cardioprotetores (Wu *et al.*, 2015). Estudo feito em ratos espontaneamente hipertensos, demonstrou que a EA além de atenuar a PA, foi responsável pela melhoria do estresse oxidativo, através do aumento da biodisponibilidade de NO nos vasos dos ratos e diminuição dos níveis séricos de angiotensina II (Leung *et al.*, 2016).

Em estudo recente utilizando EA no acuponto Neiguan (PC6) em ratos com insuficiência cardíaca, foi observado efeito cardioprotetor com diminuição dos níveis de creatina quinase (CK), lactato dehidrogenase(LDH) e Troponina T cardíaca (cTNT) que refletiram na redução do dano às fibras miocárdicas, da apoptose e do aumento da expressão de moléculas antiapoptóticas como Xiap, BclxL e Bcl2 (Lu *et al.*, 2016). Já é sabido também que os níveis de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e Hsp70 (proteína de choque térmico) podem ser reduzidos em ratos após lesão por isquemia e reperfusão cerebral com a administração de EA dentro de 24 horas após a lesão (Shi *et al.*, 2017).

A estimulação elétrica na forma de EA demonstrou potencial cardioprotetor, com redução da Troponina I sérica, um importante marcador de necrose miocárdica, redução do *Inotropic Score*, e redução do tempo de internação em terapia intensiva em pacientes submetidos à cirurgia de troca valvar (Yang *et al.*, 2010). Resultado semelhante foi observado em outro estudo abordando os acupontos bilaterais Neiguan (PC6), Ximen (PC4), Shenting (GV24) e Baihui (GV20) vinte minutos antes da indução da anestesia (Zhang *et al.*, 2017). Contudo, nesses estudos foram utilizadas agulhas específicas para acupuntura, de forma invasiva, o que pode implicar

em risco de infecções nesses pacientes e outros efeitos não esperados como síncope, sangramentos e hematomas (Wu *et al.*, 2015).

Interessantemente, não há estudos que relatem os efeitos da TEAS no acuponto PC6 sobre o estresse oxidativo, muito menos seus efeitos de cardioproteção. Para entender a possível influência da TEAS sobre o sistema cardiovascular deve-se primeiramente avaliar se esta técnica é capaz de modular o estresse oxidativo em indivíduos sadios. Sendo assim, a hipótese apresentada neste trabalho é de que a eletroestimulação transcutânea sobre o ponto de acupuntura Neiguan (PC6) reduza o estresse oxidativo em indivíduos saudáveis.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da eletroestimulação transcutânea no ponto de acupuntura Neiguan (PC6) sobre o estresse oxidativo em indivíduos saudáveis.

2.2 Objetivos Específicos

- Detectar as espécies reativas de oxigênio (EROs) presentes na saliva de indivíduos saudáveis durante e após a eletroestimulação transcutânea no ponto de acupuntura Neiguan PC6;
- Correlacionar os efeitos da eletroestimulação transcutânea no ponto de acupuntura Neiguan PC6 com o estresse oxidativo e fatores biométricos;
- Revisar sistematicamente o uso recente dos métodos alternativos (acupuntura, eletroacupuntura e TEAS) para modulação do sistema cardiovascular;
- Revisar sistematicamente o uso clínico dos métodos alternativos (acupuntura, eletroacupuntura e TEAS) no estresse oxidativo e sua relação no tratamento de DCVs.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Revisão Bibliográfica dos Efeitos dos Métodos Alternativos nas Doenças Cardiovasculares

Foram realizadas buscas nas bases de dados PubMed e SciELO utilizando-se todas as associações possíveis dos descritores em inglês: "*acupuncture*", "*electrostimulation*", "*electroacupuncture*", "*hypertension*", "*cardiovascular disease*", "*coronary artery*" e "*heart valve*", sendo esses, *Medical Subject Headings* (MeSH, http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html); e os descritores em português: "acupuntura", "eletroestimulação", "eletroacupuntura", "hipertensão", "doenças cardiovasculares", "doença coronariana" e "válvula cardíaca".

3.1.1 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos ensaios clínicos em humanos (aleatorizados ou não, controlados ou não) publicados em inglês ou português, que disponibilizassem o texto completo nas plataformas e que apontassem resultados referentes a associação de uma das técnicas para tratamento e/ou prevenção de doenças cardiovasculares, outro critério de inclusão foi a data de publicação do estudo entre janeiro de 1997 e setembro de 2017.

Estudos de revisão, observacionais e experimentais com uso de cobaias foram excluídos da busca.

3.2. Ensaio experimental

Este é um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado que utilizou sujeitos saudáveis do sexo masculino para avaliar a influência da eletroestimulação transcutânea no ponto de acupuntura Neiguan PC6 sobre o estresse oxidativo (Figura 4). Para dar início ao estudo foi necessária a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (CEP-UNIRIO) conforme Parecer CAAE nº 47780515.3.0000.5285.

Voluntários do sexo masculino de 18 a 30 anos foram recrutados dentro das dependências do Instituto Biomédico da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO) de forma aleatória e foram questionados se estariam interessados em participar como voluntários de um estudo. Ao aceitarem, os indivíduos receberam um questionário de saúde para a coleta de algumas informações relevantes para a pesquisa, como idade, histórico de doenças e fatores biométricos. Ao analisar o questionário inicial e não se constatando nenhum dos critérios de exclusão, foi marcado um dia e um horário para que o voluntário fosse ao Laboratório de Biofísica Cardiovascular (Departamento de Ciências Fisiológicas - UNIRIO) para ser submetido ao protocolo experimental. Dos 96 indivíduos abordados que aceitaram participar do estudo, 47 foram submetidos à realização do protocolo experimental, porém, 6 indivíduos foram excluídos por se enquadrarem em algum critério de exclusão, somente 41 foram incluídos no estudo.

Foram considerados saudáveis todos os indivíduos que declararam não possuir patologias agudas ou crônicas e que na avaliação inicial não apresentaram nenhum dos critérios de exclusão (idade maior do que 30 e menor do que 18 anos, presença de dispositivo marca-passo cardíaco ou cardiodesfibrilador intermitente, dispositivos auditivos, trauma de crânio, injúria cerebral, status epiléticus, tétano, síndrome da angústia respiratória no adulto (SARA), doenças hepáticas crônicas, doenças renais crônicas, pacientes em uso de Sulfonilurea ou Glibenclamida, ou que já tenham realizado cirurgia cardíaca prévia), além de autointitularem-se como voluntários saudáveis.

Após serem recrutados e estarem aptos a participar da pesquisa, os voluntários foram alocados randomicamente por meio de sorteio eletrônico através do software Excel (Microsoft, EUA) em três grupos distintos: Controle, Placebo e Eletroestimulado. Os indivíduos do grupo eletroestimulado (TEAS) foram submetidos à eletroestimulação nervosa no ponto de acupuntura PC6, enquanto que os indivíduos do grupo placebo apenas tinham os eletrodos posicionados sobre o ponto de acupuntura PC6, mas sem estimulação elétrica, e os indivíduos do grupo controle não sofreram nenhum tipo de intervenção. Foi solicitado que os mesmos não utilizassem nenhum suplemento de vitamina C incluindo sucos ácidos até 24 horas antes do experimento e não utilizassem enxaguante bucal ou escovassem os dentes 2 horas antes do experimento .

No dia marcado para a realização do experimento, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), os voluntários foram submetidos a medições biométricas de peso, altura, circunferência abdominal (CA), circunferência do quadril (CQ) e realizou-se os cálculos do índice de massa corporal (IMC) e relação cintura-quadril (R C/Q), e em seguida ao protocolo experimental, sempre no turno da manhã. Amostras de saliva não-estimulada foram coletadas antes do início do experimento, após a eletroestimulação e ao final do experimento, constando 30 minutos após a eletroestimulação.

Para que o estudo fosse considerado duplo cego, apenas o coordenador do estudo ficou responsável pela randomização, sendo sua função a de ligar ou não o aparelho eletroestimulador durante o protocolo experimental, na ausência do pesquisador. Isso permitiu que o pesquisador se mantivesse desinformado em relação aos grupos experimentais. Além disso, o processamento dos dados relacionados também foi cega.

3.3. Eletroestimulação Transcutânea no Ponto de Acupuntura Neiguan PC6

O protocolo experimental foi realizado sempre no período da manhã . Os voluntários foram posicionados em decúbito dorsal sobre uma maca, em ambiente silencioso com temperatura controlada (23ºC). Os voluntários foram orientados a se movimentarem o menos possível, a desligar o telefone celular ou aparelhos multimídia e a não conversar durante o experimento, contactando o pesquisador somente quando realmente fosse necessário. Em seguida, os indivíduos do grupo TEAS e grupo Placebo tiveram eletrodos posicionados bilateralmente na superfície cutânea referente ao ponto de acupuntura Neiguan (PC6) junto ao eletroestimulador (Neurodyn Portable TENS/FES, Indústria Brasileira de Equipamentos Médicos, EIRELI, Brasil), o grupo controle foi observado durante todo o experimento apenas sobre decúbito dorsal, sem nenhuma intervenção.

O protocolo experimental consistiu de três períodos distintos: período de acomodação, com duração de 20 minutos; período de eletroestimulação, com duração de 40 minutos; e período de recuperação, com duração de 30 minutos. Ao final de cada período foi realizada a coleta direta da saliva em microtubos *Eppendorf* estéreis de 2,5mL.

A eletroestimulação no grupo TEAS foi realizada a uma frequência de estimulação de 5 a 30 Hz e a uma intensidade de 0,8 a 1,9 mA, de acordo com a tolerância de cada voluntário.

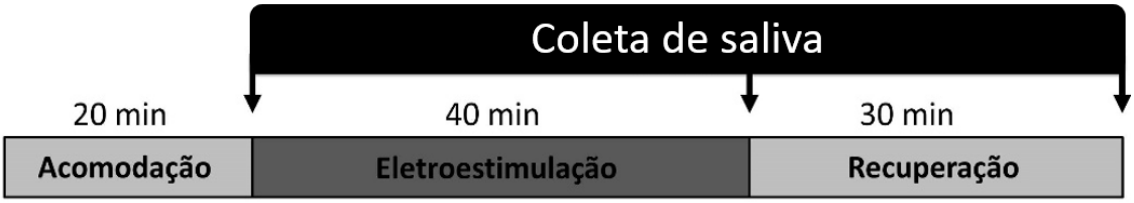

Figura 4: Representação esquemática do protocolo experimental.

3.4. Ensaio de Estresse Oxidativo em Saliva

3.4.1 Dosagem de Proteínas Totais

A concentração proteica total das amostras foi determinada utilizando o kit comercial Pierce BCA Protein Assay Kit - ThermoFisher® - que consiste na detecção colorimétrica do cátion monovalente de cobre (Cu^{1+}) por um reagente específico contendo ácido bicinconínico (BCA, 4,4'-dicarboxi-2,2'-biquinolina). A detecção deve-se à propriedade das proteínas em reduzirem o Cu^{2+} a Cu^{1+} quando em meio alcalino, possibilitando a quelação de duas moléculas de BCA por um íon de cobre, gerando uma coloração arroxeada. O ensaio foi realizado seguindo as especificações do fabricante quanto às reações em placas de 96 poços, tendo sido utilizado 10µL de amostra e de padrão (solução de BSA com concentração de 2mg/mL), numa proporção de 1:20, usando-se como diluente o tampão fosfato-salino (PBS).

Para a confecção da curva padrão foram feitos os pontos de 250, 500, 1000, 1500 e 2000µg/mL de BSA. Os pontos da curva e da amostra foram feitos em triplicata. As placas, preparadas com amostra e padrão mais diluente, foram deixadas incubando por 30 minutos em estufa a 37°C e, em seguida, foram lidas as absorbâncias em 562nm no leitor de microplacas SpectraMax® Plus 384 – Molecular Devices. Após o desconto do branco, foi confeccionada a curva padrão com os valores das diluições de BSA, e então determinadas as concentrações proteicas das amostras

em µg/mL. Com as concentrações proteicas definidas, foi possível normalizar as amostras em 800µg/mL, as quais seriam utilizadas no ensaio de estresse oxidativo.

3.4.1 Dosagem de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO)

A sonda 2’7’-diclorofluoresceína diacetato (DCFH-DA, Sigma®, Saint Louis, MO, EUA) foi diluída em PBS a uma concentração final de 40µM e usada para determinar a concentração de ERO nas amostras de saliva em placas de 96 poços. Todas misturas foram realizadas em ambiente escuro. Após a adição do DCFH-DA, as placas foram incubadas por 20 minutos em estufa a 37°C para posteriormente serem lidas fluorimetricamente utilizando os comprimentos de onda de excitação de 488nm e de emissão de 525nm no leitor de microplacas SpectraMax® Plus 384 – Molecular Devides.

O princípio da dosagem de EROs utilizando o DCFH-DA, deve-se ao fato do DCFH-DA ser desacetilado pelas esterases em um composto não fluorescente, que é posteriormente oxidado por EROs em 2'-7'diclorofluoresceína (DCF), composto com fluorescência (Figura 6).

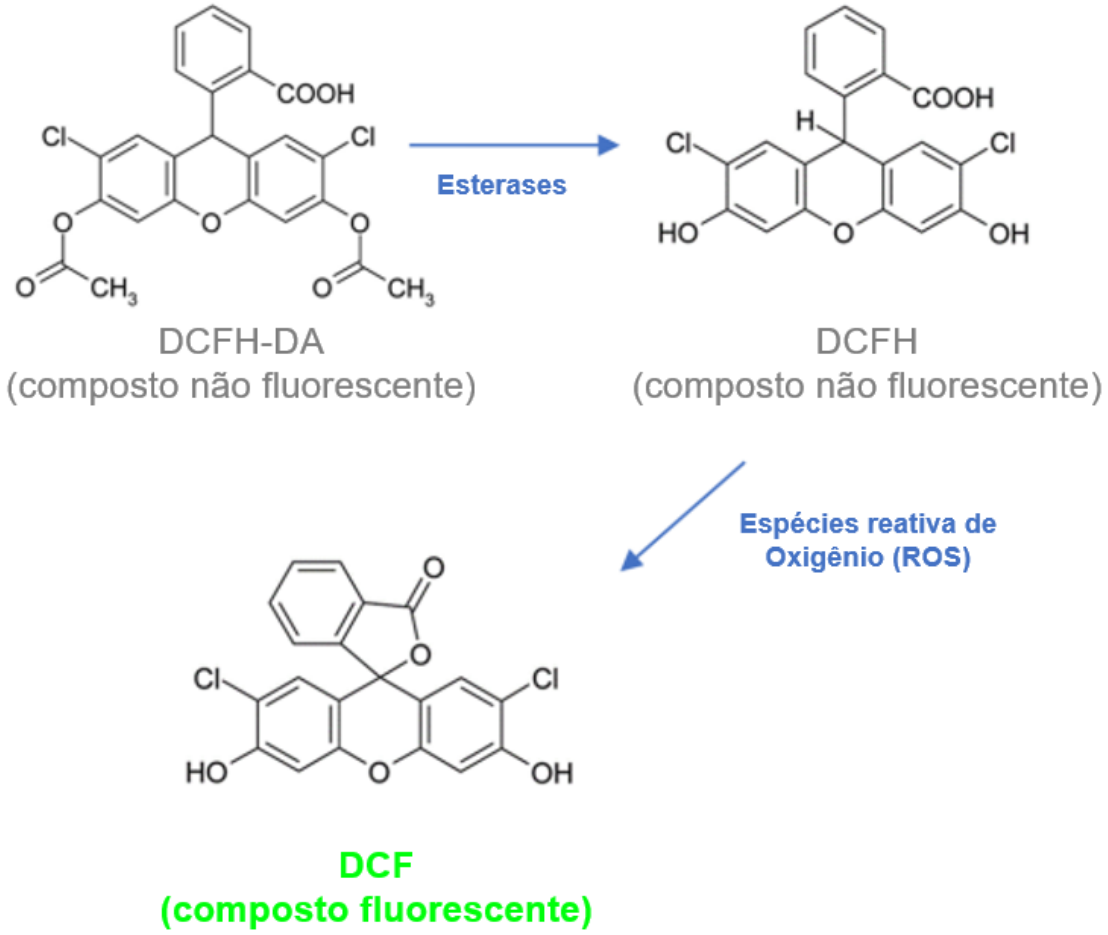

Figura 5: Princípio da reação do ensaio de dosagem de ROS.

3.5. Análise estatística

Os dados foram analisados no software Stata 14 (StataCorp LLC, College Station, Texas, USA), com nível de significância estabelecido em $P<0,05$. Foram calculadas a média, desvio-padrão, mediana e os valores de quartis, conforme a normalidade das variáveis, que foi avaliada através do teste de Shapiro-Wilk.

O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para avaliar a randomização dos indivíduos nas amostras não-paramétricas, enquanto o One-Way ANOVA aplicado apenas nas amostras paramétricas.

O modelo de regressão linear misto foi utilizado para avaliar as variações do estresse oxidativo nos grupos pelo período de acomodação, eletroestimulação e recuperação, quando anteposto ao grupo controle.

4. RESULTADOS

4.1. Participação

Inicialmente, 47 voluntários foram considerados aptos a participar do estudo e consentiram a execução do protocolo experimental. Por não atenderem às recomendações para a realização do experimento, 6 indivíduos foram excluídos: 2 no grupo Controle e 4 no grupo TEAS. Dentre estes, dois voluntários realizaram exercício físico antes da realização do protocolo experimental; um indivíduo relatou ter hipertensão, o que o inclui nos critérios de exclusão; um indivíduo apresentava reação de hipersensibilidade no dia do experimento; e os dois restantes apresentaram-se indispostos ao experimento. Por fim, 41 voluntários integraram o estudo, sendo 14 no grupo Controle, 14 no grupo Placebo e 13 no grupo TEAS.

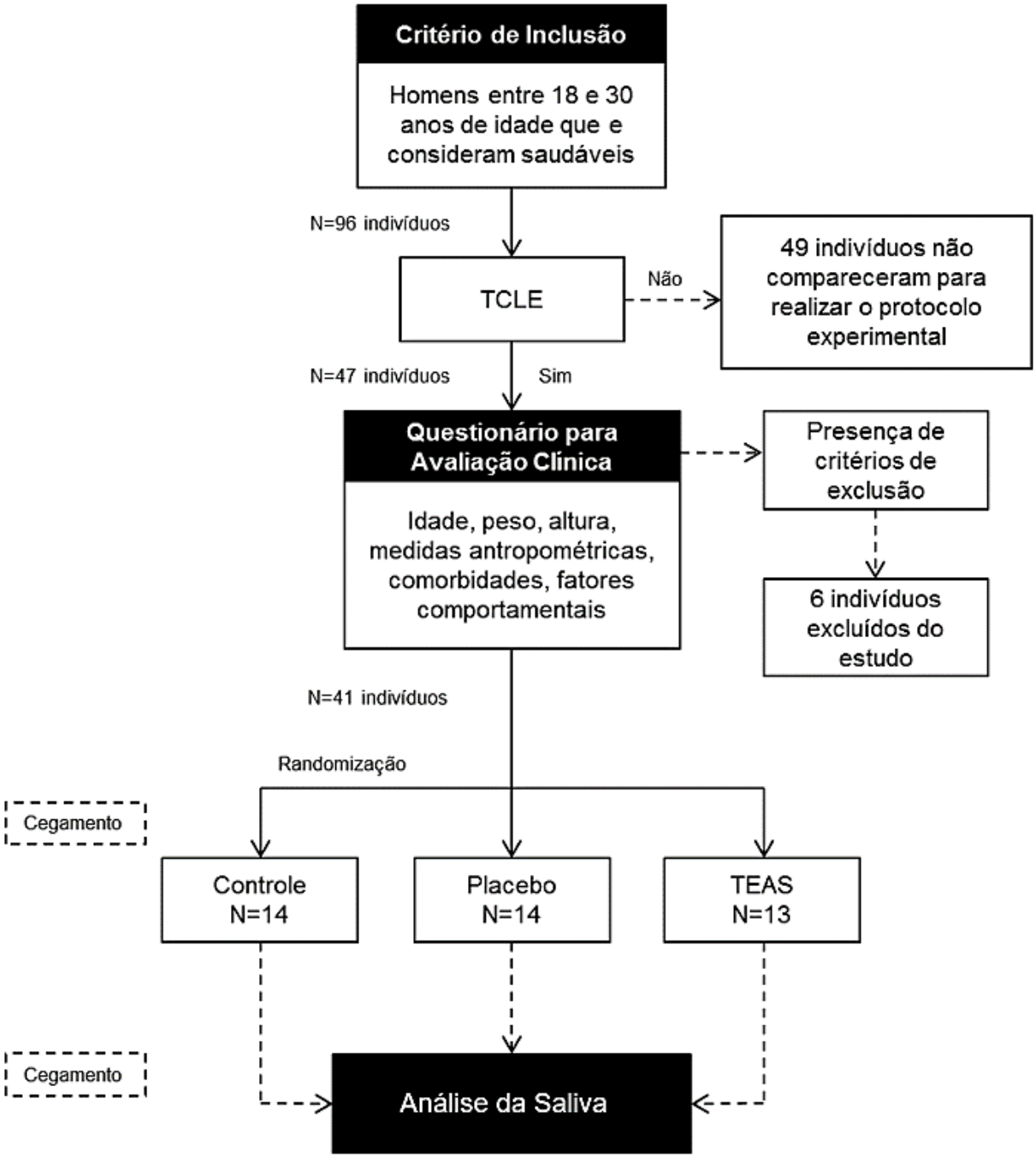

Figura 6: Resultado esquemático representativo do estudo.

4.2. Variáveis antropométricas

Os grupos experimentais não apresentaram diferença significativa (p>0,05) quanto às variáveis antropométricas registradas: idade, peso, altura, IMC, CA, CQ e RCQ, verificando sucesso na randomização dos indivíduos entre os grupos.

Em relação à idade, o grupo Controle apresentou uma média de 21,07 ± 2,09 anos; o grupo TEAS, 21,21 ± 2,39 anos; e o grupo Placebo, 21,14 ± 2,18 anos. Quanto a massa corporal, o grupo Controle teve uma média de 82,39 ± 14,33 kg; o grupo TEAS, 74,83 ± 17,23 kg; e o grupo Placebo, 70,84 ± 10,64 kg. O grupo Controle teve uma estatura média de 1,77 ± 0,05 m, enquanto que o grupo TEAS apresentou 1,74 ± 0,06 m e o grupo Placebo apresentaram 1,73 ± 0,05 m.

Depois de calculado o IMC, o grupo Controle apresentou uma média de 26,15 ± 4,08; o grupo TEAS, 24,22 ± 3,36; e o grupo Placebo, 23,54 ± 2,94. Em relação à CA e CQ, o grupo Controle apresentou, respectivamente, uma média de 83,52 ± 10,87 cm e 104,69 ± 8,68 cm; o grupo TEAS, 79,96 ± 10,21 cm e 99,50 ± 11,14 cm; e o grupo Placebo, uma mediana de 75,00 cm e a média de CQ de 96,44 ± 7,27 cm. A média da relação cintura-quadril foi de aproximadamente 0,8 para cada um dos grupos. Estes resultados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Dados antropométricos.

Variáveis	Controle (n=14) Média ± DP ou Mediana (25 - 75)	Placebo (n=14) Média ± DP ou Mediana (25 - 75)	TEAS (n=13) Média ± DP ou Mediana (25 - 75)	P-valor
Idade (anos)	21,07 ± 2,09	21,14 ± 2,18	21,21 ± 2,39	0,986
Massa Corporal (Kg)	82,39 ± 14,33	70,84 ± 10,64	74,83 ± 17,23	0.109
IMC	26,15 ± 4,08	23,54 ± 2,94	24,22 ± 3,36	0,134
Altura (m)	1,77 ± 0,05	1,73 ± 0,05	1,74 ± 0,06	0.092
CA (cm)	83,52 ± 10,87	75,00 (71 - 82)	79,96 ± 10,21	0,184
CQ (cm)	104,69 ± 8,68	96,44 ± 7,27	99,50 ± 11,14	0,067
RCQ	0,80 ± 0,05	0,79 ± 0,04	0,81 (0,80 - 0,81)	0,778

EO Acomodação (UF)	163,24 (100,83 - 369,16)	181,02 (67,43 – 520,14)	192,05 (95,99 - 1042,01)	0,745
EO Intervenção (UF)	179,35 (75,83 – 402,00)	272,48 (112,11 – 447,06)	347,45 (126,56 – 656.43)	0,465
EO Recuperação (UF)	112,96 (54,40 – 302,70)	242,14 (96,57 – 487,42)	299,17 (102,66 – 824,55)	0.266

IMC: índice de massa corporal; CA: circunferência abdominal; CQ: circunferência do quadril; RCQ: relação cintura-quadril; EO: Estresse oxidativo por unidade de fluorescência. Teste estatístico One-way ANOVA e Kruskal-Wallis, P<0,05.

4.3. Estresse Oxidativo

O grupo Placebo e o grupo TEAS não apresentaram diferença significativa (p>0,05) quanto ao estresse oxidativo em nenhum dos três períodos (acomodação, eletroestimulação e recuperação) quando comparado ao grupo controle, como observado na Tabela 1.

Tabela 2. Comparação do estresse oxidativo, por período e grupo, em relação ao grupo controle.

Período	Grupo	β	IC (95%)	P-valor
EE	Placebo	139,3	-310,1 a +588,7	0,543
	TEAS	-342,6	-792,0 a +106,8	0,135
RC	Placebo	193,7	-255,7 a +643,1	0,398
	TEAS	-306,3	-755,7 a +143,0	0,182

EE: eletroestimulação; RC: recuperação; IC: Intervalo de confiança.

4.4. Revisão

Foram selecionados 496 artigos nas plataformas SciELO e PubMed (Figura 7); desses, 120 foram excluídos pelo critério de data de publicação; 312 foram excluídos por não se tratarem de ensaios clínicos em humanos; 31, por não estarem disponíveis na língua inglesa ou portuguesa (27 em chinês, 2 em espanhol, 1 em russo, 1 em alemão); 15 foram descartados por não associarem diretamente uma das técnicas a pelo menos uma DCV. Ao final, 17 estudos foram analisados e comparados quanto a técnica utilizada, pontos de aplicação, desenho do estudo, amostragem, duração do experimento, doença cardiovascular abordada no artigo e os respectivos principais resultados, como visto na Tabela 3.

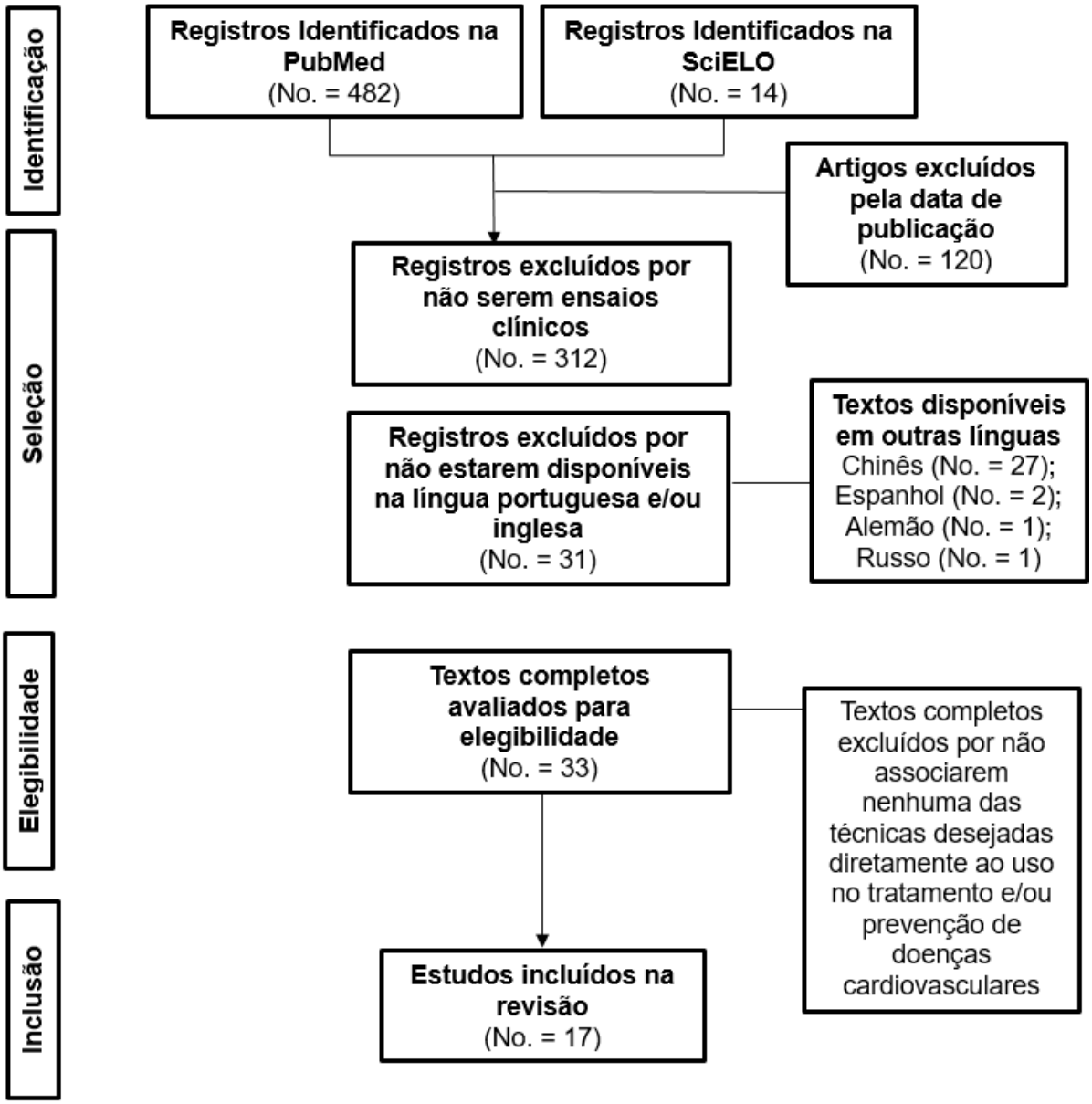

Figura 7. Fluxograma do processo de seleção dos artigos realizado na revisão sistemática sobre o uso de acupuntura, eletroacupuntura e eletroestimulação em ponto de acupuntura relacionado a doenças cardiovasculares.

Tabela 3. Artigos incluídos na revisão de acordo com os critérios de inclusão e exclusão.

Autor, Ano	Técnica utilizada	Pontos de aplicação	Desenho do estudo	Amostragem (número de indivíduos)	Duração	Doença cardiovascular relacionada	Principais resultados
Abdi, H. *et al*., 2017	Acupuntura	Abdominal e auricular	Controlado; randomizado	Auricular: 204 (102C 102T); Abdominal: 196 (98C 98T)	2 vezes por semana, 6 semanas	Hipertensão	Melhoria dependente do tempo significativa nas medições de pressão arterial sistólica (PAS) no grupo de intervenção abdominal, um aumento significativo no nível de PAS, no grupo de intervenção auricular.
Carpenter, R. J. *et al*., 2010	Acupuntura	Back Shu, PC 6, EX 12, da bexiga urinária (15, 17, 18, 20 e 23) e auricular.	Cross-over; simples-cego	12T	1 vez	Síncope simpatovagal e hipertensão	Diminuição significativa do balanço simpático (*Low frequency* (LF): *High frequency* (HF)) e da PAS no repouso.
Ho, F. M. *et al*., 1999	Acupuntura	PC 6	Controlado	22C 22T	1 vez	Doença coronariana	Os valores médios da fração de ejeção ventricular esquerdo aumentou significativamente no início, durante e após 15 minutos de acupuntura, mas tornou-se insignificante em uma semana.
Jiang, X., 2003	Acupuntura	LI 11, ST 40 e LR 3	Controlado; randomizado	30T 30C	1 vez por dia; 6 dias	Hipertensão	Não houve diferença na PA e nos níveis plasmáticos de ET-1 entre o grupo tratado e o grupo controle.
Kim, H. M. *et al*., 2012	Acupuntura	ST 36 e PC 6	Placebo-controlado; randomizado; duplo-cego	12T 16P	2 vezes por semana, 8 semanas	Hipertensão	Aumento da pressão arterial diastólica (PAD) noturna e aumento do número de dippers.

Kurono, Y. *et al*., 2002	Acupuntura	PC 6	Randomizado	16T (10 LN e 6 SPM)	1 vez	Doença coronariana	Houve aumento do diâmetro da artéria coronariana em alguns pacientes após a acupuntura, mas estreitamento coronariano em outros pacientes.
Li, P. *et al*., 2015	Eletroacupuntura	PC 5, PC 6, ST 36 e ST 37	Estudo paralelo	65T (33 nos pontos PC5-6 + ST 36+37 / 32 nos pontos LI 6-7 + GB 37-39)	1 vez por semana; 8 semanas	Hipertensão	Diminuição do pico e PAS e PAD média; diminuição das concentrações plasmáticas de norepinefrina, renina e aldosterona.
Liu, Y., et al., 2015	Acupuntura	LI 11, SP4, ST 36, LT 3 e PC 6	Controlado; randomizado; duplo-cego	48T 13C	8 semanas	Hipertensão	Diminuição somente da PAD e redução da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) de HF na 4ª e 8ª semana de tratamento do grupo tratado.
Lomuscio, A., et al., 2011	Acupuntura	PC 6, C7 e BL 15	Controlado; randomizado; simples-cego	17T 13P 24C 26R	1 vez por semana; 10 semanas	Fibrilação Atrial	Diminuição da taxa de recorrência de arritmias no grupo de intervenção com acupuntura.
Park, J. M. *et al*., 2010	Acupuntura	ST 36 e PC 6	Placebo-controlado; randomizado; duplo-cego; *cross-over*	15T 15P	7 vezes; 1 semana	Hipertensão	Melhora significativa da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial (FMD) no acuponto ST 36 e ST 36 + PC6; inalteração da FMD no ponto PC 6.
Severcan, C., et al., 2012	Acupuntura	EX-HN3, KI 3, LIV 3, SP 9, LI 4, HT 7, ST 36 e SP 6	Randomizado	32T	1 vez por semana, 10 semanas	Hipertensão	Redução dos valores de PAS e PAD e aumento da concentração de óxido nítrico (NO) durante as 10 sessões.
Wang, Q. *et al*., 2015	Eletroacupuntura	PC 6 e PC 4	Controlado; randomizado	102T 102C	1 vez	Doença coronariana	Melhoria significativa na função cardíaca e redução de eventos cardiovascular e cerebrovascular adversos do grupo tratado.

Yang, L. *et al*., 2010	Eletroacupuntura	PC 6, LU 7 e LU 2	Controlado; randomizado	30T 30C	1 vez por dia; 5 dias	Doença de válvula cardíaca	O pré-tratamento com EA resultou em um efeito cardioprotetor nos pacientes submetidos a cirurgia cardíaca de substituição de válvula
Yeh, M.L., et al., 2015	Acupuntura	Auricular	Controlado; randomizado	63T 60C	10 semanas	Hipertensão	Não houve diferenças significativas nos parâmetros da VFC, FC, PA e qualidade de vida.
Yilmaz, S. *et al*., 2017	Eletroestimulação	Nervo peroneal	Controlado; randomizado	11T 11C	1 vez	Isquemia crítica	Não foi observada nenhuma diferença significativa entre o grupo tratado e o grupo controle.
Yin, C., et al., 2007	Acupuntura	ST 36, LI 11, BL 25, SP 3, LU 9, BL 13, KI 7, KI 2, CV 4, LI 1, GV 14, GB 20, HT 7 e PC 6	Placebo-controlado; randomizado; duplo-cego	15T 15P	17 vezes; 8 semanas	Hipertensão	Diminuição da PA média ao fim de 8 semanas de intervenção.
Zamotrinsky, A. *et al*., 1997	Eletroacupuntura	Auricular	Controlado; randomizado	10T 10C	1 vez	Doença coronariana	Alívio dos sintomas de angina; diminuição de certos sinais bioquímicos de danos ao miocárdio e aumento na tolerância do coração a dano de reperfusão operativa.

C: Indivíduos no grupo controle; P: Indivíduos no grupo placebo; T: Indivíduos no grupo tratado; R: Indivíduos no grupo de referência; LN: Método *leaving needle* (permanência da agulha por um período maior); SPM: Método *sparrow pecking* (picadas rápidas com a agulha).

5. DISCUSSÃO

5.1 Análise Bibliográfica e Pré-experimental

Dentre os estudos analisados na revisão, os acupontos mais utilizados foram o acuponto PC 6 (*Neiguan*) (dez estudos; 64,7%), seguido pelo acuponto ST 36 (seis estudos; 35,3%) e acupontos auriculares (quatro estudos; 23,5%). Foi observado também, o uso simultâneo dos acupontos PC 6 e ST 36 em cinco estudos clínicos para o tratamento da hipertensão (Yin *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2015).

Anatomicamente, o coração é inervado por segmentos nervosos torácicos inferiores e cervicais superiores, os quais também inervam a área somática em torno do ponto de acupuntura PC 6. Além disso, o ponto de acupuntura PC 6 fica localizado na superfície do antebraço em uma região correspondente ao trajeto anatômico dos nervos medianos (Li *et al.*, 1998; Tjen-a-Looi *et al.*, 2007), o que poderia corroborar a relação entre o estímulo ao ponto e as alterações fisiológicas observadas no sistema cardiovascular.

Dentre as aplicações clínicas das técnicas analisadas, a DCV mais relacionada foi a hipertensão, totalizando dez estudos (58,8%). Destes, nove relacionam-se com a acupuntura e apenas um com a eletroacupuntura; 80% dos estudos referentes a hipertensão apresentaram resultados positivos na modulação da doença através da diminuição da PA com o uso da acupuntura ou eletroacupuntura.

A influência da acupuntura na PA foi avaliada em diversos trabalhos. Abdi et al. realizaram um estudo duplo-cego com acupuntura auricular e abdominal em 204 pacientes obesos e hipertensos durante seis semanas, observando uma diminuição de PAS após o tratamento. Já no estudo duplo-cego de Liu (2015), realizado com 15 pacientes hipertensos primários submetidos a acupuntura nos acupontos LI 11, SP4, ST 36, LT 3 e PC 6, duas vezes por semana durante oito semanas, notou-se uma diminuição de PAD, mas não de PAS.

Yin et al., realizaram um estudo duplo-cego em um grupo tratado de 41 pacientes hipertensos ou pré-hipertensos durante oito semanas utilizando a acupuntura pelo método de Sham, onde foi observado um decréscimo na PA média ao fim das 17 sessões de tratamento. Li (2015), em um estudo simples-cego,

submeteu 65 pacientes também hipertensos sem uso de medicação anti-hipertensiva a EA nos pontos PC 5, PC 6, ST 36 e ST 37 uma vez por semana, durante oito semanas e observou diminuição de PAS e PAD, redução em 6 mmHg de PAS média e de 8 mmHg do pico de PAS.

Em ensaios clínicos com pacientes saudáveis, como o realizado no estudo simples-cego de Carpenter (2010), também foi notado modulação negativa da pressão arterial. Neste estudo o tratamento com acupuntura promoveu uma diminuição significativa do balanço simpático (LF: HF) e PAS durante o repouso.

Contradizendo os estudos acima, tanto o ensaio de Yeh (2015) utilizando a acupuntura auricular em pacientes com hipertensão primária por dez semanas, quanto o estudo de Jiang (2003), em 30 pacientes com hipertensão de grau 1, 2 e 3 que faziam o uso de Captopril, nos acupontos Quchi (LI 11), Fenglong (ST 40) e Taichong (LR 3) por 30 minutos, têes vezes ao dia durante seis dias, não observaram diferenças estatísticas entre o grupo tratado e o grupo controle.

Diferentes mecanismos bioquímicos parecem estar associados à regulação da PA pela acupuntura e eletroacupuntura. Severcan (2012) relacionou durante as dez semanas de intervenção o aumento da concentração de NO com a diminuição da PAS e PAD dos pacientes hipertensos tratados. Li (2015) denotou a inibição simpática a partir da diminuição das concentrações de renina, norepinefrina e aldosterona através da eletroacupuntura.

Apenas os estudos de Liu (2015) e Carpenter (2010) forneceram informações referentes ao controle autonômico a partir do balanço simpatovagal, onde os grupos tratados com acupuntura tiveram uma diminuição significativa do balanço simpático e da VFC.

A doença coronariana foi abordada nos estudos de Zamotrinsky (1997), Wang (2015), Ho (1999) e Kurono (2002), sendo que nestes dois últimos, não houve resultados positivos conclusivos com o uso da acupuntura. Zamotrinsky et al. demonstraram que o uso da EA auricular teve efeito vagotônico/simpaticolítico com a diminuição de proteínas induzidas por stress como a proteína de choque térmico 70 HSP70i, que participa na eliminação de proteínas danificadas ou defeituosas (Lüders *et al.*, 2000) e atua diretamente inibindo a apoptose (Beere *et al.*, 2000).

Já Wang et al. evidenciaram que a EA foi capaz de gerar cardioproteção. A realização da EA no ponto PC 6 em pacientes previamente a cirurgia de troca valvar reduziu os níveis séricos de troponina I cardíaca (cTnI), um importante marcador de

lesão miocárdica et al., que refletiu uma menor incidência de IAM, melhora da função cardíaca pós-procedimento de intervenção coronária percutânea e diminuição de eventos como morte súbita, arritmias, insuficiência cardíaca, formação de trombose aguda, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral.

No estudo de Yang (Yang *et al.*, 2010), denotou-se o efeito de cardioproteção dos indivíduos pré-tratados com eletroestimulação durante cinco dias nos períodos de tempo de 6 horas, 12 horas e 24 horas após a reperfusão através da dosagem sérica de cTnI. Também notou-se no grupo tratado a redução do uso de agentes inotrópicos, além da diminuição do tempo de permanência na UTI após a cirurgia de substituição de válvula cardíaca.

Segundo Lomuscio et al., a acupuntura em pacientes com fibrilação atrial persistente teve benefícios semelhantes ao grupo tratado com cloridrato de amiodarona (antiarrítmico), considerado o fármaco mais eficaz para o tratamento desta patologia (Lafuente-Lafuente *et al.*, 2006). Já no estudo de Yilmaz, a eletroestimulação transcutânea foi realizada sobre o nervo peroneal, não sendo observada diferença significativa entre o grupo tratado com eletroestimulação e o medicamento Iloprosta e o grupo tratado apenas com Iloprosta no que diz respeito aos níveis de saturação de oxigênio finais de oximetria de pulso e na velocidade do sangue na artéria tibial posterior.

Dos 17 estudos analisados, nenhum mensurou o estresse oxidativo e seu papel no dano cardiovascular e nas complicações das DCVs, restringindo a análises dos parâmetros eletrofisiológicos cardíacos lineares como PAS, PAD, VFC e alguns indicadores plasmáticos como ET-1, norepinefrina, renina, aldosterona, NO e troponina I.

No estudo de Zhang, X et al. em ratos com demência, a acupuntura elevou as atividades de SOD, CuZnSOD e MnSOD, diminuiu o nível do ânion superóxido além de regular a proporção de glutationa reduzida (GSH) e glutationa oxidada (GSSG), o que corrobora que estes tratamentos complementares poderiam ter efeito benéfico no tratamento de DCVs, embora a base científica para esta afirmação ainda seja fraca e careça de estudos em indivíduos e até mesmo em modelo animal que apresentem alguma DCV.

5.2 TEAS na modulação do estresse oxidativo

O estresse oxidativo vem sendo estudado como uma ferramenta para analisar diferentes patologias e seus possíveis agravamentos, inclusive, nas DCVs (Tataradze *et al.*, 2005; Dandekar *et al.*, 2015). Embora a terapia com uso crônico de antioxidante para o risco cardiovascular ainda não esteja sendo utilizada em larga escala, devido a sua eficácia, os efeitos multifatoriais dos antioxidantes para o tratamento das DCVs continuam relevante (Tousoulis *et al.*, 2008).

Os indivíduos que integram o estudo foram recomendados a não usarem nenhuma suplementação de vitamina C ou sucos ácidos, devido a diminuição de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), marcadores de lipoperoxidação, após a utilização de vitamina C, o que aumentaria o status oxidante. Já a restrição ao uso de enxaguante bucal e escovação dos dentes deve-se ao fato da diminuição de TBARS e dos produtos finais da glicação avançada (AGEs), compostos capaz de modificar as propriedades químicas e funcionais de diversas estruturas biológicas por meio da geração de radicais livres, através da formação de ligações cruzadas com proteínas ou de interações com receptores celulares, promovendo o estresse oxidativo. O experimento foi realizado exclusivamente no período da manhã, pois os níveis de AGEs e de outros marcadores para estresse oxidativo, como a redução do íon ferro na saliva (FRAP), variarem de acordo com o ciclo circadiano, influenciado pelos níveis de melatonina, um importante marcador circadiano que provou-se ser um antioxidante eficaz (Kamodyová et al., 2013).

Neste estudo, utilizou-se da metodologia descrita para investigar os efeitos da eletroestimulação transcutânea no ponto de acupuntura Neiguan (PC6) sobre o efeito no estresse oxidativo e possível efeito cardioprotetor. Já foi reportado que a TEAS produz os mesmo efeitos da acupuntura e da EA, sendo que este é um método não invasivo, excluindo a possibilidade de infecção pela introdução de agulhas na pele e permitindo uma maior aceitabilidade dos pacientes a serem submetidos a esta técnica (Ni *et al.*, 2012). A saliva foi proposta como meio de diagnóstico potencial para diversas patologias pois, ao contrário das determinações por punção venosa, os meios de diagnóstico através da saliva são menos invasivos e podem ser administrados sem a necessidade da presença de um profissional especializado (Rubio *et al.*, 2013). Na literatura, não há nenhum estudo que avalie o efeito da TEAS sobre o estresse oxidativo de indivíduos saudáveis.

No presente estudo, foi possível constatar que a eletroestimulação transcutânea em ponto de acupuntura, no acuponto Neiguan (PC6), não apresenta efeito sobre o estresse oxidativo de indivíduos saudáveis, não representando nenhum efeito de cardioproteção nesses indivíduos. No entanto, em um estudo chinês realizado em modelo animal (cães Beagles machos saudáveis), foi identificado efeito cardioprotetor com o uso da TEAS através da diminuição de LDH e Ck-MB, quando aplicado nos acupontos de Hegu (LI4), Zusanli (ST 36), Sanyinjiao (SP 6) e Quchi (LI 11) (Ma, F. *et al.*, 2015).

Em um estudo realizado com ratos, o uso de EA no acuponto PC6 resultou não só na atenuação, como também na prevenção de lesão de isquemia-reperfusão (Tsou *et al.*, 2004). Em uma revisão, notou-se o efeito da acupuntura em diversos estudos sobre o efeito na variabilidade da frequência cardíaca (FC), diminuindo a atividade simpática e equilibrando o SA (Chung *et al.*, 2014). O efeito de indutor de angiogênese em ratos com isquemia miocárdica foi constatada em um estudo, onde houve o aumento da expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), uma proteína que promove o crescimento de vasos sanguíneos novos (Fu *et al.*, 2014). Todos os estudos clínicos abordando a relação entre a aplicação de TEAS, EA ou acupuntura no ponto Neiguan (PC6) ao estresse oxidativo em humanos estão disponíveis apenas em chinês, o que dificulta ainda mais o entendimento dos efeitos dessas técnicas e discussão sobre o assunto (Zhang *et al.*, 2008; Ma, F. *et al.*, 2015).

Alguns fatores podem ser considerados limitações deste estudo como o uso de amostra de saliva e não de amostra sanguínea (Xingqun et al., 2016), uma vez que se discute que o sangue é um melhor parâmetro para avaliar os efeitos sistêmicos; o baixo número amostral do ensaio clínico, que pode influenciar diretamente na estatística utilizada no estudo e a medição indireta do estresse oxidativa através das EROs ao invés da quantificação direta das enzimas responsáveis pelo sistema antioxidante como a GSH-Px, CAT e SOD e dos agentes óxido-redutores, como realizado no estudo de Zalewska, A. et al.

Apesar dos achados deste ensaio clínico, certamente ainda existem várias lacunas sobre o assunto. Mesmo sobre o efeito da TEAS no estresse oxidativo ainda há a necessidade de novos estudos. Este é apenas o primeiro e, ainda por cima, apresentou resultados inconclusivos, carecendo de maiores elucidações sobre o estado oxidante-antioxidante no corpo humano e efeito da TEAS em humanos portadores de DCV. Ainda que os resultados obtidos tenham sido mediante sessão

única de TEAS, realizar novos estudos com o propósito de verificar seus efeitos crônicos propiciaria importante aplicabilidade clínica, visto que estímulos como os gerados pela acupuntura, eletroacupuntura ou TEAS, podem gerar respostas distintas entre os indivíduos, o que faz com que os resultados de alguns estudos sejam inconclusivos, necessitando vários estudos a fim de tornar conciso e fidedigno os resultados obtidos (Kunz *et al.*, 2012).

6. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados sugerem que:

- A eletroestimulação transcutânea sobre a região correspondente ao ponto de acupuntura PC6 não modula o estresse oxidativo em indivíduos saudáveis;
- A eletroestimulação transcutânea sobre a região correspondente ao ponto de acupuntura PC6 não resultou em alterações significativas entre os grupos experimentais;
- Há poucos estudos clínicos que abordam o uso dos métodos alternativos (acupuntura, eletroacupuntura e TEAS) para modulação do sistema cardiovascular;
- Não há registro de nenhum ensaio clínico utilizando a TEAS para a verificação do estresse oxidativo em humanos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDI, H. et al. Abdominal and auricular acupuncture reduces blood pressure in hypertensive patients. **Complement Ther Med,** v. 31, p. 20-26, Apr 2017. ISSN 1873-6963. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28434467 >.

ANDERSSON, S.; LUNDEBERG, T. Acupuncture--from empiricism to science: functional background to acupuncture effects in pain and disease. **Med Hypotheses,** v. 45, n. 3, p. 271-81, Sep 1995. ISSN 0306-9877. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8569551 >.

BACHSCHMID, M. M. et al. Vascular aging: chronic oxidative stress and impairment of redox signaling-consequences for vascular homeostasis and disease. **Ann Med,** v. 45, n. 1, p. 17-36, Feb 2013. ISSN 1365-2060. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22380696 >.

BAENA, C. P. **Doença Cardiovascular: Tendência de Mortalidade no Brasil e Prevenção Global**. 2013. 102 (Doutorado). Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba.

BEERE, H. M. et al. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. **Nat Cell Biol,** v. 2, n. 8, p. 469-75, Aug 2000. ISSN 1465-7392. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10934466 >.

CAI, H.; HARRISON, D. G. Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Role of Oxidant Stress. **Circulation Research,** v. 87, n. 10, p. 840-844, 2000. Disponível em: < http://circres.ahajournals.org/content/circresaha/87/10/840.full.pdf >.

CHAN, M. W. C. et al. Safety of Acupuncture: Overview of Systematic Reviews. **Sci Rep,** v. 7, n. 1, p. 3369, Jun 2017. ISSN 2045-2322. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28611366 >.

CHEN, S.; MA, S. X. Nitric oxide in the gracile nucleus mediates depressor response to acupuncture (ST36). **J Neurophysiol,** v. 90, n. 2, p. 780-5, Aug 2003. ISSN 0022-3077. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12672780 >.

CHEN, Y. et al. Impact of bilateral ST36 and PC6 electroacupuncture on the depth of sedation in general anaesthesia. **Acupunct Med,** v. 33, n. 2, p. 103-9, Apr 2015. ISSN 1759-9873. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25520278 >.

CHUNG, J. W.; YAN, V. C.; ZHANG, H. Effect of acupuncture on heart rate variability: a systematic review. **Evid Based Complement Alternat Med,** v. 2014, p. 819871, 2014. ISSN 1741-427X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24693326 >.

CIPRIANO, G. et al. Cardiovascular disease prevention and implications for worksite health promotion programs in Brazil. **Prog Cardiovasc Dis,** v. 56, n. 5, p. 493-500, 2014 Mar-Apr 2014. ISSN 1873-1740. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24607013 >.

COLI, G. B. D. M. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **Lancet,** v. 388, n. 10053, p. 1459-1544, Oct 2016. ISSN 1474-547X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27733281 >.

COSTA, J. F.; FONTES-CARVALHO, R.; LEITE-MOREIRA, A. F. Myocardial remote ischemic preconditioning: from pathophysiology to clinical application. **Rev Port Cardiol,** v. 32, n. 11, p. 893-904, Nov 2013. ISSN 2174-2030. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24120469 >.

DANDEKAR, A.; MENDEZ, R.; ZHANG, K. Cross talk between ER stress, oxidative stress, and inflammation in health and disease. **Methods Mol Biol,** v. 1292, p. 205-14, 2015. ISSN 1940-6029. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25804758 >.

DUSSE, L. M. S. A.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. D. G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial,** v. 39, p. 343-350, 2003. ISSN 1676-2444. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442003000400012&nrm=iso >.

DÍAZ-VÉLEZ, C. R. et al. Increased malondialdehyde in peripheral blood of patients with congestive heart failure. **Am Heart J,** v. 131, n. 1, p. 146-52, Jan 1996. ISSN 0002-8703. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8554002 >.

FARACI, F. M.; DIDION, S. P. Vascular protection: superoxide dismutase isoforms in the vessel wall. **Arterioscler Thromb Vasc Biol,** v. 24, n. 8, p. 1367-73, Aug 2004. ISSN 1524-4636. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15166009 >.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira,** v. 43, p. 61-68, 1997. ISSN 0104-4230. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42301997000100014&nrm=iso >.

FERREIRA, C. **Bioquímica básica**. 5ª Edição. São Paulo: 2003.

FINESCHI, V. Measuring myocyte oxidative stress and targeting cytokines to evaluate inflammatory response and cardiac repair after myocardial infarction. **Curr Vasc Pharmacol,** v. 13, n. 1, p. 3-5, 2015. ISSN 1875-6212. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25751417 >.

FU, S. P. et al. Acupuncture promotes angiogenesis after myocardial ischemia through H3K9 acetylation regulation at VEGF gene. **PLoS One,** v. 9, n. 4, p. e94604, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24722278 >.

FUJIOKA, S. et al. NF-kappaB and AP-1 connection: mechanism of NF-kappaB-dependent regulation of AP-1 activity. **Mol Cell Biol,** v. 24, n. 17, p. 7806-19, Sep

2004. ISSN 0270-7306. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15314185 >.

GOTTLIEB, M. G. V.; BONARDI, G.; MORIGUCHI , E. H. Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose. **Scientia Medica,** v. 15, n. 3, p. 203-207, 2005.

GRIENDLING, K. K.; FITZGERALD, G. A. Oxidative Stress and Cardiovascular Injury. **Part I: Basic Mechanisms and In Vivo Monitoring of ROS,** v. 108, n. 16, p. 1912-1916, 2003. Disponível em: < http://circ.ahajournals.org/content/circulationaha/108/16/1912.full.pdf >.

HAUSENLOY, D. J. et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. **Lancet,** v. 370, n. 9587, p. 575-9, Aug 2007. ISSN 1474-547X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17707752 >.

HE, B. et al. Autonomic Modulation by Electrical Stimulation of the Parasympathetic Nervous System: An Emerging Intervention for Cardiovascular Diseases. **Cardiovasc Ther,** v. 34, n. 3, p. 167-71, Jun 2016. ISSN 1755-5922. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26914959 >.

HERMAN, A. G.; MONCADA, S. Therapeutic potential of nitric oxide donors in the prevention and treatment of atherosclerosis. **Eur Heart J,** v. 26, n. 19, p. 1945-55, Oct 2005. ISSN 0195-668X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15911567 >.

HO, F. M. et al. Effect of acupuncture at nei-kuan on left ventricular function in patients with coronary artery disease. **Am J Chin Med,** v. 27, n. 2, p. 149-56, 1999. ISSN 0192-415X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10467449 >.

JANG, D. K. et al. Electroacupuncture for abdominal pain relief in patients with acute pancreatitis: study protocol for a randomized controlled trial. **Trials,** v. 19, n. 1, p. 279, May 2018. ISSN 1745-6215. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29769133 >.

JIANG, X. Effects of magnetic needle acupuncture on blood pressure and plasma ET-1 level in the patient of hypertension. **J Tradit Chin Med,** v. 23, n. 4, p. 290-1, Dec 2003. ISSN 0255-2922. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14719303 >.

KAMODYOVÁ, N.; TÓTHOVÁ, L.; CELEC, P. Salivary markers of oxidative stress and antioxidant status: influence of external factors. **Dis Markers**, v. 34, n. 5, p. 313-21, 2013. ISSN 1875-8630. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23478271 >.

KAPTCHUK, T. J. Acupuncture: theory, efficacy, and practice. **Ann Intern Med,** v. 136, n. 5, p. 374-83, Mar 2002. ISSN 1539-3704. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11874310 >.

KIM, H. M. et al. Can acupuncture affect the circadian rhythm of blood pressure? A randomized, double-blind, controlled trial. **J Altern Complement Med,** v. 18, n. 10, p. 918-23, Oct 2012. ISSN 1557-7708. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22906144 >.

KUNZ, V. C. et al. Linear and nonlinear analysis of heart rate variability in healthy subjects and after acute myocardial infarction in patients. **Braz J Med Biol Res,** v. 45, n. 5, p. 450-8, May 2012. ISSN 1414-431X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22370707 >.

KÜBLER, W.; HAASS, M. Cardioprotection: definition, classification, and fundamental principles. **Heart,** v. 75, n. 4, p. 330-3, Apr 1996. ISSN 1355-6037. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8705755 >.

LAFUENTE-LAFUENTE, C. et al. Antiarrhythmic drugs for maintaining sinus rhythm after cardioversion of atrial fibrillation: a systematic review of randomized controlled trials. **Arch Intern Med,** v. 166, n. 7, p. 719-28, Apr 2006. ISSN 0003-9926. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16606807 >.

LASLETT, L. J. et al. The worldwide environment of cardiovascular disease: prevalence, diagnosis, therapy, and policy issues: a report from the American College of Cardiology. **J Am Coll Cardiol,** v. 60, n. 25 Suppl, p. S1-49, Dec 2012. ISSN 1558-3597. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23257320 >.

LEE, M. C. [Oxidative stress and periodontal disease--periodontal disease as a life-related disease and vascular disease]. **Nihon Yakurigaku Zasshi,** v. 144, n. 6, p. 281-6, Dec 2014. ISSN 0015-5691. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25492364 >.

LEONG, X. F. et al. Intake of repeatedly heated palm oil causes elevation in blood pressure with impaired vasorelaxation in rats. **Tohoku J Exp Med,** v. 219, n. 1, p. 71-8, Sep 2009. ISSN 1349-3329. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19713687 >.

LESSA, I.; MENDONÇA, G. A.; TEIXEIRA, M. T. [Non-communicable chronic diseases in Brazil: from risk factors to social impact]. **Bol Oficina Sanit Panam,** v. 120, n. 5, p. 389-413, May 1996. ISSN 0030-0632. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8924219 >.

LEUNG, S. B. et al. Attenuation of blood pressure in spontaneously hypertensive rats by acupuncture was associated with reduction oxidative stress and improvement from endothelial dysfunction. **Chin Med,** v. 11, n. 1, p. 38, 2016. ISSN 1749-8546. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27582785 >.

LI, J. et al. The influence of PC6 on cardiovascular disorders: a review of central neural mechanisms. **Acupunct Med,** v. 30, n. 1, p. 47-50, Mar 2012. ISSN 1759-9873. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22378585 >.

LI, P. et al. Reversal of reflex-induced myocardial ischemia by median nerve stimulation: a feline model of electroacupuncture. **Circulation,** v. 97, n. 12, p. 1186-94, Mar 1998. ISSN 0009-7322. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9537345 >.

LI, P. et al . Long-Lasting Reduction of Blood Pressure by Electroacupuncture in Patients with Hypertension: Randomized Controlled Trial. **Med Acupunct,** v. 27, n. 4, p. 253-266, Aug 2015. ISSN 1933-6586. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26392838 >.

LIU, Y. et al. Analysis of the effects of electroacupuncture at the pericardium 6 acupoint on heart function in patients with angina using equilibrium radionuclide angiocardiography quantity analysis technique. **J Altern Complement Med,** v. 20, n. 6, p. 466-71, Jun 2014. ISSN 1557-7708. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24720785 >.

LIU, Y. et al.. Acupuncture lowers blood pressure in mild hypertension patients: a randomized, controlled, assessor-blinded pilot trial. **Complement Ther Med,** v. 23, n. 5, p. 658-65, Oct 2015. ISSN 1873-6963. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26365445 >.

LOMUSCIO, A. et al. Efficacy of acupuncture in preventing atrial fibrillation recurrences after electrical cardioversion. **J Cardiovasc Electrophysiol,** v. 22, n. 3, p. 241-7, Mar 2011. ISSN 1540-8167. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20807278 >.

LU, S. F. et al. Cardioprotective Effect of Electroacupuncture Pretreatment on Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury via Antiapoptotic Signaling. **Evid Based Complement Alternat Med,** v. 2016, p. 4609784, 2016. ISSN 1741-427X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27313648 >.

LÜDERS, J.; DEMAND, J.; HÖHFELD, J. The ubiquitin-related BAG-1 provides a link between the molecular chaperones Hsc70/Hsp70 and the proteasome. **J Biol Chem,** v. 275, n. 7, p. 4613-7, Feb 2000. ISSN 0021-9258. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10671488 >.

MA, D. et al. Transcutaneous electrical acupoint stimulation for the treatment of withdrawal syndrome in heroin addicts. **Pain Med,** v. 16, n. 5, p. 839-48, May 2015. ISSN 1526-4637. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25989154 >.

MA, F. et al. [Impacts on oxidative stress in the patients with cardiac valve replacement treated with electroacupuncture at Neiguan (PC 6)]. **Zhongguo Zhen Jiu,** v. 35, n. 7, p. 707-10, Jul 2015. ISSN 0255-2930. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26521589 >.

MA, S. X.; LI, X. Y. Increased neuronal nitric oxide synthase expression in the gracile nucleus of brainstem following electroacupuncture given between cutaneous hindlimb acupuncture points BL 64 & BL 65 in rats. **Acupunct Electrother Res,** v. 27, n. 3-4, p. 157-69, 2002. ISSN 0360-1293. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12638736 >.

MAJZUNOVA, M. et al. Redox signaling in pathophysiology of hypertension. **J Biomed Sci,** v. 20, p. 69, Sep 2013. ISSN 1423-0127. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24047403 >.

MANSUR, A. D. P.; FAVARATO, D. Trends in Mortality Rate from Cardiovascular Disease in Brazil, 1980-2012. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia,** v. 107, p. 20-25, 2016. ISSN 0066-782X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2016004000020&nrm=iso >.

MASTITSKAYA, S. et al. Cardioprotection evoked by remote ischaemic preconditioning is critically dependent on the activity of vagal pre-ganglionic neurones. **Cardiovasc Res,** v. 95, n. 4, p. 487-94, Sep 2012. ISSN 1755-3245. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22739118 >.

MATTOS, T. **Quantificação da ação antioxidante do piridoxal isonicotinoil hidrazona (PIH) contra o estresse oxidativo induzido por íons ferro.** 2009. Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília.

MENDIS, S.; PUSKA, P.; NORRVING, B. **Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control**. Geneva: World Health Organization 2011.

MENG, J. The effects of acupuncture in treatment of coronary heart diseases. **J Tradit Chin Med,** v. 24, n. 1, p. 16-9, Mar 2004. ISSN 0255-2922. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15119162 >.

MEZZETTI, A.; CIPOLLONE, F.; CUCCURULLO, F. Oxidative stress and cardiovascular complications in diabetes: isoprostanes as new markers on an old paradigm. **Cardiovasc Res,** v. 47, n. 3, p. 475-88, Aug 2000. ISSN 0008-6363. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10963721 >.

MIAO, L.; ST CLAIR, D. K. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. **Free Radic Biol Med,** v. 47, n. 4, p. 344-56, Aug 2009. ISSN 1873-4596. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19477268 >.

MORAN, A. E. et al. 1990-2010 global cardiovascular disease atlas. **Glob Heart,** v. 9, n. 1, p. 3-16, Mar 2014. ISSN 2211-8179. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25432106 >.

MOTLAGH, F. E. et al. Acupuncture therapy for drug addiction. **Chin Med,** v. 11, p. 16, 2016. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27053944 >.

MURIACH, M. et al. Diabetes and the brain: oxidative stress, inflammation, and autophagy. **Oxid Med Cell Longev,** v. 2014, p. 102158, 2014. ISSN 1942-0994. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25215171 >.

NAPADOW, V. et al. Effects of electroacupuncture versus manual acupuncture on the human brain as measured by fMRI. **Hum Brain Mapp,** v. 24, n. 3, p. 193-205, Mar 2005. ISSN 1065-9471. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15499576 >.

NERI, M. et al. Cardiac oxidative stress and inflammatory cytokines response after myocardial infarction. **Curr Vasc Pharmacol,** v. 13, n. 1, p. 26-36, 2015. ISSN 1875-6212. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23628007 >.

NETTER, F. H. **Atlas de Anatomia Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2000.

NI, X. et al. Cardioprotective effect of transcutaneous electric acupoint stimulation in the pediatric cardiac patients: a randomized controlled clinical trial. **Paediatr Anaesth,** v. 22, n. 8, p. 805-11, Aug 2012. ISSN 1460-9592. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22380768 >.

NICKENIG, G.; HARRISON, D. G. The AT₁-Type Angiotensin Receptor in Oxidative Stress and Atherogenesis. **Part I: Oxidative Stress and Atherogenesis,** v. 105, n. 3, p. 393-396, 2002. Disponível em: < http://circ.ahajournals.org/content/circulationaha/105/3/393.full.pdf >.

O'BRIEN, W. J.; HEIMANN, T.; RIZVI, F. NADPH oxidase expression and production of superoxide by human corneal stromal cells. **Mol Vis,** v. 15, p. 2535-43, Dec 2009. ISSN 1090-0535. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19997580 >.

PARK, J. L.; LUCCHESI, B. R. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. **Ann Thorac Surg,** v. 68, n. 5, p. 1905-12, Nov 1999. ISSN 0003-4975 (Print) 0003-4975 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10585102 >.

PARK, J. M. et al. The acute effect of acupuncture on endothelial dysfunction in patients with hypertension: a pilot, randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial. **J Altern Complement Med,** v. 16, n. 8, p. 883-8, Aug 2010. ISSN 1557-7708. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20673141 >.

PARK, M. Y. et al. Localized argyria: Troublesome side effect of acupuncture. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, Aug 2017. ISSN 1468-3083. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28833654 >.

PESARO, A. E. P.; SERRANO JR., C. V.; NICOLAU, J. C. Infarto agudo do miocárdio: síndrome coronariana aguda com supradesnível do segmento ST. **Revista da Associação Médica Brasileira,** v. 50, p. 214-220, 2004. ISSN 0104-4230. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302004000200041&nrm=iso >.

PESKIN, A. V.; WINTERBOURN, C. C. A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1). **Clin Chim Acta,** v. 293, n. 1-2, p. 157-66, Mar 2000. ISSN 0009-8981. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10699430 >.

PINHO, R. A. et al. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia,** v. 94, p. 549-555, 2010. ISSN 0066-782X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2010000400018&nrm=iso >.

RAMSAY, R. R.; SINGER, T. P. Relation of superoxide generation and lipid peroxidation to the inhibition of NADH-Q oxidoreductase by rotenone, piericidin A, and MPP+. **Biochem Biophys Res Commun,** v. 189, n. 1, p. 47-52, Nov 1992. ISSN 0006-291X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1333196 >.

REN, Y. et al. Investigation of acupoint specificity by functional connectivity analysis based on graph theory. **Neurosci Lett,** v. 482, n. 2, p. 95-100, Sep 2010. ISSN 1872-7972. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20619317 >.

RIBEIRO, A. G.; COTTA, R. M. M.; RIBEIRO, S. M. R. A promoção da saúde e a prevenção integrada dos fatores de risco para doenças cardiovasculares. **Ciência & Saúde Coletiva,** v. 17, p. 7-17, 2012. ISSN 1413-8123. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232012000100002&nrm=iso >.

ROBOUBI, B. What is cun? **Reg Anesth Pain Med,** v. 31, n. 1, p. 91-2, 2006 Jan-Feb 2006. ISSN 1098-7339. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16418038 >.

RUBIO, M. C. et al. Oxidative stress assessed in saliva from patients with acute myocardial infarction. A preliminary study. **Acta Odontol Latinoam,** v. 26, n. 2, p. 116-

20, 2013. ISSN 0326-4815. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24303736 >.

SAHMEDDINI, M. A. et al. Electro-acupuncture stimulation at acupoints reduced the severity of hypotension during anesthesia in patients undergoing liver transplantation. **J Acupunct Meridian Stud,** v. 5, n. 1, p. 11-4, Feb 2012. ISSN 2093-8152. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22309902 >.

SAINI, H. K.; MACHACKOVA, J.; DHALLA, N. S. Role of reactive oxygen species in ischemic preconditioning of subcellular organelles in the heart. **Antioxid Redox Signal,** v. 6, n. 2, p. 393-404, Apr 2004. ISSN 1523-0864. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15025941 >.

SALERNO, T. A. et al. Efficacy, feasibility, and pitfalls of transseptal approach in beating-heart mitral valve surgery. **J Card Surg,** v. 24, n. 5, p. 495-8, Sep-Oct 2009. ISSN 1540-8191 (Electronic) 0886-0440 (Linking). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19740282 >.

SHAN, X. Q.; AW, T. Y.; JONES, D. P. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. **Pharmacol Ther,** v. 47, n. 1, p. 61-71, 1990. ISSN 0163-7258. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2195557 >.

SHI, P. et al. Electroacupuncture regulates the stress-injury-repair chain of events after cerebral ischemia/reperfusion injury. **Neural Regen Res,** v. 12, n. 6, p. 925-930, Jun 2017. ISSN 1673-5374. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28761425 >.

SITI, H. N.; KAMISAH, Y.; KAMSIAH, J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). **Vascul Pharmacol,** v. 71, p. 40-56, Aug 2015. ISSN 1879-3649. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25869516 >.

STOTT, A. Examining the efficacy of stimulating the PC6 wrist acupuncture point for preventing postoperative nausea and vomiting: A Cochrane review summary. **Int J Nurs Stud,** v. 64, p. 139-141, Dec 2016. ISSN 1873-491X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27817841 >.

TATARADZE, E.; CHABASHVILI, N.; SANIKIDZE, T. Physical rehabilitation of stroke patients and redox alterations. **Georgian Med News**, n. 129, p. 66-9, Dec 2005. ISSN 1512-0112. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16444035 >.

TJEN-A-LOOI, S. C.; LI, P.; LONGHURST, J. C. Role of medullary GABA, opioids, and nociceptin in prolonged inhibition of cardiovascular sympathoexcitatory reflexes during electroacupuncture in cats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol,** v. 293, n. 6, p. H3627-35, Dec 2007. ISSN 0363-6135. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17890425 >.

TOUSOULIS, D. et al. Role of inflammation and oxidative stress in endothelial progenitor cell function and mobilization: therapeutic implications for cardiovascular diseases. **Atherosclerosis,** v. 201, n. 2, p. 236-47, Dec 2008. ISSN 1879-1484. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18599065 >.

TSOU, M. T.; HUANG, C. H.; CHIU, J. H. Electroacupuncture on PC6 (Neiguan) attenuates ischemia/reperfusion injury in rat hearts. **Am J Chin Med,** v. 32, n. 6, p. 951-65, 2004. ISSN 0192-415X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15673200 >.

V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia,** v. 89, p. e24-e79, 2007. ISSN 0066-782X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2007001500012&nrm=iso >.

VASCONCELOS, S. et al. Hipótese oxidativa da hipertensão arterial: uma minirrevisão. **Rev. Bras. hipertens**. Brasil 2007.

VENARDOS, K. M. et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review. **Curr Med Chem,** v. 14, n. 14, p. 1539-49, 2007. ISSN 0929-8673. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17584062 >.

VILLELA, L. C. M.; GOMES, F. E.; MELÉNDEZ, J. G. V. Tendência da Mortalidade por Doenças Cardiovasculares, Isquêmicas do Coração e Cerebrovasculares. **Revista de Enfermagem UFPE online,** v. 8, n. 9, p. 3134-3141, 2014.

WANG, Q. et al. Efficacy of electroacupuncture pretreatment for myocardial injury in patients undergoing percutaneous coronary intervention: A randomized clinical trial with a 2-year follow-up. **Int J Cardiol,** v. 194, p. 28-35, Sep 2015. ISSN 1874-1754. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26011261 >.

WANG, X. et al. Effects of Electroacupuncture at PC6 and ST36 on Heart Rate Variability in Anesthetized Mice **World Journal of Traditional Chinese Medicine**, China**,** v. 1, n. 3, p. 67-70, July, 2015 2015.

WHO, W. H. O. **Standard Acupuncture Point Locations in the Western Pacific Region**. Geneva 2008.

WILLIAMS, F. M. Neutrophils and myocardial reperfusion injury. **Pharmacol Ther,** v. 72, n. 1, p. 1-12, 1996. ISSN 0163-7258 (Print). Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8981567 >.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, W. **Global Status Report on noncommunicable diseases in 2010.** Geneva 2010.

WU, J. et al. Systematic Review of Adverse Effects: A Further Step towards Modernization of Acupuncture in China. **Evid Based Complement Alternat Med,** v. 2015, p. 432467, 2015. ISSN 1741-427X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26339265 >.

WU, J. et al . The role of oxidative stress and inflammation in cardiovascular aging. **Biomed Res Int,** v. 2014, p. 615312, 2014. ISSN 2314-6141. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25143940 >.

YANG, G. et al. Oxidative stress and inflammation modulate Rev-erbα signaling in the neonatal lung and affect circadian rhythmicity. **Antioxid Redox Signal,** v. 21, n. 1, p. 17-32, Jul 2014. ISSN 1557-7716. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24252172 >.

YANG, L. et al. Cardioprotective effects of electroacupuncture pretreatment on patients undergoing heart valve replacement surgery: a randomized controlled trial. **Ann Thorac Surg,** v. 89, n. 3, p. 781-6, Mar 2010. ISSN 1552-6259. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20172127 >.

YILMAZ, S. et al. Augmentation of arterial blood velocity with electrostimulation in patients with critical limb ischemia unsuitable for revascularization. **Vascular,** v. 25, n. 2, p. 137-141, Apr 2017. ISSN 1708-539X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27154976 >.

YIN, C. et al. Acupuncture, a promising adjunctive therapy for essential hypertension: a double-blind, randomized, controlled trial. **Neurol Res,** v. 29 Suppl 1, p. S98-103, 2007. ISSN 0161-6412. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17359649 >.

XINGQUN, C.; XUEDONG, Z.; XIN, X. [Application of saliva in disease diagnosis]. **Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi**, v. 34, n. 6, p. 647-653, Dec 2016. ISSN 1000-1182. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28318170 >.

ZALEWSKA, A. et al. Antioxidant profile of salivary glands in high fat diet-induced insulin resistance rats. **Oral Dis**, v. 20, n. 6, p. 560-6, Sep 2014. ISSN 1601-0825. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24106991 >.

ZAMOTRINSKY, A. et al. Effects of electrostimulation of the vagus afferent endings in patients with coronary artery disease. **Coron Artery Dis,** v. 8, n. 8-9, p. 551-7, 1997

Aug-Sep 1997. ISSN 0954-6928. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9431484 >.

ZHANG, F.; YU, X.; XIAO, H. Cardioprotection of Electroacupuncture for Enhanced Recovery after Surgery on Patients Undergoing Heart Valve Replacement with Cardiopulmonary Bypass: A Randomized Control Clinical Trial. **Evid Based Complement Alternat Med,** v. 2017, p. 6243630, 2017. ISSN 1741-427X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28298935 >.

ZHANG, Z.-L. et al. [Randomized controlled study on effects of the needling method for regulating spleen-stomach on coronary heart disease complicated by type 2 diabetes mellitus complicated]. **Zhongguo zhen jiu = Chinese acupuncture & moxibustion,** v. 28, p. 629-33, 2008.

ZIMA, A. V.; BLATTER, L. A. Redox regulation of cardiac calcium channels and transporters. **Cardiovasc Res,** v. 71, n. 2, p. 310-21, Jul 2006. ISSN 0008-6363. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16581043 >.