



## **EFEITOS DA FONOFORESE NA INFLAMAÇÃO IATROGÊNICA MUSCULAR AGUDA ATRAVÉS DE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS WISTAR**

**Autores:** Cleucy Jaqueline SALLES<sup>1</sup>, Andressa do AMARAL<sup>1</sup>, Débora Cristina OLSSON<sup>2</sup>

**Identificação autores:** <sup>1</sup>Instituto Federal Catarinense – Campus Concórdia; <sup>2</sup>Orientador IFC – Concórdia.

### **RESUMO**

Para avaliar a reação inflamatória e o perfil oxidativo de feridas cirúrgicas musculares em ratos wistar, utilizou-se a terapia ultrassônica (UST) nos modos pulsado e fonoforese com óleo a base de ácidos graxos essenciais. Foram alocados 64 ratos em quatro grupos e realizaram-se colheitas de fragmentos musculares às 0, 24, 48, 96 e 144 horas após a miectomia do músculo gastrocnêmio. O GLUO (grupo fonoforese) apresentou uma diminuição de células inflamatórias entre as 48 e 96 horas. Conclui-se que a inflamação muscular acontece de forma diminuída nos animais que utilizaram como meio adjuvante o UST.

### **INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA**

O músculo lesionado passa por um mecanismo de cura compreendida por três fases (HUARD et al., 2002). Na primeira, ocorre inflamação, necrose de células danificadas e fagocitose, com formação de hematoma, degeneração do tecido e resposta inflamatória celular (HALLIWELL & CHIRICO, 1993). A segunda fase ocorre após a injúria, caracterizada pela regeneração tecidual e proliferação de fibroblastos e, na terceira etapa, há formação de fibrose e remodelamento do tecido muscular incluindo a recuperação da resistência e tração do tecido conjuntivo (ZAMMIT et al., 2006).

Diversos recursos adjuvantes têm sido aplicados para a recuperação de lesões musculares com função de diminuir o dano e acelerar o processo cicatricial (FREITAS, 2006), um deles, o ultrassom terapêutico (UST) é uma modalidade biomecânica utilizada para fisioterapia que tem demonstrado intenso efeito positivo sobre a cicatrização de tecidos (FERNANDES, 2003), como a diminuição do edema na melhoria da qualidade do tecido de granulação e estimulação da proliferação de fibroblastos (OLSSON et al., 2006).

O UST no modo fonoforese também melhora a absorção de princípios ativos aos tecidos, além de fornecer medicamento de maneira segura, indolor e não



invasiva (DRAPPER & PRENTICE, 2004), evitando efeitos colaterais, normalmente decorrentes da administração por via oral (PELIZZARI et al., 2012).

No entanto, existem poucos dados sobre o uso da fonoforese como adjuvante na diminuição do estresse oxidativo (EO). Sendo assim, este estudo teve como objetivo investigar através dos parâmetros do EO, os bioefeitos da fonoforese com ácidos graxos essenciais (AGE), sobre o processo inflamatório iatrogênico muscular agudo.

## METODOLOGIA

Utilizaram-se 64 ratos Wistar, machos, com 120 dias de idade e peso corporal de 300 a 350g. Os animais foram mantidos em gaiolas situadas em biotério climatizado, alimentados com ração balanceada e água *ad libidum*. Foram separados em quatro grupos experimentais com 16 animais em cada, os grupos foram denominados GLC: animais controle - lesionados e sem estímulo de UST; GLU: animais lesionados estimulados com UST; GLUO: animais lesionados e tratados com AGE e UST (fonoforese); GLO: animais lesionados e tratados com AGE.

Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina ( $75\text{mg.kg}^{-1}$ ) e diazepam ( $5\text{mg.kg}^{-1}$ ) via intraperitoneal, mantidos em anestésico inalatório halotano em máscara com fluxo de oxigênio a 100%. O membro pélvico direito foi tricotomizado e após antissepsia a pele foi seccionada expondo o músculo gastrocnêmio. A incisão cirúrgica foi realizada com bisturi com lâmina 15 e o músculo demarcado com uma régua estéril para efetuar um corte padronizado em 3mm de largura com 3mm de profundidade. A síntese muscular foi realizada com fio poliglactina 910, 4-0 e a dérmica, com fio mononilon 4-0, em sutura padrão simples contínua. No pós-operatório utilizou-se cloridrato de tramadol  $2\text{mg.kg}^{-1}$  (TID). Para todos os grupos os protocolos de tratamento foram repetidos duas vezes ao dia, por 5 minutos, durante 6 dias.

Para o tratamento das lesões, utilizou-se o aparelho de UST, com transdutor de 1MHz, (ERA 3,5  $\text{cm}^2$ ), intensidade  $1\text{Wcm}^{-2}$  e para a técnica de aplicação foi usado gel acoplante composto por polímero carboxivinílico, neutralizante, conservante e

água purificada. Para a fonoforese foi aplicado um óleo comercial com AGE (Dersani®) composto de Triglicerídeos de Ácidos Cáprico e Caprílico, Óleo de girassol clarificado, lecitina, palmitato de retinol, acetato de tocoferol e alfa-tocoferol.

Realizaram-se colheitas de fragmentos do músculo gastrocnêmio durante o ato cirúrgico-anestésico, sendo denominado este de hora zero. As demais foram colhidas após eutanásia dos animais, em duplicatas às 24, 48, 96 e 144h de pós-operatório, onde foi selecionado aleatoriamente quatro animais por grupo. Um fragmento de cada amostra foi armazenado em eppendorf e individualmente identificado e congelado para as análises enzimáticas e uma segunda amostra para análise do perfil inflamatório das células polimorfonucleares (PMN) e mononucleares (MN). Na análise histológica foi realizada a comparação das lâminas de cada grupo e avaliadas os principais eventos morfológicos das células PMN e MN.

Para determinação da área da lesão cada fotomicrografia foi expandida por 40 vezes e então mensurada por cinco delimitações que demarcaram a distância existente entre as extremidades das fibras musculares lesionadas. Na estatística os grupos foram contrastados e se diferiram as médias de EO (TBARS, ERO, SOD) com os tratamentos: GLC, GLU, GLO e GLUO. Nestes, foram medidas variáveis quantitativas: TBARS, ERO, SOD, MN e PMN. Foi comprovada a normalidade dos valores mediante a prova de Shapiro y Wilk. Para os dados que não seguiram a anormalidade aplicou-se a prova não paramétrica H de Kruskal-Wallis, e, para os que seguiram a anormalidade aplicou-se diretamente a análise de variância simples ( $P \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na análise histológica a quantidade de proporção volumétrica (PV) de células PMN e MN comparadas entre os grupos de tratamento foi maior no GLC nas primeiras 24 horas diminuindo sensivelmente nos GLU, GLO e GLUO, entretanto, a diminuição mais importante foi observada para as MN a partir das 24 horas e para PMN a partir das 48h, sendo mais significativo essa diminuição às 144h ( $p \leq 0,05$ ), porém todos apresentaram uma intensidade inflamatória até as

primeiras 24h, não sendo verificada influência significativa entre os grupos ( $p \geq 0,05$ ) neste período.

No tratamento GLU e GLUO a menor quantidade de PMN foi observada às 96 e 144 horas. A partir das 48 horas ocorreu uma diminuição gradativa na PV comparada ao GLC e GLO. A diminuição também foi verificada, quando comparada ao grupo controle, mas não teve tanto destaque como nos tratamentos GLU e GLUO. Estes resultados mostram que a aplicação do UST no modo pulsado em função fonoforese estimula mais precocemente a quimiotaxia para células PMN e diminuiu o tempo inflamatório. Os tratamentos com UST aceleraram o processo inflamatório sendo assim, um facilitador anti-inflamatório. Isso talvez tenha sido importante para determinar a regeneração muscular em menor tempo, pois sabe-se que a remoção rápida de tecido necrótico estimula a formação de miotúbulos e aumenta a proliferação de fibroblastos (FB) (FREITAS et al., 2006).

Na intensidade de  $1W/cm^2$ , frequência de 1MHz e tempo de cinco minutos aplicados duas vezes ao dia, não produziram efeitos tissulares indesejados. Segundo FERNANDES et al. (2003), dependendo da intensidade, tempo e frequência das aplicações pode haver danos teciduais, retardando a cicatrização. Pesquisadores indicam o uso da fonoforese somente como meio adjuvante anti-inflamatório, resultados esses confirmados nesta pesquisa, corroborando com OLSSON et al. (2006) que concluíram que em feridas cirúrgicas a aplicação do UST em modo pulsado, reduz o tempo da reação inflamatória favorecendo a cicatrização.

Verificou-se um efeito protetor de dano oxidativo nos grupos que receberam essa modalidade de tratamento que também inibiu a atividade das ERO até o quarto dia de pós-operatório.

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados obtidos nas condições em que foi realizado o experimento permite concluir que o uso do UST pulsado acelerou o processo inflamatório. Os níveis de TBARS e ERO foram menores nos grupos que utilizaram como meio adjuvante o UST, podendo concluir que o UST pulsado atuou como um protetor

celular diminuindo os danos tissulares ocasionados pelos agentes oxidativos.

## REFERÊNCIAS

DRAPPER, D.O.; PRENTICE, W.E. Ultrassom terapêutico. In: PRENTICE, W.E. **Modalidades terapêuticas para fisioterapeutas**. Porto Alegre: Artmed, 2004. Cap.10, p.245-274.

FERNANDES, M.A.L. et al. Efeito do ultrassom terapêutico em tendinite experimental de equinos: estudo clínico, ultrassonográfico e histopatológico de dois protocolos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.1, p.27-34, 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352003000100005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000100005)>. Acesso em: 12 abr. 2017.

FREITAS, L.S. et al. Effect of therapeutic pulsed ultrasound on parameters of oxidative stress in skeletal muscle after injury. **International Federation for Cell Biology**, v.31, n.5, p.482-488, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17196843>>. Acesso em: 15 set. 2017.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.57, n.5, p.715-25, 1993. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/14723203\\_Lipid\\_peroxidation\\_its\\_mechanism\\_measurement\\_and\\_significance\\_Am\\_J\\_Clin\\_Nut](https://www.researchgate.net/publication/14723203_Lipid_peroxidation_its_mechanism_measurement_and_significance_Am_J_Clin_Nut)>. Acesso em: 04 set. 2017.

HUARD, J. et al. Muscle injury and repair: current trends in research. **Journal of Bone & Joint Surgery**, v.84, n.5, p.822-832, 2002. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/11367069\\_Muscle\\_Injuries\\_and\\_Repair\\_Current\\_Trends\\_in\\_Research](https://www.researchgate.net/publication/11367069_Muscle_Injuries_and_Repair_Current_Trends_in_Research)>. Acesso em: 22 mar. 2017.

OLSSON, D.C. et. al. Estimulação ultra-sônica pulsada e contínua no processo cicatricial de ratos submetidos à celiotomia. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p.865-872, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v36n3/a21v36n3.pdf>>. Acesso em: 15 set. 2017.

PELIZZARI, C. **Fonoforese e eletroestimulação neuromuscular em cães: uma contribuição para a fisioterapia veterinária**. 2011. 54f. Tese (Doutorado em medicina veterinária) Curso de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: <[http://w3.ufsm.br/ppgmvm/images/Tese\\_Charles\\_Pelizzari.pdf](http://w3.ufsm.br/ppgmvm/images/Tese_Charles_Pelizzari.pdf)>. Acesso em: 22 mar. 2017.

ZAMMIT, P.S. et al. The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v.54, n.11, p.1177-1191, 2006. Disponível em: <<http://jhc.sagepub.com/content/54/11/1177.full>>. Acesso em: 18 set. 2017.