



EFEITO DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO SOBRE A LESÃO DO MÚSCULO QUADRÍCEPS EM RATOS – AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E DO PROCESSO INFLAMATÓRIO

Franciesca Menegassi Raminelli¹
Carlos Gustavo Sakuno Rosa²
Norma Anair Possa Marroni³

Resumo

As lesões musculares podem levar a geração de radicais livres, desencadeando estresse oxidativo e a liberação de alguns mediadores inflamatórios. O ultrassom terapêutico (UST) é um dos recursos da eletroterapia mais utilizados na prática clínica do fisioterapeuta com o objetivo de diminuir a dor, atenuar os efeitos da inflamação e reorganização das fibras musculares. **Objetivo:** avaliar o uso do ultrassom terapêutico sobre o estresse oxidativo e processo inflamatório em modelo experimental de lesão por trauma único do músculo quadríceps. **Métodos:** foram utilizados 28 ratos machos, com peso entre 250 e 300 gramas, sendo distribuídos de forma randomizada em quatro grupos: Grupo Controle (CO), Grupo Controle + Ultrassom Terapêutico (CO+UST), Grupo Trauma (T) e Grupo Trauma + Ultrassom Terapêutico (T+UST). No quadríceps direito de ratos do grupo T e T+UST, foi induzido um impacto simples de contusão por meio de uma prensa. **Resultados:** Os resultados no grupo T+UST aos níveis de TBARS e na atividade enzimática da SOD apresentaram uma redução significativa quando comparado ao grupo T. Na atividade enzimática da GPx, observou-se um aumento significativo no grupo T+UST quando comparado ao grupo T. Na análise histológica, o grupo T+UST apresentou uma reorganização da estrutura das fibras e a redução da presença de infiltrado inflamatório em comparação ao grupo T. **Conclusão:** O uso do ultrassom terapêutico foi eficaz na proteção do tecido muscular ao estresse oxidativo, no processo inflamatório e no rearranjo das fibras musculares dos animais submetidos ao modelo de lesão muscular por trauma.

Palavras chave: Trauma muscular; ultrassom; radicais livres.

INTRODUÇÃO

As lesões musculares são frequentes, tanto em atividades desportivas como laborais, podendo ser causadas por estiramento, distensão, esforço repetitivo ou por contusão (FARCIC et al., 2013). A contusão ocorre quando o músculo é exposto a uma súbita força de compressão, muito comum em esportes de contato, podendo citar o músculo quadríceps um dos mais atingidos por esse trauma (GUNDERSEN; BRUUSGAARD, 2008).

1 Aluna do curso de Ciências Biológicas – ULBRA - Bolsista Fapergs– franciesca.raminelli@gmail.com

2 Doutorando do PPGBioSaúde – ULBRA - gustavosakuno@ceulp.edu.br

3 Professora do curso de Odontologia e PPGBioSaúde – ULBRA –nmarroni@terra.com.br

No trauma muscular, há o envolvimento do estresse oxidativo pelo aumento da formação de radicais livres de oxigênio. Estudar o balanço oxidativo tecidual, com especial atenção nas enzimas antioxidantes, pode ser de fundamental importância para compreender esses processos e desenvolver terapias moduladoras.

O ultrassom terapêutico (UST) é um dos recursos da eletroterapia mais utilizados na prática clínica do fisioterapeuta com o objetivo de diminuir a dor, atenuar os efeitos da inflamação e auxiliar na regeneração tecidual. As ondas ultrassônicas são propagadas por meio de compostos líquido-sólidos ou ar. Esse mecanismo é constituído por gerador, que produz um sinal elétrico conectado a um amplificador, que aumenta o sinal, e a um transdutor, que utiliza elementos piezoelétricos para converter o sinal elétrico em ondas sonoras (LEINENGA et al., 2016).

O presente trabalho, visa avaliar o uso do ultrassom terapêutico sobre o estresse oxidativo em trauma do músculo quadríceps em ratos.

METODOLOGIA

Foram utilizados 28 ratos machos Wistar, com peso entre 250 e 300 gramas, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Pelotas e mantidos no Biotério da ULBRA, Canoas – RS (projeto 2016-159P). Durante o experimento, os animais foram mantidos em caixas medindo 47cm x 34cm x 18cm, forradas com maravalha, em ciclo de 12 horas claro/escuro e temperatura entre 18 e 22°C. A água e a ração foram distribuídas *ad libitum*.

Os animais foram distribuídos de forma randomizada em quatro grupos (n=7), sendo todos os animais mortos após nove dias: Grupo Controle (CO), Grupo Controle + Ultrassom Terapêutico (CO+UST), Grupo Trauma (T), Grupo Trauma + Ultrassom Terapêutico (T+UST).

Anterior à indução do trauma, os animais foram pesados e anestesiados com uma solução constituída por cloridrato de cetamina (95mg/kg) e cloridrato de xilazina a 2% (8mg/kg) intraperitonealmente. No quadríceps direito de ratos do grupo T e T+UST foi induzido um impacto simples de contusão por meio de prensa desenvolvida pelo CIDEP/RS, de acordo com o que foi descrito por Lech (1996) e em parceria com o Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes da ULBRA (Canoas/RS). O trauma foi ocasionado por uma peça de metal (com massa de 0,459kg) caindo por uma haste de metal, da altura de 18 cm, no meio do quadríceps. A energia cinética derivada do impacto foi de 0,811 J (FILIPPIN et al., 2009). Os animais foram submetidos a tratamento diário de ultrassom terapêutico, no total de sete aplicações, na

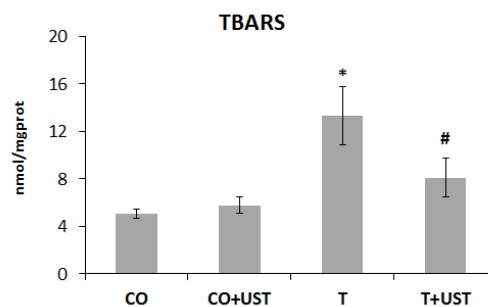
modalidade pulsada, frequência modulada a 48 HZ, intensidade de 0,7 W/cm². O tratamento, no mesmo período do dia, foi de três minutos diários e iniciou vinte e quatro horas após a indução do trauma, utilizando como meio de contato um gel hidrossolúvel e realizando movimentos circulares sobre o local da lesão (adaptado de FARCIC, 2016).

No nono dia, os animais foram submetidos à eutanásia por excesso de anestésicos, em dosagem três vezes maior do que a habitual utilizada para anestesia, seguindo as diretrizes da prática de eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA, 2013). O músculo quadríceps direito foi rapidamente removido. Um fragmento foi imerso em solução de formaldeído 10% para análise histológica e o restante foi imediatamente congelado a -80°C para posteriores análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis de TBARS representados na Figura 1 apresentaram um aumento significativo no grupo T quando comparados aos grupos CO e CO+UST ($p < 0,05$). No grupo tratado com ultrassom terapêutico (T+UST), observou-se uma redução significativa quando comparado ao grupo T ($p < 0,05$).

Figura1: Valores médios dos níveis de TBARS (técnica das substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico) (nmol/mgprot) nos diferentes grupos experimentais.

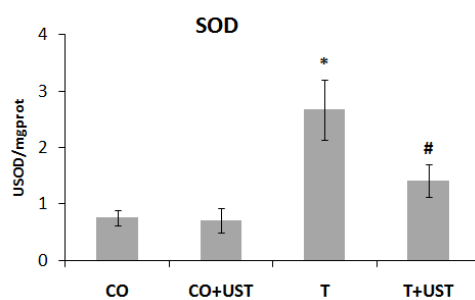


* Diferença significativa entre o grupo T em relação aos grupos CO e CO+UST ($p < 0,05$).

Diferença significativa entre o grupo T+UST em relação ao grupo T ($p < 0,05$).

Na atividade enzimática da SOD apresentado na Figura 2, foi observado um aumento significativo no grupo T quando comparado aos grupos CO e CO+UST ($p < 0,01$). No grupo que ocorreu o tratamento com ultrassom terapêutico, observou-se uma redução significativa da atividade enzimática quando comparado ao grupo T ($p < 0,05$).

Figura 2: Valores médios da atividade da enzima SOD (USOD/mgprot) nos diferentes grupos experimentais.

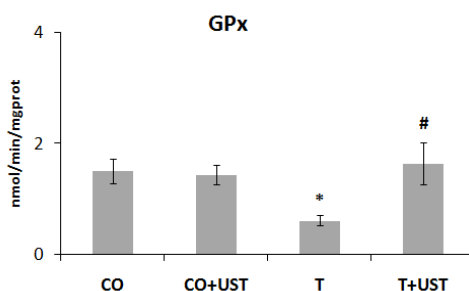


* Diferença significativa entre o grupo T em relação aos grupos CO e CO+UST ($p < 0,01$).

Diferença significativa entre o grupo T+UST em relação ao grupo T ($p < 0,05$).

A atividade enzimática da GPx demonstrada na Figura 3 apresentou uma redução significativa no grupo T quando comparado aos grupos CO e CO+UST ($p < 0,05$). No grupo tratado com ultrassom terapêutico observamos um aumento significativo na atividade enzimática no grupo quando comparado ao grupo T ($p < 0,05$).

Figura 3: Valores médios da atividade da enzima GPx (nmol/min/mgprot) nos diferentes grupos experimentais.

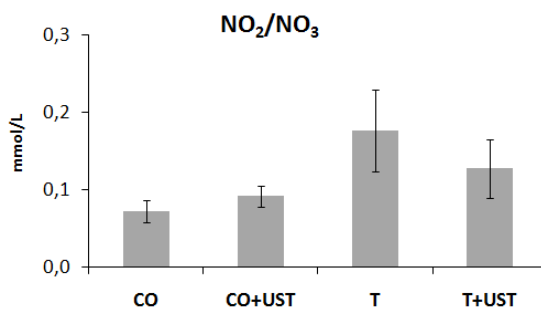


* Diferença significativa entre o grupo T em relação aos grupos CO e CO+UST ($p < 0,05$).

Diferença significativa entre o grupo T+UST em relação ao grupo T ($p < 0,05$).

Os níveis de nitritos e nitratos (NO_2/NO_3) representados na Figura 4 não apresentaram diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

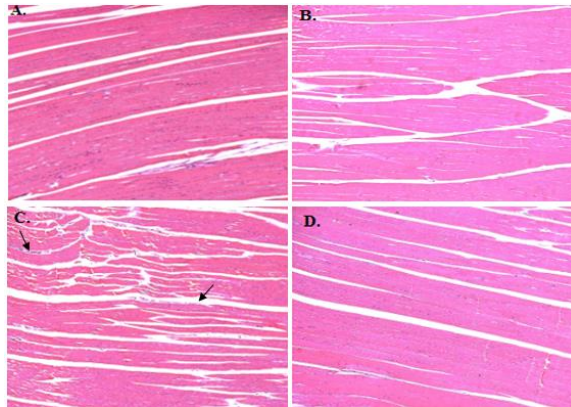
Figura 4: Valores médios dos níveis de nitritos e nitratos (mmol/L) nos diferentes grupos experimentais.



Não ocorreu diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

A avaliação histológica (Figura 5) foi realizada por meio da coloração de hematoxilina e eosina. Os animais dos grupos que não sofreram o trauma muscular CO e CO+UST apresentaram condições estruturais normais da fibra muscular. No grupo que sofreu o trauma muscular (T) houve alterações estruturais e presença de infiltrado inflamatório. No grupo que foi tratado com ultrassom terapêutico (T+UST)), ocorreu a reorganização da estrutura das fibras e a redução do infiltrado inflamatório.

Figura 5: Análise histológica do músculo quadríceps (HE) em aumento de 200x.



Em A e B, observa-se a estrutura normal do tecido muscular. Em C, ocorreram alterações no tecido muscular com a presença de infiltrado inflamatório (seta preta). Em D, observa-se a reorganização do tecido e redução da presença de infiltrado inflamatório.

CONCLUSÕES

O uso do ultrassom terapêutico foi eficaz na proteção do tecido muscular ao estresse oxidativo e no rearranjo das fibras musculares dos animais submetidos ao modelo de lesão muscular por trauma.

REFERÊNCIAS

FARCIC, T.S; BALDAN, C.S; CATTAPAN, C.G; PARIZOTTO, N.A; JOÃO, S.M; CASAROTTO, R.A. Treatment time of ultrasound therapy interferes with the organization of collagen fibers in rat tendons. **Braz J Phys Ther.**, v.17, n.3, p.263-71, 2013.

FILLIPPIN, LI; MOREIRA, AJ; MARRONI, NP; XAVIER, RM. Nitric Oxide and repair of skeletal muscle injury. **Nitric Oxide**, v. 21, p.157-63, 2009.

GUNDERSEN, K; BRUUSGAARD, J.C. Nuclear domains during muscle atrophy: nuclei lost or paradigm lost? **J Physiol.**, v.586, n.11, p.2675-81, 2008.

LEINENGA, G; LANGTON, C; NISBET, R; GÖTZ, J; Ultrasound treatment of neurological diseases - current and emerging applications. **Nat Rev Neurol.**, v.12, n.3, p.161-74, 2016.