

FONOFORESE COM ERVA-MATE REDUZ EDEMA E ESTRESSE OXIDATIVO NA INFLAMAÇÃO MUSCULAR

Leandro Xavier da Silva¹

Juliana Campodonico Madeira²

Morgana Duarte Da Silva³

Resumo:

INTRODUÇÃO: A inflamação pode ser expressa por marcadores indiretos de dano muscular, como dor muscular. Estudos mostram que as espécies reativas de oxigênio (EROs) e o consequente estresse oxidativo estão envolvidos diretamente com a inflamação no músculo (ZORTÉA et al., 2015). Na fisioterapia, o uso do ultrassom (US) terapêutico é alternativa para o tratamento das alterações teciduais e comportamentais encontrados no indivíduo com inflamação. Também possui a capacidade de facilitar a penetração de algumas substâncias no organismo, processo denominado fonoforese (MATHEUS et al, 2008; AGNE, 2009). A *Ilex paraguariensis* (erva-mate), é uma espécie nativa da América do Sul e seu uso é comum dentro do Rio Grande do Sul (VIEIRA, 2010). É composta de xantinas e polifenóis, que são compostos fenólicos com efeitos no metabolismo (SCHINELLA, 2014). Colpo (2012) e Lima (2014) a descrevem com capacidades antioxidantes, antiinflamatória e antimutagênica. O objetivo deste trabalho foi verificar se o tratamento com US associado à *Ilex Paraguariensis* (fonoforese) pode reduzir os efeitos da inflamação muscular induzida por Carragenina no músculo gastrocnêmio de ratos, além de verificar o efeito antiedematogênico da fonoforese, sua relação com a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e sua relação com o estresse oxidativo. **METODOLOGIA:** Injetou-se 20 l de carragenina a 3% no ventre do músculo gastrocnêmio do membro inferior direito de ratos wistar machos, preparado o chimarrão em uma cuia e a água foi sugada através de uma seringa. O extrato da décima infusão foi filtrado e adicionado ao gel à base de água para o tratamento subsequente (LIMA, 2014). O tratamento com US foi realizado por 1 min com Sonopulse (Ibramed) O US foi empregado no modo contínuo a uma frequência de 3 MHz e 0,8 W/cm², diretamente na pele (SOUZA, 2013; SCHINELLA, 2010). Para avaliação de edema utilizou-se paquímetro digital e a bioquímica (estresse oxidativo) com a avaliação do potencial redutor do ferro (FRAP). **RESULTADOS e DISCUSSÃO:** Verificamos que 24 horas após a injeção de carragenina no músculo gastrocnêmio, os ratos desenvolveram edema comparado ao grupo salina intramuscular. Os tratamentos com US e também com US associado a *Ilex paraguariensis* (Fonoforese) foram capazes de impedir o surgimento do edema induzido por carragenina (p

Palavras-chave: CARRAGENINA, FISIOTERAPIA, ULTRASSOM, FONOFORESE

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

**FONOFORESE COM ERVA-MATE REDUZ EDEMA E ESTRESSE OXIDATIVO NA
INFLAMAÇÃO MUSCULAR**

¹ Aluno de graduação. leexavier18@gmail.com. Autor principal

² Aluno de pós-graduação. jucampodonico@gmail.com. Co-autor

³ Docente. morganasilva@unipampa.edu.br. Orientador



ULTRASSOM ASSOCIADO AO GEL DE *ILEX PARAGUARIENSIS* REDUZ EDEMA E ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS COM INFLAMAÇÃO MUSCULAR INDUZIDA POR CARRAGENINA

1. INTRODUÇÃO

No tecido muscular, uma lesão resulta na produção de mediadores inflamatórios e bioquímicos. A inflamação pode ser expressa por um conjunto de marcadores indiretos de dano muscular, como dor muscular. Alguns estudos mostram que as espécies reativas de oxigênio (EROs) e o consequente estresse oxidativo estão envolvidos diretamente com o processo inflamatório no músculo (ZORTÉA et al., 2015).

Na fisioterapia, o uso do ultrassom (US) terapêutico é uma alternativa para o tratamento das alterações teciduais e comportamentais encontrados no indivíduo com inflamação. O US é um recurso comumente aplicado na aceleração do reparo tecidual de lesões musculares, resultando em aumento da síntese proteica e secreção de mastócitos, modificações na mobilidade dos fibroblastos, dentre outras. Ainda, ele possui a capacidade de facilitar a penetração de algumas substâncias no organismo, processo chamado de fonoforese (MATHEUS et al, 2008; AGNE, 2009).

Substâncias derivadas de plantas podem ser associadas ao uso do US. A *Ilex paraguariensis*, conhecida popularmente como erva-mate, é uma espécie nativa da América do Sul e seu uso é comum dentro do Rio Grande do Sul (VIEIRA, 2010). Em seu perfil fitoquímico, a erva-mate é composta de xantinas e polifenóis, que são compostos fenólicos com efeitos no metabolismo (SCHINELLA, 2014). Colpo (2012) e Lima (2014) a descrevem com capacidades antioxidantes, antiinflamatória e antimutagênica.

Processos inflamatórios usualmente são tratados com fármacos, porém eles podem apresentar efeitos adversos importantes. Em vista disso, formas de administração de fármacos e agentes naturais como a *Ilex Paraguariensis*, apenas no local da lesão, como ocorre na fonoforese, podem ser uma estratégia interessante para o governo, para os profissionais da saúde e principalmente para os indivíduos que sofrem de dor inflamatória crônica, visto que ambos tem potencial anti-inflamatório.

O objetivo deste trabalho foi verificar se o tratamento com US associado à *Ilex Paraguariensis* (fonoforese) pode reduzir os efeitos da inflamação muscular induzida por Carragenina no músculo gastrocnêmio de ratos, além de verificar o efeito antiedematogênico da fonoforese, sua relação com a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e sua relação com o estresse oxidativo.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados 24 ratos Wistar (250–300g) machos (Biotério da Universidade Federal de Santa Maria/RS). Os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética da Unipampa sob o nº 022/2016. Os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura e umidade, com livre acesso a água e ração.

2.1 Lesão muscular induzida por Carragenina

Injetou-se 20 µl de carragenina a 3%, dissolvida em solução salina estéril, no ventre do músculo gastrocnêmio do membro inferior direito (SLUKA et al., 2011).

2.2 Extração da *Ilex Paraguariensis*

Primeiramente foi preparado o chimarrão, adicionando em uma cuia de tamanho médio uma quantidade suficiente de mate (Madrugada, Venâncio Aires / RS) para ocupar um terço do volume de a tigela (85 g) e o volume livre foi temperado com água (70 mL) a 80 ° C. A água permaneceu em contato com a erva-mate por 1 minuto e, logo após, a água foi sugada através de uma seringa. O extrato da décima (10ª) infusão (mate) foi filtrado (5 ml) e adicionado ao gel carbopol à base de água (25 ml) para o tratamento subsequente (LIMA, 2014).

2.3 Tratamento com Fonoforese

Foi utilizado equipamento Sonopulse (Ibramed/SP) com área de transdução de 1cm². O tratamento com US foi realizado por 1 min. O US foi empregado no modo contínuo a uma frequência de 3 MHz e 0,8 W/cm², diretamente na pele (SOUZA, 2013; SCHINELLA, 2010). Para realizar o US ou fonoforese, os animais foram mantidos pelo pesquisador, a pata direita foi posicionada e a parte posterior foi exposta ao contato com o transdutor do US.

2.4 Desenho Experimental

Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais (n= 6).

Grupo Salina: Receberam a injeção somente com o veículo (salina estéril).

Grupo Carragenina: Receberam a injeção com carragenina.

Grupo US: Receberam injeção com carragenina e tratamento de US com gel carbopol.

Grupo Ilex: Receberam injeção de carragenina e tratamento de US com gel carbopol enriquecido com extrato da *Ilex paraguariensis*.

2.5 Avaliação de edema

Utilizou-se um paquímetro digital para medir o diâmetro muscular (em milímetros). O paquímetro foi posicionado transversalmente ao músculo gastrocnêmio, na linha média, entre a origem e a inserção do mesmo. A avaliação foi realizada três vezes em cada músculo (ambos os lados) e a diferença entre as mensuras foi utilizada como resultado final.

2.6 FRAP

O reagente de trabalho foi preparado misturando 25 mL de acetato tampão, 2,5 ml de solução de TPTZ e 2,5 ml de solução de FeCl₃-6H₂O. Foi adicionado 10µL de amostra homogeneizada em uma microplaca conjuntamente com 300 µL de reagente de trabalho (BENZIE e STRAIN, 1996). Uma curva padrão com 10 µL trolox (concentrações de 15, 30, 60, 120 e 240 mM) e 300 µL de reagente de trabalho. A microplaca foi incubada em 37°C por 15 minutos antes de ler no Leitor SpectraMax M5 a 593 nm. Cada amostra foi analisada em triplicata.

2.7 Análise Estatística

Os dados paramétricos de distribuição normal foram analisados pelo teste de Análise de Variância (ANOVA) de uma via, seguido de *post hoc* Teste de Newman-Keuls, através do programa GraphPad Prism 6, utilizando-se como significativo um valor de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Verificamos que 24 horas após a injeção de carragenina no músculo gastrocnêmio, os ratos desenvolveram edema comparado ao grupo salina intramuscular. Os tratamentos com US e também com US associado a *Ilex paraguariensis* (Fonoforese) foram capazes de impedir o surgimento do edema induzido por carragenina ($p < 0,0001$ em ambos os grupos, comparados ao grupo carragenina), como apresentado a seguir no gráfico 1. Sabe-se que a carragenina

injetada no músculo causa sintomas como os da miosite, por exemplo, hiperemia, edema e infiltração por neutrófilos (Berberich et al., 1988).

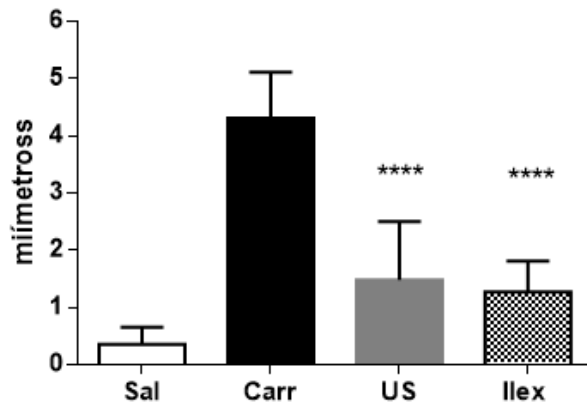


Gráfico 1. Quantificação do edema

Neste trabalho, podemos verificar que houve edema e que ele foi reduzido pelo tratamento com US, equipamento grandemente utilizado pela fisioterapia e que reduz aspectos inflamatórios após lesão muscular incisional aguda (Signor et al, 2011). Além disso, podemos observar que quando associamos o US a um gel enriquecido com *Illex paraguariense* (Fonoforese), os animais que receberam carragenina também não desenvolveram edema, assim como o grupo de ratos tratados com US. Pudemos perceber que esses dois grupos experimentais não são diferentes estatisticamente, portanto a erva-mate não alterou a resposta induzida pelo tratamento com US neste aspecto da inflamação.

No gráfico 2, podemos aferir que o potencial antioxidante dos animais tratados com fonoforese se mostrou similar ao dos animais que receberam apenas o veículo (salina estéril) sem a lesão inflamatória ($p < 0,05$), mostrando que o tratamento pode evitar a produção extra de espécies reativas de oxigênio relacionadas à atividade inflamatória. Segundo estudo realizado por Zortéa et al (2015), inferiram que a inflamação é diretamente ligada a produção de espécies reativas de oxigênio, que causam o estresse oxidativo nos tecidos.

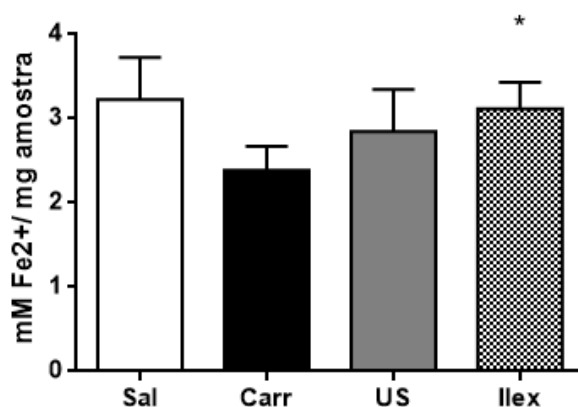


Gráfico 2. Análise da Capacidade Antioxidante Total: Potencial Antioxidante Redutor Férrico (FRAP)

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo mostrou que o tratamento com US e *Ilex paraguariensis* (fonoforese), é capaz de reduzir o edema no músculo gastrocnêmio de ratos causado pela injeção de carragenina, além de tornar o potencial de antioxidante redutor férrico similar aos animais que não tiveram lesão muscular. Ainda deve-se estudar mais profundamente sobre quais vias e fisiologias estão influenciando nesse processo, o que nos dá subsídios à novas pesquisas.

5. REFERÊNCIAS

- AGNE, J. E. **Eu sei eletroterapia**. Santa Maria: Palotti, 2009.
- BENZIE, I.F., STRAIN, J.J., The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.* n. 239, p.70-76, 1996.
- BERBERICH P., HOHEISEL U., MENSE S. Effects of a carrageenan-induced myositis on the discharge properties of group III and IV muscle receptors in the cat. *J Neurophysiol.* n. 59, p.1395–409, 1988.
- COLPO, A. Z. C. Perfil fitoquímico e capacidade antioxidante de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A.St. Hill.). 2012. 102 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana. 2012.
- LIMA, Maria E., et al. *Ilex paraguariensis* extract increases lifespan and protects against the toxic effects caused by paraquat in *Caenorhabditis elegans*. *Res. Public Health*, p. 10091-10104, 2014.
- MATHEUS, J. P. et al. Efeitos do ultrassom terapêutico nas propriedades mecânicas do músculo esquelético após contusão. *Rev Bras Fisioter*, São Carlos, p. 241-257, 2008.
- SCHINELLA, G. et al. An aqueous extract of *Ilex paraguariensis* reduces carrageenan-induced edema and inhibits the expression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in animal models of inflammation. *Planta Med*, p. 961–968, 2014.
- SIGNORI, L. U. et al. Haematological effect of pulsed ultrasound in acute muscular inflammation in rats. *Physiotherapy*. v.97, n.2, p.163-169, 2011.
- SLUKA, K. A. et al. Blockade of opioid receptors in the medullary reticularis nucleus dorsalis, but not the rostral ventromedial medulla, prevents analgesia produced by diffuse noxious inhibitory control in rats with muscle inflammation. *J Pain*, 2011.
- SOUZA, J. et al. Effect of phonophoresis on skin permeation of commercial anti-inflammatory gels: sodium diclofenac and ketoprofen. *Ultrasound in Medicine & Biology*, v. 39, p. 1623-1630, 2013.
- VIEIRA, M. A. et al. Phenolic acids and methylxanthines composition and antioxidant properties of mate (*Ilex paraguariensis*) residue. *Journal of food science*. v. 75, p. 283- 285, 2010.
- ZORTÉA, D. et al. effects of phonophoresis and gold nanoparticles in experimental model of muscle overuse: role of oxidative stress. *Ultrasound in Med. & Biol.*, v. 41, n. 1, p. 151–162, 2015.