

Efeitos do gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina associado ao ultrassom terapêutico em biomarcadores do estresse oxidativo após lesão musculoesquelética em ratos

Effects of naringin/ β -cyclodextrin complexed gel associated with therapeutic ultrasound on biomarkers of oxidative stress after musculoskeletal injury in rats

Efectos del gel complejo de naringina/ β -ciclodextrina asociado con ultrasonido terapéutico sobre biomarcadores de estrés oxidativo después de lesión musculoesquelética en ratas

Recebido: 20/05/2024 | Revisado: 27/05/2024 | Aceitado: 28/05/2024 | Publicado: 06/06/2024

Caroline Bomfim Lemos Santana

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-4203-6368>
Universidade Federal de Sergipe, Brasil
E-mail: fisio.carollemos@gmail.com

Davi Santana Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7103-4441>
Universidade Federal de Sergipe, Brasil
Centro Universitário Planalto do Distrito Federal, Brasil
E-mail: davi.santana.sousa@hotmail.com

Joyce Izabel de Góis Costa

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-3412-8779>
Universidade Federal de Sergipe, Brasil
E-mail: joyceizabel1@outlook.com

Diego Alves Lima

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-3637-0515>
Universidade Federal de Sergipe, Brasil
E-mail: diegoalima8@gmail.com

Evaleide Diniz de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6976-156X>
Universidade Federal de Sergipe, Brasil
E-mail: oliveiraevadiniz@gmail.com

Resumo

A fonoforese é apresentada como uma estratégia para aumentar a permeabilidade dos tecidos corporais e consequentemente potencializar a atividade do sistema de defesa antioxidante. Nesta perspectiva, este estudo teve como objetivo verificar efeitos do gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina associado ao ultrassom terapêutico em biomarcadores oxidativos após lesão musculoesquelética em ratos. Este é um estudo laboratorial de abordagem quantitativa. Ratos wistar machos adultos foram distribuídos com igual proporção em cinco grupos diferentes (n=40): controle, lesão muscular, gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina, ultrassom terapêutico e ultrassom terapêutico associado ao gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina. O músculo gastrocnêmio foi lesionado com impacto mecânico. O tratamento foi aplicado com intervalo de 2, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após a lesão. A peroxidação lipídica, atividade da superóxido dismutase e atividade da catalase foram avaliadas. O grupo UTP + NAR apresentou redução estatisticamente significativa nos níveis de MDA ($1,16 \pm 0,16$ nmolMDA/mg proteína vs $7,22 \pm 0,42$ nmolMDA/mg proteína; $p < 0,05$), atividade da SOD ($0,04 \pm 0,01$ SOD/mg de proteína vs $0,79 \pm 0,09$ U/mg de proteína; $p < 0,05$) e atividade da CAT ($0,006 \pm 0,001$ CAT/mg de proteína vs $0,622 \pm 0,032$ U/mg de proteína; $p < 0,05$) quando comparado ao grupo não tratado. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos UTP + NAR e NAR em todas as variáveis analisadas. Esses resultados sugerem que a utilização do gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina associado ao ultrassom terapêutico após lesão musculoesquelética é eficiente na atenuação da peroxidação lipídica e potencialização do sistema antioxidante.

Palavras-chave: Estresse oxidativo; Fonoforese; Terapia por ultrassom.

Abstract

Phonophoresis is presented as a strategy to increase the permeability of body tissues and consequently enhance the activity of the antioxidant defense system. In this perspective, this study aimed to verify the effects of the naringin/ β -cyclodextrin complexed gel associated with therapeutic ultrasound on oxidative biomarkers after musculoskeletal injury in rats. This is a laboratory study with a quantitative approach. Adult male Wistar rats were equally distributed into five different groups (n=40): control, muscle injury, naringin/ β -cyclodextrin complexed gel, therapeutic ultrasound, and therapeutic ultrasound associated with the naringin/ β -cyclodextrin complexed gel. The gastrocnemius muscle was injured with mechanical impact. Treatment was applied at intervals of 2, 12, 24, 48, 72, and 96 hours after injury. Lipid peroxidation, superoxide dismutase activity, and catalase activity were evaluated. The UTP + NAR group showed a statistically significant reduction in MDA levels (1.16 ± 0.16 nmolMDA/mg protein vs 7.22 ± 0.42 nmolMDA/mg protein; $p < 0.05$), SOD activity (0.04 ± 0.01 SOD/mg protein vs 0.79 ± 0.09 U/mg protein; $p < 0.05$), and CAT activity (0.006 ± 0.001 CAT/mg protein vs 0.622 ± 0.032 U/mg protein; $p < 0.05$) when compared to the untreated group. There was no statistically significant difference between the UTP + NAR and NAR groups in all variables analyzed. These results suggest that the use of the naringin/ β -cyclodextrin complexed gel associated with therapeutic ultrasound after musculoskeletal injury is effective in attenuating lipid peroxidation and enhancing the antioxidant system.

Keywords: Oxidative stress; Phonophoresis; Ultrasound therapy.

Resumen

La fonoforese se presenta como una estrategia para aumentar la permeabilidad de los tejidos corporales y, consecuentemente, potenciar la actividad del sistema de defensa antioxidante. En esta perspectiva, este estudio tuvo como objetivo verificar los efectos del gel complejo de naringina/ β -ciclodextrina asociado al ultrasonido terapéutico en biomarcadores oxidativos después de una lesión musculoesquelética en ratas. Este es un estudio de laboratorio con un enfoque cuantitativo. Ratas Wistar machos adultas fueron distribuidas en igual proporción en cinco grupos diferentes (n=40): control, lesión muscular, gel complejo de naringina/ β -ciclodextrina, ultrasonido terapéutico y ultrasonido terapéutico asociado al gel complejo de naringina/ β -ciclodextrina. El músculo gastrocnemio fue lesionado con impacto mecánico. El tratamiento se aplicó en intervalos de 2, 12, 24, 48, 72 y 96 horas después de la lesión. Se evaluaron la peroxidación lipídica, la actividad de la superóxido dismutasa y la actividad de la catalasa. El grupo UTP + NAR mostró una reducción estadísticamente significativa en los niveles de MDA ($1,16 \pm 0,16$ nmolMDA/mg proteína vs $7,22 \pm 0,42$ nmolMDA/mg proteína; $p < 0,05$), la actividad de SOD ($0,04 \pm 0,01$ SOD/mg de proteína vs $0,79 \pm 0,09$ U/mg de proteína; $p < 0,05$) y la actividad de CAT ($0,006 \pm 0,001$ CAT/mg de proteína vs $0,622 \pm 0,032$ U/mg de proteína; $p < 0,05$) en comparación con el grupo no tratado. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos UTP + NAR y NAR en todas las variables analizadas. Estos resultados sugieren que la utilización del gel complejo de naringina/ β -ciclodextrina asociado al ultrasonido terapéutico después de una lesión musculoesquelética es eficaz en la atenuación de la peroxidación lipídica y en la potenciación del sistema antioxidante.

Palabras clave: Estrés oxidativo; Fonoforese; Terapia de ultrasonido.

1. Introdução

As lesões musculoesqueléticas estão entre as principais lesões observadas na área de primeiros socorros, podendo ocorrer em atividades esportivas, recreativas e até mesmo cotidianas, representando assim um desafio na atenção primária, traumatologia e medicina esportiva (Rahusen et al., 2004; Baoge et al., 2012). Essas injúrias ocorrem como resultado de um impacto direto ou indireto, desencadeando geralmente uma resposta inflamatória local (Sousa Filho et al., 2018).

Atualmente está bem estabelecido que uma resposta inflamatória é essencial no processo de reabilitação estrutural e funcional dos tecidos lesionados (Puntel, 2010). No entanto, uma vez que a lesão acontece de forma demasiada, ocorre também a formação suprafisiológica de espécies reativas de oxigênio (EROs). EROs é um termo coletivo, onde estão inclusos radicais baseados no oxigênio, tais como o ânion superóxido e radical hidroxila, e agentes oxidados não radicalares, tais como o peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso. Quando a geração destes é superior à atividade de defesa antioxidante, levando a um desbalanço, alterações das funções celulares podem surgir em decorrência dos danos oxidativos a lipídios, DNA, carboidratos e proteínas. Esse processo é denominado de estresse oxidativo (Spiteller, 2006; Zama et al., 2013).

Embora seja comprovado que a atividade do sistema de defesa endógeno através das enzimas antioxidantes catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase, se amplifique durante o processo de estresse oxidativo, essa

reação de proteção celular pode não ser proporcional fisiologicamente aos mecanismos pró-oxidante (Li et al., 2005). Assim, a suplementação com antioxidantes exógenos pode desempenhar um importante papel contra os efeitos potencialmente prejudiciais da EROs (Trembl & Smekjal, 2016).

A naringina (C₂₇H₃₂O₁₄) é um glicosídeo natural que proporciona grande parte dos sabores e cores em frutas e vegetais (Luft, 2003). Esta flavonona apresenta efeitos notáveis em atividades anti-inflamatórias, antiapoptóticas e antimicrobianas (Bhartiet al., 2014). Além disso, por pertencer ao grupo dos flavonoides, está associada ao sequestro de radicais livres, prevenindo o estresse oxidativo in vivo (Alam et al., 2014). No entanto, a naringina possui baixa solubilidade em água, o que limita suas aplicações na indústria farmacêutica. Nesse contexto, a complexação da naringina com β-ciclodextrina apresenta-se como uma estratégia para melhorar o potencial farmacológico (Santana et al., 2018).

Outro método utilizado para aumentar a absorção de fármacos aplicados topicamente é a associação destes com o ultrassom terapêutico pulsado (UTP), em um processo conhecido como fonoforese (Terahara et al., 2002). O UTP caracteriza-se pela transmissão transcutânea não invasiva de energia mecânica como ondas de pressão acústica de alta frequência. Esse recurso promove o aumento da penetração de agentes anti-inflamatório e antioxidante, permitindo que maiores concentrações de fármacos chegue ao local desejado sem sobrecarregar o sistema digestivo e hepático (Montalti et al., 2013; Bianchetti et al., 2014; Silveira et al., 2016; Sousa Filho et al., 2018).

O uso de formulações tópicas oferece diversas vantagens e resultados terapêuticos em relação a outras modalidades de administração, atuando diretamente na adesão do paciente ao tratamento (Jorge, 2010). Simultaneamente, a crescente demanda por produtos de origem natural aplicáveis na área da saúde, tem promovido novas oportunidades econômicas em todo o mundo, principalmente em países megadiversos como o Brasil onde a biodiversidade vegetal é considerada uma importante fonte de riqueza (Gottlieb, 1998).

Embora sejam comprovados cientificamente os benefícios da naringina no processo inflamatório e estresse oxidativo, não existem relatos na literatura científica sobre o efeito da associação com o ultrassom terapêutico. Visto que estudo prévio observou redução dos biomarcadores oxidativos mediante tratamento com flavonoide associado ao ultrassom terapêutico (Sousa Filho et al., 2018; Sousa et al., 2021; Oliveira et al., 2023), a aplicação combinada destes dois recursos pode reduzir os danos celulares gerados pelo estresse oxidativo. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar os efeitos do gel complexado de naringina/β-ciclodextrina quando associado ao ultrassom terapêutico em biomarcadores oxidativos (peroxidação lipídica, atividade enzimática da catalase e atividade da enzima superóxido dismutase) após lesão musculoesquelética em ratos.

2. Metodologia

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Biofísica do Coração / Centro de Ciências da Saúde e Biológicas / Universidade Federal de Sergipe (UFS). O protocolo de estudo foi executado após revisão e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA/UFS), sob o número 75/2018, conforme normas e princípios éticos do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Ratos machos *Wistar* (250-300g) oriundos do Biotério Setorial da Universidade Federal de Sergipe foram mantidos em gaiolas com dimensões 39x32x25cm (5 ratos por gaiola) num ciclo alternado de 12 horas de luz e escuridão, em dieta livre de ração e água. Os animais foram distribuídos com igual proporção em cinco grupos diferentes (n=40). Grupo controle (CTR) - animais sem indução da lesão muscular; Grupo lesão muscular (LM) - animais lesionados e não submetidos a tratamento; Grupo gel complexado de naringina/β-ciclodextrina (NAR) - animais lesionados tratados com aplicação tópica de gel complexado de naringina/β-ciclodextrina; Grupo ultrassom terapêutico (UTP) - animais lesionados tratados com ultrassom

terapêutico e gel salino (0,9%) e Grupo ultrassom terapêutico associado ao gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina (UTP + NAR) – animais lesionados tratados com ultrassom terapêutico e gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina.

Os ratos foram anestesiados com injeção intraperitoneal de cloridrato de cetamina (90mg/Kg; Syntec, São Paulo, Brasil) e cloridrato de xilazina (25mg/kg; Syntec, São Paulo, Brasil), e em seguida foi realizada tricotomia na região posterior da pata traseira. O músculo gastrocnêmio foi lesionado com um único e brusco impacto por meio de prensa mecânica (CIDEP, RS, Brasil), composta por barra de metal com massa de 0.459 kg que é atravessada por um fio guia numa altura de 18 cm e gera uma energia cinética de 0.811 Joules (Silveira et al., 2010).

O tratamento foi aplicado em intervalos de 2, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após a indução da lesão muscular (Silveira et al., 2010).

O Ultrassom Terapêutico (Ibramed, Amparo, Brasil) foi conduzido no modo pulsado, com área de radiação efetiva (ERA) de 1cm², ciclo de trabalho de 50%, frequência de 1MHz, intensidade de 0,8 W/cm² por 6 minutos. A área tratada foi de aproximadamente 2 cm (Rizzi et al., 2006), concentrando-se no foco da injúria em movimentos circulares (Saliba et al., 2007).

A naringina (C₂₇H₃₂O₁₄, 580,541 g/mol, Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA), complexada com betaciclodextrina e incorporada a 5% no gel de carbopol no laboratório LAFAC (Departamento de Farmácia/CCBS/UFS), foi aplicada topicamente ou através do ultrassom terapêutico. A cada sessão de tratamento, 70 mg do gel foi aplicado no foco da lesão por 6 minutos.

Duas horas após o último tratamento, ou seja, 98h após a indução da lesão muscular, os animais foram sacrificados por guilhotina. O músculo lesionado foi cirurgicamente removido e as amostras foram homogeneizadas em tampões específicos, conforme cada protocolo de análise.

A formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) durante a reação TBA foi utilizada como índice de peroxidação lipídica (Draper & Hadley, 1990). As amostras foram misturadas com 1 mL de ácido tricloroacético a 10% e 1 mL de ácido tiobarbitúrico a 0,67%. Posteriormente, foram aquecidos em banho-maria por 30 minutos. Os níveis de TBARS foram determinados por absorvância a 532nm. Os resultados foram expressos em nmol/mg de proteína.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi avaliada medindo a inibição da auto-oxidação da adrenalina por absorvância a 480 nm (Bannister & Calabrese, 1987). Os resultados foram expressos em unidades SOD/mg de proteína.

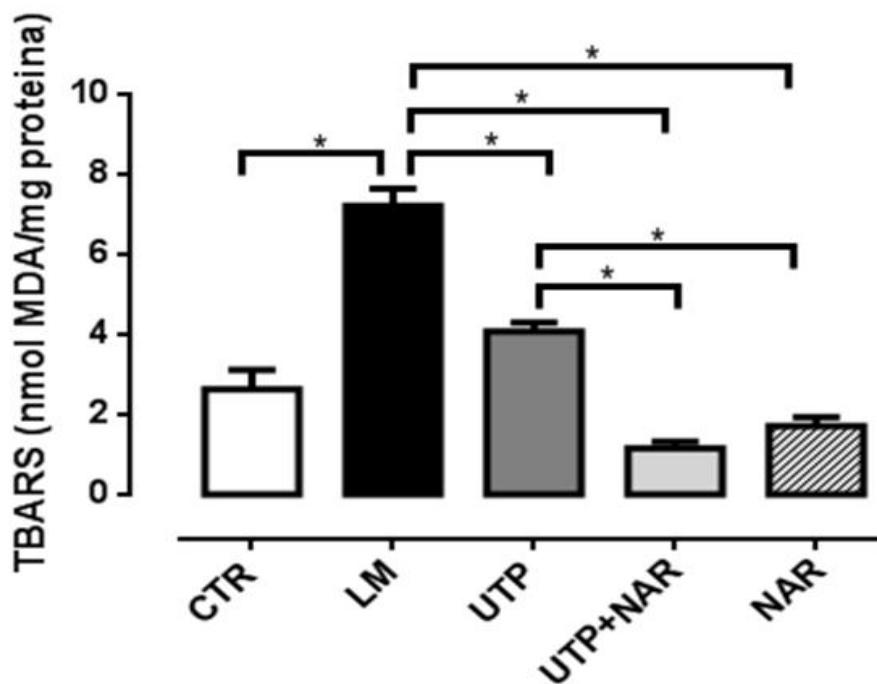
A atividade da catalase (CAT) foi mensurada através da curva de queda do peróxido de hidrogênio por absorvância a 240 nm (Aebi 1984), e os resultados foram expressos como unidade de CAT/mg proteína.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente empregando-se o teste de análise unidirecional de variância (ANOVA), seguido do pós-teste de Bonferroni adotando-se $p < 0,05$ como nível de significância. O software utilizado para a análise foi o GraphPad Prism 6.1. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão médio (EPM).

3. Resultados

A Figura 1 representa os níveis de peroxidação lipídica em todos os grupos avaliados. De acordo com os resultados obtidos, observou-se um aumento na formação de malonaldeído (MDA) após 98 horas da lesão muscular quando comparado o grupo LM ($7,22 \pm 0,42$ nmolMDA/mg proteína) ao grupo CTR ($2,63 \pm 0,48$ nmolMDA/mg proteína, $p < 0,05$, $n = 8$). Os grupos UTP ($4,07 \pm 0,22$ nmolMDA/mg proteína), UTP + NAR ($1,16 \pm 0,16$ nmolMDA/mg proteína) e NAR ($1,72 \pm 0,20$ nmolMDA/mg proteína) apresentaram redução estatisticamente significativa nos níveis de MDA quando comparados ao grupo LM. Os grupos UTP + NAR e NAR reduziram similarmente e significativamente a peroxidação lipídica quando em comparação com o grupo UTP.

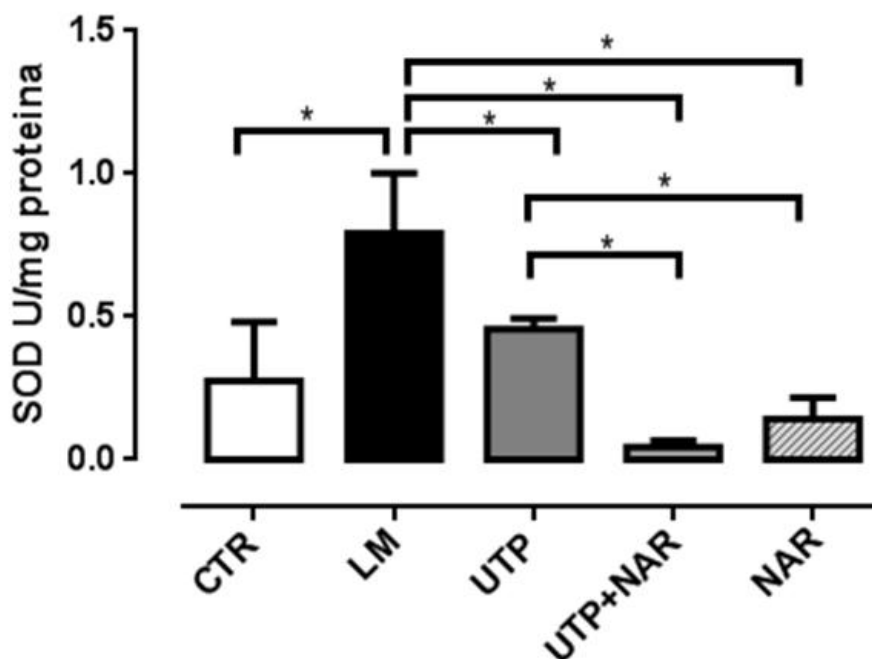
Figura 1 - Efeito do gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina associado ao ultrassom terapêutico pulsado nos níveis de MDA 98 horas após a lesão muscular do gastrocnêmio. CTR: grupo controle; LM: grupo lesão muscular; UTP: ultrassom terapêutico; UTP+NAR: ultrassom terapêutico e gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina; NAR: gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina. Os dados foram expressos em média \pm epm (n=8). * $p < 0,05$.



Fonte: Autoria própria.

O ânion superóxido é dismutado em peróxido de hidrogênio através da atividade da enzima SOD. A Figura 2 mostra que a atividade da SOD se apresentou aumentada quando comparado o grupo LM ($0,79 \pm 0,09$ SOD/mg de proteína) ao grupo CTR ($0,27 \pm 0,08$ SOD/mg de proteína). O tratamento promoveu uma redução estatisticamente significativa da atividade enzimática nos grupos UTP ($0,45 \pm 0,01$ SOD/mg de proteína), UTP + NAR ($0,04 \pm 0,01$ SOD/mg de proteína) e NAR ($0,14 \pm 0,03$ SOD/mg de proteína) em comparação com o grupo LM. Os grupos UTP + NAR e NAR reduziram similarmente e significativamente a atividade da SOD quando em comparação com o grupo UTP.

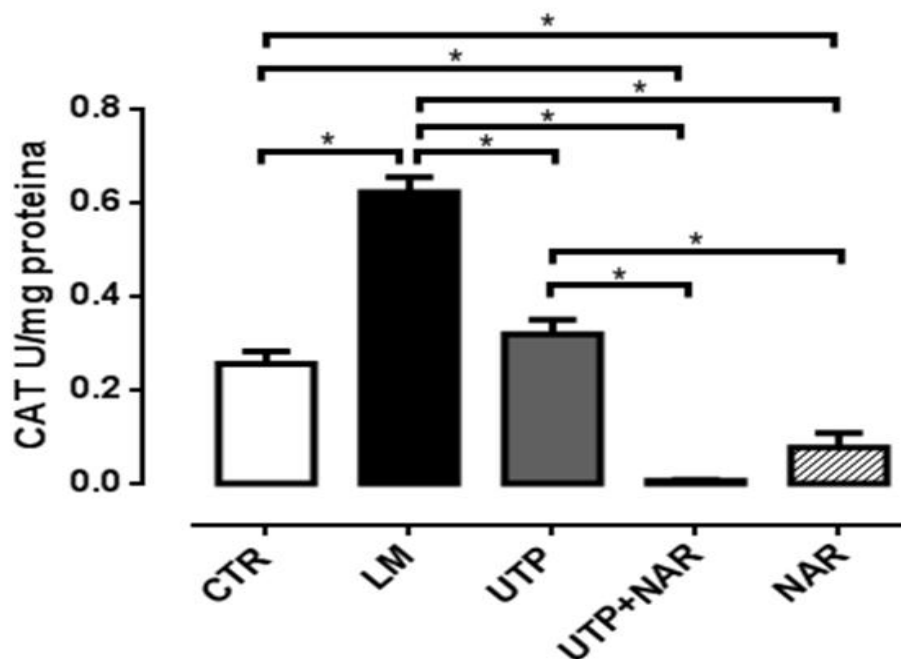
Figura 2 - Efeito do gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina associado ao ultrassom terapêutico pulsado nos níveis de atividade da SOD 98 horas após a lesão muscular do gastrocnêmio. CTR: grupo controle; LM: grupo lesão muscular; UTP: ultrassom terapêutico; UTP+NAR: ultrassom terapêutico e gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina; NAR: gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina. Os dados foram expressos em média \pm epm (n=8). *p<0,05.



Fonte: Autoria própria.

A catalase é uma enzima que dismuta o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. A atividade da CAT apresentou-se aumentada quando comparado o grupo LM ($0,622 \pm 0,032$ CAT/mg de proteína) ao grupo CTR ($0,256 \pm 0,025$ CAT/mg de proteína). O tratamento promoveu uma redução estatisticamente significativa da atividade enzimática nos grupos UTP ($0,318 \pm 0,031$ CAT/mg de proteína), UTP + NAR ($0,006 \pm 0,001$ CAT/mg de proteína) e NAR ($0,077 \pm 0,031$ CAT/mg de proteína) em comparação com o grupo LM. Os grupos UTP + NAR e NAR reduziram similarmente e significativamente a atividade da CAT quando em comparação com o grupo UTP. Observou-se ainda uma diminuição significativa na atividade da enzima nos grupos UTP+NAR e NAR quando comparados ao grupo CTR, como mostra a Figura 3.

Figura 3 - Efeito do gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina associado ao ultrassom terapêutico pulsado nos níveis de atividade da CAT 98 horas após a lesão muscular do gastrocnêmio. CTR: grupo controle; LM: grupo lesão muscular; UTP: ultrassom terapêutico; UTP+NAR: ultrassom terapêutico e gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina; NAR: gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina. Os dados foram expressos em média \pm epm em 08 animais por grupo. * $p < 0,05$.



Fonte: Autoria própria.

4. Discussão

O intento deste estudo foi verificar os efeitos do gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina associado ao UTP em biomarcadores oxidativos após lesão traumática. Um dos principais componentes celulares alterado pela ação das moléculas pró-oxidantes é a membrana celular. Um dos danos à membrana celular, peroxidação lipídica, é caracterizado pela desnaturação de componentes polissacarídeos do interstício de membranas basais, resultando em alterações estruturais, aumento da permeabilidade e formação de aldeídos (Vannucchi et al. 1998).

Os aldeídos, produtos de oxidação derivados de ácidos graxos poli-insaturados, quando comparados aos radicais livres, são considerados relativamente estáveis. Assim, apresentam a capacidade de atuar em estruturas distantes do local do evento inicial como “segundos mensageiros citotóxicos”, contribuindo para a patogênese de muitas doenças (Dalle-donne et al., 2006).

A base de detecção de lesão oxidativa estrutural da membrana celular consiste na reação do malonaldeído (MDA) com o ácido tiobarbitúrico (TBA) pelo teste TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) (Li et al., 2005; Kanth & Elango, 2015). A interação do MDA com o TBA resulta em um complexo colorido que é medido espectrofotometricamente (Grottoet al., 2009).

O aumento nos níveis de MDA é um resultado comum do processo inflamatório (Sousa Filho et al., 2018). Assim, a redução significativa na formação de MDA observada nos grupos UTP, NAR e UTP + NAR em comparação com o grupo LM, indica uma recuperação significativa do progresso inflamatório/oxidativo. De acordo com Rajadurai & Prince, 2007, a inibição

da peroxidação lipídica pela naringina é resultado do aumento no nível de proteína plasmática total e estabilização da membrana decorrentes da atividade do flavonoide.

Mediante a formação exacerbada de EROs, enzimas de defesa antioxidante, tais como SOD e CAT, tem sua expressão aumentada. A SOD e a CAT respectivamente catalisam a conversão dos radicais livres e espécie reativa, em outros metabólitos de oxigênio não reativos, de modo a proteger os componentes celulares da lesão oxidativa (Power & Jackson, 2008; Lee et al., 1987). A atividade da SOD aumenta gradativamente no músculo 12 horas após a lesão, enquanto a expressão da CAT é aumentada em até 48 horas (Kozakowska et al., 2015).

A superóxido dismutase (SOD) constitui a primeira linha de defesa endógena contra o estresse oxidativo, uma vez que catalisa a conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio (Power & Jackson, 2008; Wang et al., 2016). As três isoformas existentes de SOD (SOD1, SOD2, SOD3), são dependentes de um metal de transição no seu sítio ativo para catalisar a reação do ânion superóxido. Duas das isoformas (SOD1 e SOD3) incorpora Cu-Zn, enquanto a SOD2 requer Mn como cofator. Quanto à localização celular, SOD1 encontra-se predominantemente no citosol e no espaço intermembranar mitocondrial, enquanto a SOD2 está localizada na matriz mitocondrial e a SOD3 no espaço extracelular (Power & Jackson, 2008; Kozakowska et al., 2015). No presente estudo foi mensurada a expressão da SOD total.

O peróxido de hidrogênio quando em alta concentração pode ser decomposto em água e oxigênio molecular pela enzima catalase (Zama et al., 2013; Treml & Smejkal, 2016). A CAT é um hemotetrâmero localizado em peroxissomos que utiliza o ferro como cofator (Powers & Jackson, 2008; Kozakowska et al., 2015).

Os dados indicam a redução significativa da atividade enzimática da SOD e CAT em todos os grupos tratados (UTP, UTP+NAR e NAR) quando comparados ao grupo LM. A atividade do gel complexado de naringina/ β ciclodextrina sobre o sistema antioxidante pode estar relacionada à capacidade dos flavonoides de atuar na eliminação ou quelação das ERO's logo após a sua formação, uma vez que foi relatado que a atuação da naringina sobre os radicais livres é imediata (Gangwar et al., 2014; Jagetia & Lalrinengi, 2017).

O tratamento com o ultrassom terapêutico conduzido no modo pulsado pode reduzir danos oxidativos e a atividade da superóxido dismutase e catalase através da proteção do tecido musculoesquelético lesionado (Shu et al., 2012). Nossos dados apresentam consonância com o estudo de Silveira et al (2016), onde a diminuição da atividade das enzimas SOD e CAT após tratamento com UTP solo ou por meio da fonoforese, foi associada a atenuação da formação de EROs e seus efeitos deletérios.

Através da análise da Figuras 2 e 3 foi evidenciada uma diferença significativa da atividade antioxidante nos grupos UTP+NAR e NAR quando em comparação com o grupo UTP, sugerindo que o tratamento com o gel complexado de naringina/ β ciclodextrina associado ou não ao ultrassom terapêutico seria eficaz na atenuação da peroxidação lipídica e inflamação. Embora o uso isolado do gel complexado de naringina/ β ciclodextrina reduza os danos causados pelo estresse oxidativo, uma tendência à superioridade do efeito foi observada mediante a combinação com o ultrassom terapêutico. A associação com o ultrassom terapêutico representa uma alternativa importante no tratamento de lesões musculares, visto que este recurso eletrofísico influencia mecanicamente na atividade das células de defesa envolvidas na fase inflamatória, de modo a antecipar as fases de regeneração e remodelação, acelerando assim o processo de cicatrização muscular (Silveira et al., 2010).

A diminuição significativa da atividade da enzima CAT nos grupos UTP+NAR e NAR quando comparados ao grupo CTR, pode ser justificada pela presença de biomarcadores de estresse oxidativo e radicais livres nos tecidos dos animais mesmo em condições de repouso (Kim et al 2011).

5. Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo indicam que a utilização do gel complexado de naringina/ β -ciclodextrina associado ao ultrassom terapêutico após lesão musculoesquelética em ratos é eficiente na atenuação da peroxidação lipídica. A associação destes dois recursos também apresentou efeitos consideráveis na potencialização do sistema de defesa antioxidante, através da estimulação da atividade enzimática da CAT e SOD.

Referências

- Aebi H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105,121–126.
- Alam M A, Subhan N, Rahman M M, Uddin S J, Reza H M, & Sarker S D. (2014). Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Adv Nutr.*, 5(4), 404-17.
- Bannister J V, & Calabrese L. (1987). Assays for superoxide dismutase. *Methods Biochem Anal*, 32,279–312.
- Baoge L, VanDen Steen E, Rimbaut S, Philips N, Witvrouw E, Almqvist K F, Vanderstraeten G, & VandenBossche L C. (2012). Treatment of skeletal muscle injury, a Review. *ISRN Orthop.*, 2012, 689-012.
- Bharti S, Rani N, Krishnamurthy B, & Arya D S. (2014). Preclinical evidence for the pharmacological actions of naringin: a review. *Planta Med*, 80(06): 437-451.
- Bianchetti P, Tassinary J F, & Stulp S. (2014). Effects of therapeutic ultrasound on the retention and maintenance of the antioxidant activity of the glycolic extract of Arnica montana: an in vitro study. *Ciência e Natura*, 36, 718-723.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, & Milzani A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry*, 52:4 01-623.
- Draper HH, Hadley M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 186:421–431.
- Gangwar M, Gautan M K, Sharma A K, Tripathi Y B, Goel R K, & Nat G. (2014). Antioxidant Capacity and Radical Scavenging Effect of Polyphenol Rich Mallotus philippenensis Fruit Extract on Human Erythrocytes: An In Vitro Study. *Scientific World Journal*, 2014, 279-451.
- Gottlieb O R, Borin M R M B, Pagotto C L A C, & Zoicher D H T. (1998). Biodiversidade: o enfoque interdisciplinar brasileiro. *Ciênc. saúde coletiva [online]*, 3, 97-102.
- Grotto D, Santa Maria L, Valentini J, Paniz C, Schmitt G, & Garica S C. (2009). Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quim. Nova*, 32:169-174.
- Gurney B, Wascher D, Schenck R, Tennison, & Jaramillo B. (2011). Absorption of Hydrocortisone Acetate in Human Connective Tissue Using Phonophoresis. *Sports Health*, 3(4), 346-51.
- Jagetia G C, & Lalrinengi C. (2017). Naringin, a grape fruit bioflavonoid protects mice bone marrow cells against the doxorubicin-induced oxidative stress. *SOJ Biochem*, 3(1), 1-9.
- Jorge L L, Feres C C, & Teles V E. (2010). Topical preparations for pain relief: efficacy and patient adherence. *J Pain Res.*, 20(4), 11-24.
- Kanth P L, & Elango V. (2015). Efficacy of phonophoresis therapy in plasma antioxidant status on Freund's adjuvant induced arthritic rats. *The Pharma Innovation Journal.*, 4(10), 19-23.
- Kim W J, Kang J Y, Kwon D K, Song Y J, & Lee K H. (2011). Effects of α -Lipoic Acid Supplementation on Malondialdehyde Contents and Superoxide Dismutase in Rat Skeletal Muscles. *Food Science and Biotechnology*, 20, 1133.
- Kozakowska M, Pietraszek-Gremplewicz K, Jozkowicz A, & Dulak J. (2015). The role of oxidative stress in skeletal muscle injury and regeneration, focus on antioxidant enzymes. *J Muscle Res Cell Motil*, 36, 377–393.
- Lee K R, B.A, Cronenwett J L, Schlafer M, Corpron C, & Zelenock G B. (1987). Effect of Superoxide Dismutase plus Catalase on Ca^{*+} Transport in Ischemic and Reperfused Skeletal Muscle. *Journal of Surgical Research*, 42, 24-32.
- Li G, Feng X, & Wang S. (2005). Effects of Cu/Zn Superoxide Dismutase on Strain Injury Induced Oxidative Damage to Skeletal Muscle in Rats. *Physiol. Res.*, 54, 193-199.
- Luft N. (2003). Efeitos dos flavonoides naringina e rutina no metabolismo lipídico em cobaias e aves. [tese de pós graduação]. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/8822/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Montalti CS, Souza N V C K L, Rodrigues N C, Fernandes K R, Toma R L, & Renno A C M. (2013). Effects of low-intensity pulsed ultrasound on injured skeletal muscle. *Braz J Phys Ther.*, 17(4), 343-350.
- Powers S K, & Jackson M J. (2008). Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev.*, 88(4), 1243–1276.

- Puntel GO. (2010). Efeitos da crioterapia em modelos de contusão e isquemia/reperfusão sanguínea em músculo de ratos. [tese de doutorado]. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/4423/PUNTEL%2C%20GUSTAVO%20ORIONE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rajadurai M, & Prince PSM. (2007). Preventive effect of naringin on isoproterenol-induced cardiotoxicity in wistar rats: na in vivo and in vitro study. *Toxicology*, 232, 216-225.
- Rahusen F T G, Weinhold P S, & Almekinders L C. (2004). Non steroidal antiinflammatory drugs and acetaminophen in the treatment of an acute muscle injury. *Am J Sports Med.*, 32(8), 1856-9.
- Rizzi C F, Mauriz J L, Corrêa D S F, Moreira A J, Zettler C G, Filippin L I, Marroni N P, & Gallego J G. (2006). Effects of low-level laser therapy (LLLT) on the nuclear factor (NF)-κB signaling pathway in traumatized muscle. *Lasers Surg Med*, 38, 704–713.
- Saliba S, Mistry D J, Perrin D H, Gieck J, & Weltman A. (2007). Phonophoresis and the absorption of dexamethasone in the presence of an occlusive dressing. *J Athl Train*, 42, 349–354.
- Santana D V S, Trindade G G G, Menezes P P, Quintans-Júnior L J, & Araújo A A S. (2018). Investigação espectral e caracterização físico-química de complexos de inclusão de naringina em HP-β-CD.
- Shu B, Yang Z, Li X, & Zhang L. (2012). Effect of Different Intensity Pulsed Ultrasound on the Restoration of Rat Skeletal Muscle Contusion. *Cell Biochem Biophys*, 62, 329–336.
- Silveira P C L, Victor E G, Schefer D, Silva L A, Streck E L, Paula M M, & Pinho R A. (2010). Effects of therapeutic pulsed ultrasound and dimethylsulfoxide (DMSO) phonophoresis on parameters of oxidative stress in traumatized muscle. *Ultrasound in Med. & Biol.*, 36, 44-50.
- Silveira P C L, Victor E G, Notoya F S, Scheffer D L, Silva L, Cantu R B, Martinez V H C, Pinho R A, & Paula M M S. (2016). Effects of phonophoresis with gold nanoparticles on oxidative stress parameters in a traumatic muscle injury model. *Drug Deliv.*, 23(3), 926-32.
- Sousa Filho L F, Menezes P P, Santana D V S, Lima B S, Saravanan S, Almeida G K M, Menezes Filho J E, Santos M M B, Araújo A A S, & Oliveira E D. (2018). Effect of pulsed therapeutic ultrasound and diosmin on skeletal muscle oxidative parameters. *Ultrasound in Med. & Biol.*, 44(2), 359–367.
- Spiteller G. (2006). Peroxyl radicals, inductors of neurodegenerative and other Inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radic Biol Med.*, 41(3), 362-87.
- Terahara T, Mitragotri S, Kost J, & Langer A. (2002). Dependence of low-frequency sonophoresis on ultrasound parameters; distance of the horn and intensity. *International Journal of Pharmaceutics*, 235, 35–42.
- Treml J, & Smejkal K. (2016). Flavonoids as potent scavengers of hydroxyl radicals. *Comprehensive Review sin Food Science and Food Safety*, 15.
- Wang L, Shan Y, Chen L, Lin B, Xiong X, Lin L, Jin L. (2016). Colchicine protects rat skeletal muscle from ischemia/reperfusion injury by suppressing oxidative stress and inflammation. *Basic Med Sci*, 19670-675.
- Zama M M S, Ansari M M, Dimri U, Hoque M, Maiti S K, & Kinjavdekar P. (2013). Effect of therapeutic ultrasound and diathermy on oxidant–antioxidant balance in dogs suffering from hind quarter weakness. *Journal of Applied Animal Research*, 41(1), 82-86.
- Oliveira, J. F., Costa, A. G. J., Costa, A. C. S. M., Santana, L. S., Sousa, D. S., & Aquino, M. J. das V. (2023). Scientific and technological prospection on the use of Cannabis sativa (Hemp) in neuropathic patients or with neuropsychiatric disorders. *Research, Society and Development*, 12(2), e5112236990. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i2.36990>
- Sousa, D. S., Rodrigues, G. C., Gaspar, L. M. A. C., Machado, T. de O. X., Valverde, F. G., Padilha, F. F., & Droppa- Almeida, D. (2021). Scientific and technological prospection study on Myracrodruon urundeuva (aroeira do sertão) and bacterial resistance. *Research, Society and Development*, 10(11), e138101119505. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19505>