

O EFEITO ANTINOCICEPTIVO DA CRIOTERAPIA EM MODELO ANIMAL

Alaíde Aragão¹, Rodrigo Alexis Osorio², Ana Paula Abdon³

¹Universidade de Fortaleza, Avenida. Washington Soares, 1321, alaidearagao@hotmail.com

²Universidade Vale do Paraiba, Avenida Shishima Hifumi, 2.911, ralo@univap.br

³Universidade de Fortaleza, Avenida Washington Soares, 1321, paulaabdon@hotmail.com

Resumo - Crioterapia resulta em remoção do calor corporal, diminuindo assim, a temperatura dos tecidos. Este estudo teve como objetivo analisar o efeito antinociceptivo da crioterapia. Foi realizado um estudo experimental em camundongos *swiss* albinos, entre 20 a 30g, ambos os sexos, separados em experimental e controle. O grupo experimental foi tratado com gelo por 20 minutos e submetidos ao teste da placa quente (50°C) sendo mensurado o tempo de resposta ao estímulo térmico imediatamente após e em 30, 60, 90 e 120 minutos da crioterapia. No teste da formalina, os animais foram submetidos à injeção intraplantar de formalina 1% (20µl) após o tratamento com gelo por 20 e 40 minutos, sendo mensurados os tempos de resposta. No teste da placa quente, os animais tratados com crioterapia tiveram tempo de resposta maior em todos os intervalos em relação ao grupo controle ($p < 0,05$, t de Student). No teste da formalina, os animais tratados por 20 e 40 minutos tiveram redução significativa da resposta na primeira fase ($p < 0,05$, ANOVA), enquanto na segunda fase, apenas o grupo tratado por 40 minutos, apresentou redução significativa ($p < 0,05$, ANOVA) quando comparados ao controle.

Palavras-chave: crioterapia, nocicepção, fisioterapia.

Área do Conhecimento: Fisioterapia.

Introdução

A crioterapia é a aplicação terapêutica de qualquer substância ao corpo que resulta em remoção do calor corporal, diminuindo assim, a temperatura dos tecidos (KNIGHT, 2000). Por ser um recurso de baixo custo, de fácil acesso e por apresentar efeitos quase sempre benéficos, é utilizado também pela medicina popular (GUIRRO, 1999).

A dor pode ser aliviada após terapia com frio, embora não seja bem elucidado seu mecanismo de ação (RODRIGUES, 1993). Algumas teorias tentam explicar esse efeito de analgesia proporcionada pelo gelo baseados nos efeitos fisiológicos obtidos com as aplicações de frio como vasoconstrição local; metabolismo local diminuído (baixando demanda de O₂); redução do metabolismo articular e da atividade enzimática; diminuição da velocidade de condução nervosa; aumento do limiar de dor; liberação de endorfinas; diminuição da atividade dos fusos musculares; aumento da viscosidade muscular; diminuição de força muscular (DINIZ; ROSA, 2002).

Como na prática clínica, a crioterapia é um recurso bastante empregado no tratamento e alívio da dor e da inflamação, apresentando uma melhora significativa do quadro clínico, foi que surgiu o interesse de pesquisar quais seus efeitos mediante a utilização de modelos de atividade analgésica.

Assim sendo, o objetivo proposto nessa pesquisa foi verificar os efeitos dessa modalidade

e compreender melhor seus efeitos sobre as variadas formas de dor, e desta forma, propiciar maiores benefícios para o paciente.

Materiais e Métodos

Foi realizado um estudo do tipo experimental para verificar o efeito antinociceptivo da crioterapia em modelo animal. Os experimentos foram realizados nos laboratórios da Universidade de Fortaleza (UNIFOR).

Para a realização dos experimentos foram utilizados camundongos *Swiss* albinos, pesando entre 20 a 30 g, de ambos sexos, oriundos da sala de manejo de animais do Centro de Ciências da Saúde da UNIFOR. Os animais permaneceram alojados em gaiolas, contendo até cinco animais, mantidos com água e ração *ad libitum*, aclimatados e com ciclos naturais dia/noite. O estudo teve aprovação da comissão de ética em pesquisa animal (CEPA), localizado na Universidade Federal do Ceará, protocolo número 53/04.

Para a aplicação da crioterapia, durante os testes de indução da dor, os animais foram divididos em grupo A, que foi submetido a crioterapia por 20 minutos antes da indução da dor, grupo B que foi submetido a crioterapia por 40 minutos antes da indução da dor. E, grupo C (controle), que não foi tratado com a crioterapia, mas passou por todo o procedimento dos outros grupos.

A aplicação da crioterapia ocorreu através do contato direto com o gelo nas patas traseiras dos animais, os quais foram colocados em um recipiente com o fundo preenchido por gelo.

Para avaliar o efeito antinociceptivo da crioterapia, foi utilizado o modelo de nocicepção induzido por formalina, que possibilita distinguir dois tipos de dor, uma que reflete a estimulação direta dos nociceptores (via direta), e outra que está associada com a liberação de mediadores inflamatórios (via indireta) (TJOLSEN et al., 1992).

Os animais dos grupos experimentais (A e B) e controle (C) foram submetidos a injeção intraplantar de 20 μ l de formalina (1% v/v) na pata direita. O registro do tempo transcorrido (em segundos) que o animal passou lambendo a pata durante a fase inicial, que analisou aspectos neurogênicos da dor (0-5 minutos), e tardia, onde os aspectos de dor inflamatória foram analisados (15-30 minutos) (TJOLSEN, 1992). O teste foi realizado à temperatura de 26-28°C e na ausência de fatores que pudessem afetar o fluxo sanguíneo periférico, devido a grande sensibilidade da resposta na segunda fase (tardia) (ROSLAND, 1991).

O teste da placa quente tem como objetivo a determinação da atividade analgésica periférica e central (TJOLSEN et al., 1991). O teste consistiu em colocar camundongos sobre uma placa quente (Ugo Basile, modelo DS 37) a 50 + 1°C, e registrar o tempo que os animais levaram para manifestar uma resposta (lamber das patas e/ou saltar sobre a placa) ao estímulo térmico (em segundos), em intervalos de 30 minutos durante 2 horas. Foi estabelecido um período de corte de 45 segundos para prevenir possíveis danos teciduais.

Os animais foram pré-selecionados 24 horas antes do teste, e utilizados somente aqueles que apresentaram uma resposta ao estímulo em intervalo de tempo de até 20 segundos.

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média, e representados na forma de gráficos. Foram considerados estatisticamente significativos aqueles que apresentaram "p" menor ou igual a 5% ($p \leq 0,05$), utilizando para essa análise o programa Sigma Stat.

Resultados

No teste da placa quente, os animais tratados com a crioterapia por 20 min apresentaram redução significativa do tempo de resposta ao estímulo térmico (em segundos) em todos os intervalos avaliados em comparação ao controle ($p \leq 0,05$, teste t de Student, $n=7$).

Os tempos de resposta do grupo experimental foram de 29,1 \pm 2,41 para a avaliação imediatamente após; 31,7 \pm 3,13 para 30 minutos; 33,5 \pm 3,17 para 60 minutos; 29,4 \pm 3,53 para 90 minutos e 28,2 \pm 2,06 para 120 minutos após a

aplicação da crioterapia. No grupo controle, os tempos de resposta ao estímulo foram de 12,2 \pm 1,11 para imediatamente após; 14,0 \pm 0,8 para 30 minutos; 13,9 \pm 1,11 para 60 minutos; 13,8 \pm 1,87 para 90 minutos e 15,3 \pm 0,79 para 20 após a aplicação do gelo (figura 1).

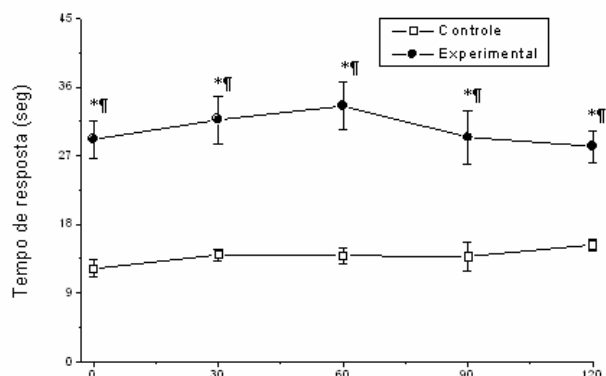


Figura 1 – Efeito da crioterapia por 20 min no teste da placa quente em camundongos.

No teste da formalina, os animais tratados com a crioterapia por 20 minutos ($n=7$) apresentaram redução significativa do tempo (em segundos) de resposta ao estímulo doloroso na primeira fase do experimento (47,8 \pm 9,02, $p \leq 0,05$, ANOVA, Bonferroni) em comparação ao controle (83,5 \pm 11,44, $n=7$). Na segunda fase, o grupo tratado por 20 minutos não apresentou diferença significativa no tempo de resposta (83,4 \pm 23,32) quando comparado com o grupo controle (106,1 \pm 25,96, $p \geq 0,05$, ANOVA, Dunn) (figura 2).

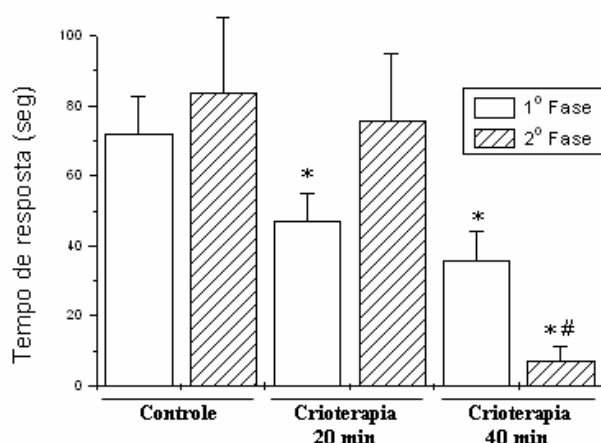


Figura 2 – Efeito antinociceptivo da crioterapia no teste da formalina em camundongos.

Os animais que foram submetidos à aplicação da crioterapia por 40 minutos ($n=6$) apresentaram redução significativa do tempo de resposta ao estímulo doloroso na primeira e segunda fase do experimento (36 \pm 8,03 e 7,3 \pm 3,70, respectivamente) quando comparado ao grupo

controle e na segunda fase em comparação ao grupo tratado com a crioterapia por 20 minutos ($p \leq 0,05$, ANOVA) (figura 2).

Discussão

O primeiro passo na seqüência dos eventos que originam o fenômeno sensitivo doloroso é a transformação dos estímulos ambientais em potenciais de ação que, das fibras nervosas do sistema nervoso periférico, são transferidos para o sistema nervoso central TEIXEIRA, (2004).

Segundo Fiels (1994) sensação dolorosa é mediada pela estimulação de receptores específicos, denominados de nociceptores que é composto por fibras, especialmente amielínica do tipo C e mielínica do tipo A-delta. Os nociceptores relacionados às fibras do tipo C ou polimodais respondem à estimulação mecânica, térmica e química, e os nociceptores relacionados às fibras A-delta reagem à estimulação mecânica e térmica.

Segundo Diniz (2002) os mecanismos de alívio ou redução da dor pela crioterapia ainda não foram completamente elucidados. Porém, algumas teorias propõem-se a explicar o efeito analgésico do frio, obtido através da diminuição da transmissão nervosa da dor nas respectivas fibras; diminuição da excitabilidade das terminações nervosas livres; redução do metabolismo no tecido; elevação do limiar da dor, liberação de endorfinas e inibição dos neurônios espinhais.

A crioterapia deve ser aplicada por pelo menos 20 minutos e de preferência 30 minutos, pois as aplicações de duração curta não provocariam diminuições efetivas da temperatura dos tecidos mais profundos (ROSA et al., 2002). Em virtude disso, foi estabelecido inicialmente que nessa pesquisa os animais seriam tratados com a crioterapia por um período mínimo de 20 minutos.

Nessa pesquisa, os animais tratados com crioterapia por 20 minutos apresentaram aumento significativo do tempo de resposta ao estímulo térmico em todos os intervalos mensurados no teste quando comparados ao controle.

Esse resultado está de acordo com Guirro, Adib e Maximo (1999), no qual relataram que durante a aplicação do gelo a velocidade de transmissão de impulso nos nervos sensitivos diminui gradualmente conforme a temperatura cai, até que a condução fique bloqueada por completo.

Além disso, as respostas antinociceptivas relacionadas à aplicação da crioterapia iniciadas no sistema nervoso periférico são decorrentes do resfriamento, o qual estimula os receptores térmicos, que utilizam a via espinotalâmica lateral, uma das quais transmite os estímulos dolorosos (PERTILLE, 2001).

Nesse estudo, foi detectada uma longa duração da analgesia decorrente da crioterapia no teste da placa quente em todos os intervalos mensurados

(duração de 2 horas). Resultados semelhantes foram descritos por Brown et al. (1995), no qual concluíram que a condução nervosa era bloqueada em temperaturas inferiores a 10°C. O bloqueio parecia depender do tempo, isto é, quanto maior a duração da exposição a uma determinada temperatura baixa, maior a perda da função. Após a aplicação do frio, a temperatura do tecido profundo continua a baixar e a duração da desse efeito depende da profundidade do tecido.

O teste da formalina é composto por duas fases distintas: a primeira que ocorre nos primeiros cinco minutos, refletindo a estimulação direta dos nociceptores. Na segunda fase, com duração de 15 a 30 minutos após a estimulação, ocorre a liberação de agentes inflamatórios induzindo dor (TJOLSEN, 1992).

Os animais tratados com gelo durante 20 minutos apresentaram uma diminuição do tempo de resposta ao estímulo nociceptivo, durante a primeira fase do experimento, que reflete a estimulação direta dos nociceptores.

O resfriamento faz com que ocorra um aumento na duração do potencial de ação dos nervos sensoriais, e conseqüentemente um aumento do período refratário. Isso acarreta uma diminuição na quantidade de fibras que irão despolarizar no mesmo período de tempo. Conclui-se então que ocorre uma diminuição na frequência de transmissão do impulso e uma diminuição da sensibilidade dolorosa. Além disso, a aplicação do gelo faz com que aumente o limiar de excitação das células nervosas em função do tempo de aplicação, ou seja, quanto maior o tempo, menor a transmissão dos impulsos relacionados à temperatura, o que pode gerar analgesia ou diminuição da dor (KNIGHT, 2000).

Então, possivelmente a atividade antinociceptiva decorrente da aplicação do gelo detectada no teste da placa quente e na primeira fase do teste da formalina possa estar relacionada à diminuição na velocidade de condução do estímulo, aumento do período refratário do potencial de ação ou aumento do limiar de excitabilidade da fibra nervosa.

Na segunda fase do teste da formalina, a aplicação da crioterapia por 20 minutos não apresentou redução significativa do tempo de resposta. Esta fase está associada com a liberação de mediadores inflamatórios.

Segundo Schmidt (1979), as aplicações de frio podem inibir de forma significativa alguns tipos de inflamação. A inflamação induzida por formol (inflamação necrosante aguda que se acredita agir de modo semelhante à induzida por trauma) ficou significativamente inibida por aplicações de frio. Esses efeitos antiinflamatórios, contudo, ocorreram apenas após a aplicação prolongada.

Neto e Signori (2000) indicam uma variação de 30 a 60 minutos no máximo, e acima de 60

minutos podem ocorrer ulcerações na pele. E ainda, Rodrigues (1995) sugere um tempo de aplicação de 30 a 45 minutos como sendo um tempo fisiológico ótimo para a duração da aplicação de um pacote frio independente do tipo de tecido lesado, suas características próprias e sua vascularização.

Em virtude desses achados da literatura, tornou-se interessante investigar o efeito da aplicação da crioterapia por 40 minutos no teste da formalina. Os resultados mostraram que esse tempo de aplicação propiciou redução significativa da primeira e segunda fase em comparação ao controle e na segunda fase em comparação ao grupo tratado com 20 minutos.

A aplicação do gelo além de proporcionar a diminuição do quadro algico, parece ter ação antiinflamatória e relaxante muscular (Fu et al, 1997). Segundo Rosa et al. (2002) a ação antiinflamatória ocorre devido à diminuição do metabolismo na área lesada, decorrente de uma vasoconstrição que se opõe aos eventos do processo inflamatório. Entretanto pesquisas realizadas por Brooks e Ducams (1981) concluíram que o frio não altera a resposta inflamatória, apenas a retarda.

Os resultados dessa pesquisa demonstraram que a crioterapia possui atividade antinociceptiva nos testes da placa quente e da formalina, sendo, porém necessários estudos mais aprofundados das vias e dos efeitos da crioterapia na condução nervosa, tanto da dor, quanto da temperatura .

Conclusão

A crioterapia com duração de 20 e 40 minutos propiciou atividade antinociceptiva por ação direta nos nociceptores e/ou na via de condução dos estímulos dolorosos.

Um maior tempo de aplicação (40 minutos) resultou em ação antinociceptiva na segunda fase do teste da formalina, mostrando que possivelmente o resfriamento possa interferir na dor decorrente da resposta inflamatória, sendo esse resultado atribuído o efeito vasoconstrictor da crioterapia.

Referências

BROOKS B, DUNCAN GW. The influence of temperature on wounds. *Ann Surgery* 1981;114:1069-1075.

BROWN DD, ADAM RD, BRENNER C, The pathology of injury to nerve induced by cold. *Journal Neuropathology Experimental Neurological* 1995;4:305-323.

DINIZ LR. Crioterapia no tratamento das lesões do esporte. *Reabilitar* 2002;5(12):7-17.

Fields HL. Neurophysiology of pain and pain modulation. *American Journal Medical* 1984;10:54-

FU FH, CEN HW. The effects of cryotherapy on muscle damage in rats subjected to endurance training. *Scand. Journal Medical Science Sports* 1997;7(6):358-62.

GUIRRO R, ADIB C, MAXIMO C. Os efeitos fisiológicos da crioterapia: uma revisão. *Revista de Fisioterapia da Universidade de São Paulo* 1999 Jul-Dez;6(2):64-170.

.KNIGHT KL. Crioterapia no tratamento das lesões esportivas. São Paulo: Manole; 2000.

NETO AC, SIGNORI LU. Estudo do risco da necrose cutânea induzida pela crioterapia na forma da aplicação de gelo direto a pele de cobaias. *Praxisterapia* 2000 Dez;2(3):16-25.

RODRIGUES A. Crioterapia. São Paulo: Cefespar; 1995.

RODRIGUES RL, PEDRINELLI A. Uso do gelo em lesões traumáticas do esporte. *Revista Paulista de Educação Física* 1993 Jul-Dez;7(2):66-76.

PÉRTILE AA. Estudo do comportamento da temperatura e da ocorrência de lesão em diferentes tecidos durante a aplicação de crioterapia por 120 min. *Praxisterapia* 2001 Dez;4(5):47-61.

ROSA GMMV, NUNES CB, OLIVEIRA JS. Efeitos fisiológicos da crioterapia na inflamação aguda causada por traumatismo fechado. *Reabilitar* 2002;4(14):16-22.

ROSLAND JH. The formalin test in mice: the influence of ambient temperature. *Pain* 1991;45:211-216.

SCHIMDT KL, Ott VR, Rocher G, Schaller H. Heat, cold and inflammation: a review. *Z. Rheumatological* 1979;38:391-404.

TEIXEIRA MJ. Mecanismo de ocorrência de dor. *Revista de Medicina* 2004 Jul-Dez;83(3/4):69-113.

TJØLSEN A, Berger OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: evaluation of the method. *Pain* 1992;(51):517.

TJØLSEN A, ROSLAND JH, BERGER OG, HOLE K. The increasing temperature hot-plate test: an improved test of nociception in mice and rats. *Journal Pharmacology Methods* 1991;25:241-250.