

GIOVANA LEITÃO SENE

**INFLUÊNCIA DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE NAS
PROPRIEDADES MECÂNICAS DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO
SUBMETIDO À LESÃO MUSCULAR POR MECANISMO DE
IMPACTO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação Interunidades em Bioengenharia – Escola de Engenharia de São Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. Celso Hermínio Ferraz Picado

SÃO CARLOS

2005

Dedico este trabalho a minha mãe Zilma e a minha irmã Geresa pelo amor, apoio e incentivo incondicionais em todos os projetos da minha vida. E ao meu pai José que certamente ilumina meu caminho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar meu caminho e guiar meus passos.

Ao vovô Francisco, por ser meu exemplo de vida e de amor, hoje uma doce e eterna lembrança.

À vovó Maria Sousa, por ser esteio de nossa família, exemplo de vida e de luta. A todos os familiares que alicerçam minha vida, tornando-a agradável e prazerosa.

Ao Prof. Dr. José Batista Volpon, pela acolhida no laboratório e pelo empréstimo da Máquina Universal de Ensaios, sem a qual não seria possível a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. André Capaldo do Amaral, pela confiança, empréstimo do aparelho laser, sugestões e boa vontade.

Aos amigos Juliana Goulart Prata de Oliveira, Liana Barbaresco Gomide e João Paulo Matheus, pelo convívio prazeroso, companheirismo, dedicação, amizade impagável e contribuição fundamental em todas as etapas da pesquisa.

Ao amigo Emilson Sodré Mendonça Júnior, irmão do coração e grande companheiro de todas as horas.

Ao amigo Fabrício Borges Oliveira, pela amizade, apoio, incentivo e pelo empréstimo do equipamento de produção da lesão experimental.

Ao amigo Gustavo Silva Abrahão, pela estimável amizade, companheirismo e incentivo na execução deste trabalho.

Ao amigo Leonardo César Carvalho, pela boa vontade e imensa contribuição na formatação final deste trabalho.

Aos amigos Andreza Araújo Gonçalves, Fernando Jorge, Suraya Gomes Novais, Giuliano Barbieri, Vitor Castania, Francisco Cláudio Dantas Mota e, em especial, Marcos Massao Shimano, pela ajuda e presteza.

Aos amigos Luiz Carlos de Paula Mello e Sabrina Corral, pela confiança, amizade e apoio nos momentos oportunos.

Às secretárias do Programa Interunidades em Bioengenharia, Maria Teresinha de Moraes e Janete Ferreira, pela presteza e boa vontade.

Aos amigos, Luiz Henrique Alves Pereira e Francisco Carlos Mazzocatto, pela amizade, convívio prazeroso e ajuda em todas as etapas desta pesquisa.

A todos que me incentivaram e contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. Celso Hermínio Ferraz Picado, pela impagável confiança, compreensão, seriedade e generoso apoio na execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Shimano, grande exemplo de luta, pelos valorosos ensinamentos, amizade, compreensão, paciência e incentivo no meu crescimento pessoal e profissional.

RESUMO

Sene, G. L. **Influência do Laser de Baixa Intensidade nas Propriedades Mecânicas do Músculo Gastrocnêmio Submetido à Lesão Muscular por Mecanismo de Impacto**. 2005. 91 p. Ribeirão Preto. Dissertação (Mestrado)- Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da irradiação a laser de baixa intensidade, associada ou não a imobilização, nas propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio submetido a lesão experimental por mecanismo de impacto. Foram utilizadas 70 ratas da variedade Wistar, divididas em 7 grupos experimentais: grupo controle; grupo lesão; grupo lesão- irradiação laser; grupo lesão- imobilização 24 horas- irradiação laser; grupo lesão- imobilização 72 horas- irradiação laser; grupo lesão- imobilização 24 horas; grupo lesão- imobilização 72 horas. A lesão foi provocada no músculo gastrocnêmio por mecanismo de impacto (trauma direto não invasivo). Os músculos foram submetidos a ensaios mecânicos na máquina universal de ensaio EMIC[®] e, por meio da interface com microcomputador, geraram gráficos carga x alongamento a partir dos quais foram calculadas as respectivas propriedades mecânicas: carga e alongamento no limite de proporcionalidade e no limite máximo e rigidez. A lesão provocou diminuição da carga no limite de proporcionalidade e no limite máximo em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). Os grupos submetidos a imobilização por 24 e 48 horas respectivamente e irradiados não apresentaram melhora das propriedades avaliadas quando comparados ao grupo lesão ($p < 0,05$). A análise mecânica mostrou que a lesão muscular foi efetiva e que a associação de imobilização gessada e irradiação laser não foi efetiva na melhora das propriedades mecânicas avaliadas.

Palavras-chave: lesão muscular, laser, imobilização, propriedades mecânicas.

ABSTRACT

Sene, G. L. **Influence of the low intensity laser on the mechanical properties of the gastrocnemius muscle after impact injury.** 2005. 91 p. Ribeirão Preto. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

The aim of this study was to evaluate the influence of low power laser irradiation, associated or not with immobilization, on the mechanical properties of a gastrocnemius muscle submitted to experimental injury caused by impact mechanism. Seventy Wistar rats were used, and were divided into 7 experimental groups: 1-control group; 2- injury group; 3- injury – laser irradiation group; 4- injury – 24-hour immobilization – laser irradiation group; 5- injury – 72-hour immobilization – laser irradiation group; 6- injury – 24-hour immobilization group; 7- injury – 72-hour immobilization group. Injury was caused in the gastrocnemius muscle through impact mechanism (non-invasive direct trauma). Muscles were submitted to mechanical tests in the EMIC machine, and using computer interface they generated load x deformation graphs from which the mechanical properties of load and stretch were calculated: at the limit of proportionality, at the maximum limit and stiffness. The injury reduced load at the limit of proportionality and at the maximum limit in relation to control group ($p < 0,05$). Groups that were submitted to 24- and 48-hour immobilization respectively and were irradiated showed no improvement in the evaluated properties when compared to injury group ($p < 0,05$). A mechanical analysis showed that the muscular injury was effective, and that the association of plaster cast immobilization with irradiation was not efficient to improve the evaluated mechanical properties.

Key words: Muscular injury, laser, immobilization, mechanical properties.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. O espectro eletromagnético.	27
Figura 2. Acessórios utilizados no aparelho de produção da lesão experimental (A) Visão oblíqua da superfície metálica de apoio do músculo gastrocnêmio do animal (B) Peso de 200g com fio guia.	41
Figura 3. (A) Aparelho desenvolvido para a produção da lesão experimental . Vista frontal com peso na posição inicial. 3 (B) Vista frontal com peso, na posição final, sob a superfície de contato.....	41
Figura 4. Posicionamento da pata do animal antes da queda do peso para produção da lesão experimental.	43
Figura 5. (A)Vista frontal e (B) vista lateral do peso sobre o músculo gastrocnêmio; detalhes do posicionamento para produção da lesão.	43
Figura 6. Equipamento Laser: Laserpulse(IBRAMED [®]) com laser probe de 670nm utilizado no tratamento do músculo após lesão.	45
Figura 7. Laser probe com capacidade de emitir um comprimento de onda de 670nm.	45
Figura 8. Imobilização da pata direita.....	47
Figura 9. Detalhe da janela realizada no gesso para encaixe do laser probe (A) e, na B, laser probe encaixado.....	47
Figura 10. Músculo gastrocnêmio dissecado.	48
Figura 11. Partes superior (A), média (B) e inferior (C) do acessório de fixação do músculo à máquina de ensaio.....	49
Figura 12. Posicionamento do músculo na máquina fixado pelos acessórios.....	49
Figura 13. Máquina universal de ensaio EMIC [®] interligada ao microcomputador. ...	50
Figura 14. Gráfico carga x alongamento	51
Figura 15. Gráfico representando a carga no limite de proporcionalidade dos grupos.	56
Figura 16. Gráfico representando o alongamento no limite de proporcionalidade dos grupos.	57
Figura 17. Gráfico representando a carga no limite máximo dos grupos.	58

Figura 18. Gráfico representando o alongamento no limite máximo dos grupos.....	60
Figura 19. Gráfico representando a propriedade de rigidez dos grupos.	61
Figura 20.. Curvas carga versus alongamento do Grupo Controle (C)	82
Figura 21.Curvas carga versus alongamento do Grupo Controle (C)	82
Figura 22.Curvas carga versus alongamento do Grupo Controle (C)	83
Figura 23.Curvas carga versus alongamento do Grupo Controle (C)	83
Figura 24.Curvas carga versus alongamento do Grupo Controle (C)	84
Figura 25. Curvas carga versus alongamento do Grupo Controle (C)	84
Figura 26.Curvas carga versus alongamento do Grupo Controle (C)	85

LISTA DE FIGURAS

Tabela 1 – Propriedades mecânicas do GRUPO 1 – Controle (C).....	86
Tabela 2 –Propriedades mecânicas do GRUPO 2 – Lesão (L).....	87
Tabela 3 –Propriedades mecânicas do GRUPO 3 –Lesão Laser (LL).....	87
Tabela 4–Propriedades mecânicas do GRUPO 4 –Lesão Imobilização 24h e Laser (LI24L).....	88
Tabela 5 –Propriedades mecânicas do GRUPO 5 – Lesão Imobilização 72h e Laser (LI72L).....	88
Tabela 6 –Propriedades mecânicas do GRUPO 6 – Lesão Imobilização 24h (LI24).	89
Tabela 7 –Propriedades mecânicas do GRUPO 7 – Lesão Imobilização 72h (LI72).	89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

USP- Universidade de São Paulo

FMRP- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

J- Joule

J/cm²- Joule por centímetro ao quadrado

m- metro

cm- centímetro

cm²- centímetro ao quadrado

mm- milímetros

N- Newtons

Kgf- Kilograma força

g- grama

mg- miligramas

Kg- Kilograma

Ca²⁺- Cálcio

nm- nanômetro

mW- miliwatts

w/ cm²- watts por centímetro ao quadrado

°C- graus Celsius

V- volts

mm/min- milímetros por minuto

SÚMARIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Sistema Muscular.....	15
1.2 Mecanismos de Lesão e Regeneração Muscular.....	18
1.3 Imobilização	22
1.4 Laser	25
1.3.1 Interações da luz atérmica do Laser com os tecidos.....	30
1.3.2 Laser de Baixa Intensidade no Processo de Regeneração Muscular	32
2 OBJETIVO.....	35
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1 Animais.....	36
3.2 Grupos experimentais	36
3.3 Caracterização dos grupos.....	37
3.3.1 Grupo Controle (C).....	37
3.3.2 Grupo Lesão (L)	37
3.3.3 Grupo Lesão Laser (LL)	38
3.3.4 Grupo Lesão Imobilização 24h Laser (LI24L).....	38
3.3.5 Grupo Lesão Imobilização 72h Laser (LI72L).....	39
3.3.6 Grupo Lesão Imobilização 24h (LI24)	39
3.3.7 Grupo Lesão Imobilização 72h (LI72)	40
3.4 Protocolo para produção da lesão experimental	40
3.4.1 Equipamento utilizado para produção da lesão experimental	40
3.5 Procedimento para produção da lesão experimental	42
3.6 Irradiação a laser.....	44
3.7 Protocolo de estimulação por irradiação Laser	45

3.8 Técnica de Imobilização	46
3.9 Ensaio Mecânico	47
3.9.1 Propriedades Mecânicas	51
3.11 Análise Estatística	54
4 RESULTADOS	55
4.1 Análise das propriedades mecânicas	55
4.1.1 Carga no Limite Proporcionalidade (CLP)	55
4.1.2 Alongamento no Limite Proporcionalidade (ALP)	57
4.1.3 Carga no Limite Máximo (CLM).....	58
4.1.4 Alongamento no Limite Máximo (ALM).....	59
4.1.5 Rigidez (R)	61
5 DISCUSSÃO	62
6 CONCLUSÕES	69
REFERÊNCIAS	70
APÊNDICES.....	81
Apêndice A – Curvas carga <i>versus</i> alongamento.....	82
Apêndice B – Propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio obtidas por meio do ensaio de tração.....	86
ANEXO	90
Anexo A- Certificado da comissão de ética no uso de animais da USP Campus de Ribeirão Preto	91

Texto elaborado segundo Diretrizes para elaboração de dissertações e teses na EESC-USP (2002).

1 INTRODUÇÃO

O sistema músculo esquelético dos mamíferos tem uma notável capacidade de adaptação à mudança de demanda. Essa adaptabilidade do tecido muscular é resultante da capacidade de funcionar com eficiência sobre uma ampla gama de condições, o que é de grande importância para sobrevivência das espécies animais (GOLDSPINK, 1998).

Os músculos são complexas máquinas biológicas com grande variedade de atividades mecânicas (CAIOZZO, 2002), dotados de propriedades que influenciam seu comportamento frente à imposição de cargas e podem, conseqüentemente, determinar a ocorrência ou agravamento de uma lesão (CORNWALL, 1984).

Carlson e Faulkner (1983) relataram que as lesões musculares, embora tivessem grande incidência, não receberam atenção devida dos especialistas; ao contrário das lesões ósseas, articulares e ligamentares. Contudo, nos últimos anos, com o crescimento das atividades físicas e desportivas, as lesões musculares tornaram-se objeto de estudo com a finalidade de buscar recuperação rápida, de qualidade e eficaz.

Entretanto, ainda permanecem algumas perguntas, especialmente em relação aos efeitos de vários tratamentos comumente utilizados para estimular o processo de reparo do músculo (AMARAL et al. 2001).

O tratamento com laser de baixa intensidade tem sido utilizado nos processos de regeneração de tecidos tais como pele (MESTER et al. 1971, MESTER et al. 1985), osso (YAAKOBI et al., 1996 e LUGER et al., 1998), sistema nervoso central e periférico (ROCHKIND e QUAKNINE, 1992 e VAN BREUGEL e BAR, 1993) e no sistema muscular (WEISS e ORON, 1992 e OLIVEIRA et al.1999).

Nosso objetivo foi avaliar o efeito do laser de baixa intensidade, aplicado no músculo lesado por impacto, pela análise de algumas propriedades mecânicas desse músculo, comparando o efeito da aplicação do laser com o efeito da imobilização gessada.

1.1 Sistema Muscular

O músculo é o elemento motor do corpo humano, acionando voluntária ou reflexamente os segmentos corpóreos. A função muscular adequada depende da atividade proprioceptiva intacta, inervação motora, carga mecânica e mobilidade articular (APPELL, 1990).

O arranjo macroscópico das fibras musculares é conhecido como arquitetura muscular, que permite entender a relação entre estrutura e função e correlaciona essas informações à prática clínica. Promove o entendimento da fisiologia básica da produção da força e do movimento, assim como explica a mecânica básica da lesão muscular durante o movimento normal (LIEBER e FRIDÉN 2001).

O tamanho, forma e estrutura macroscópica dos músculos variam de acordo com a sua função e carga de trabalho, o que não ocorre na estrutura básica

celular (célula muscular), a qual, em virtude da sua forma longa, delgada, parecida com um fio, denomina-se fibra muscular (SALTER, 1985).

Os músculos esqueléticos são formados por numerosas fibras, com diâmetro variando entre 10 e 80 μm . Essas fibras são formadas por subunidades sucessivamente menores.

A fibra muscular é um sincício derivado da fusão de múltiplos mioblastos (células miogênicas precursoras). Os principais constituintes musculares são: o sarcolema, as miofibrilas, o sarcoplasma e o retículo sarcoplasmático.

O sarcolema é a membrana celular da fibra muscular, chamada membrana plasmática, com revestimento externo e composta por uma fina camada de material polissacarídeo, contendo numerosas fibrilas delgadas de colágeno e glicoproteínas (HUARD et al. 2002).

Cada fibra muscular contém milhares de miofibrilas que apresentam dispostos lado a lado, filamentos de actina e miosina, ambos proteínas responsáveis pela contração muscular (GUYTON, 1973), contém vários núcleos derivados dos mioblastos localizados na periferia das miofibrilas. Além disso, as células não diferenciadas ou miogênicas quiescentes, as chamadas células satélites, estão localizadas entre a lâmina basal e a membrana plasmática (MAURO, 1961 e HUARD et al. 2002). Essas células apresentam habilidade de diferenciar em mioblastos e assim promover a regeneração muscular após a lesão (MAURO, 1961). São, de acordo com Hurme e Kalimo, 1992 e Bischoff, 1994, “a chave” no processo de reparo muscular.

O sarcoplasma é uma matriz onde as miofibrilas estão suspensas, possui grande quantidade de mitocôndrias, que fornecem adenosina-trifosfato (ATP) para as miofibrilas contráteis (GUYTON, 1973), além de outras organelas e

constituintes, incluindo complexo de Golgi, retículo sarcoplasmático, glicogênio e mioglobina (HUARD et al. 2002). O protoplasma ou sarcoplasma de cada fibra muscular está revestido por uma membrana delgada, o sarcolema, embaixo do qual estão numerosos núcleos celulares. Uma porcentagem desses é representada por células satélites (mioblastos inativos) (SALTER, 1985).

O retículo sarcoplasmático tem uma organização especializada, importante para o controle da contração muscular (GUYTON, 1973).

Há dois tipos principais de fibras musculares. O tipo I, de contração lenta, ou oxidativa lenta, apresenta características próprias, como: alta atividade enzimática, pequeno diâmetro, grande suprimento sangüíneo, alto conteúdo mitocondrial e de mioglobina, baixa atividade de enzimas glicolíticas e baixo conteúdo de glicogênio (ARMSTRONG e PHELPS, 1984; SALTER, 1985 e ROBINSON e SNYDER-MACKLER, 2001). São de grande importância nas atividades altamente repetitivas, que implicam resistência a pequenas cargas. O tipo II é uma fibra de contração rápida ou glicolítica, mais bem adaptada às atividades que requerem força e velocidade. A habilidade funcional das fibras musculares desse tipo é vencer grandes resistências, ou seja, altas tensões e baixas frequências (SALTER, 1985). As fibras do tipo IIA apresentam diâmetro médio, alto suprimento sangüíneo, alta atividade de enzimas glicolíticas e alto conteúdo de glicogênio e mioglobina. As fibras IIB apresentam um diâmetro grande, baixo suprimento sangüíneo, alta atividade de enzimas glicolíticas, alto conteúdo de glicogênio e baixo conteúdo de mioglobina (ARMSTRONG e PHELPS, 1984; ROBINSON e SNYDER-MACKLER, 2001).

1.2 Mecanismos de Lesão e Regeneração Muscular

Os traumas musculares representam um alto número de lesões no esporte profissional e recreativo (CARLSON e FAULKNER, 1983; CRISCO et al. 1994 e GARRET et al. 1984, GARRET, 1990). Estão freqüentemente localizadas nos braços e nas pernas (APPELL, 1990) e podem ocorrer por meio de vários mecanismos (PRISK e HUARD, 2003). A categorização dos mecanismos de lesão baseia-se em conceitos mecânicos, respostas teciduais ou na combinação de ambos.

PRENTICE (2002) cita 3 principais mecanismos básicos da lesão: (1) contato ou impacto, (2) sobrecarga dinâmica, (3) uso excessivo (*overuse*).

Dentre as lesões do aparelho locomotor, as musculares são as mais comuns (CRISCO et al. 1994), caracterizadas principalmente pela degeneração da fibra muscular, ruptura de mitocôndrias e retículo sarcoplasmático, interrupção da continuidade do sarcolema e necrose celular (TIDBALL, 1995).

O processo de reparo no sistema muscular tem sido descrito desde o final do século passado, mas somente nos últimos trinta anos, foi realmente estabelecida a capacidade regenerativa das fibras musculares esqueléticas (CARLSON e FAULKNER, 1983).

De acordo com Albrock et al. 1962 e Parizotto, 1998, o reparo do músculo acometido por um estímulo lesivo promove, de forma imediata, uma série de eventos, cuja função principal está relacionada ao processo de regeneração.

Segundo autores como Hurme et al. 1991, Crisco et al. 1994, Järvinen 2000 e Huard et al. 2002, após muitos anos de pesquisa, tornaram-se claros os processos biológicos que ocorrem após a lesão muscular; sucessivamente são: degeneração, inflamação, reparo e formação de fibrose, sendo inter relacionados e tempo-dependentes.

O edema local e a formação do hematoma ocorrem rapidamente após a lesão, iniciando o processo regenerativo (HURME et al. 1991 e KASEMKIJWATTANA et al. 1998). Como o músculo é altamente vascularizado, a área necrosada é invadida por sangue, células mononucleadas, macrófagos e infiltrados (linfócitos T). Esses linfócitos secretam citocinas e fatores de crescimento que desempenham uma ampla gama de funções no processo inflamatório (HONDA et al. 1990) como alteração da permeabilidade vascular e do fluxo sanguíneo (PRISK e HUARD, 2003).

As células inflamatórias são compostas basicamente por neutrófilos e macrófagos, que são responsáveis pela fagocitose do material necrosado; essa etapa ocorre entre 6 e 24 horas após o trauma (FISCHER et al. 1990 e HURME et al. 1991). Além disso, liberam fatores de crescimento que controlam a proliferação, diferenciação e fusão das células satélites (TIBDALL, 1995 e McLENNAN, 1996).

As células satélites são constituídas por um corpo celular e várias projeções citoplasmáticas, seu formato é fusiforme e sua função básica é atuar no processo de regeneração da fibra muscular (MAURO 1961 e HUARD et al. 2002). Diversos fatores são responsáveis pela ativação dessas células; entre eles, os próprios extratos da fibra lesionada, fatores liberados pelos macrófagos, fatores solúveis de plasma extravasado, fatores de crescimento como IGF I e II (dependentes de insulina) FGF (fator de crescimento fibroblasto) (ROBERTSON et

al. 1983, DIMARIO e STROHMAN, 1998) e o TGF (fator de crescimento transformador), atuando como reguladores da proliferação e diferenciação dos mioblastos e assim promovendo o reparo tecidual (HUARD et al. 2002).

Em todo esse processo de reparação é importante destacar o papel da lâmina basal preservada, servindo como ancoradouro para reconstrução da fibra muscular, proporcionando um ambiente propício à regeneração e ainda mantendo fibroblastos e novas formações de colágeno, excluídas do ambiente, evitando interferências no crescimento da nova fibra (CARLSON e FAULKNER, 1983, LETHO e JÄRVINEN, 1991).

Crisco et al. (1994) avaliaram o músculo gastrocnêmio após lesão muscular por impacto, no mesmo dia da lesão (dia 0) e nos dias 2, 7 e 24 após o trauma. Observaram, que no dia 0, houve intensos edema e hematoma; no 2º dia pós trauma, intenso processo inflamatório, evidenciado pela presença de macrófagos e células polimorfonucleadas; no 7º dia, intensa proliferação celular de mioblastos e fibroblatos; no 24º dia, o músculo estava regenerado.

Rantanen et al. (1995) observaram que o primeiro sinal de diferenciação miogênica ocorre entre 4-8 horas após a lesão, sendo que a proliferação foi vista somente após 24 horas, sugerindo que existem 2 populações de células precursoras: as que estão prontas para diferenciação imediata e as que sofrem mitose, proliferam e diferenciam.

Kasemkijwattana et al. (1998) avaliaram, por meio de técnicas histológicas e histoquímicas, o músculo gastrocnêmio após lesão por impacto, em diferentes intervalos tempo 2, 5, 7, 10, 14, 21, 28 e 35 dias e observaram que, no 2º dia, havia hematoma e algumas células mononucleadas; no 5º dia, foi observado aumento do diâmetro, sugerindo a maturação das miofibrilas; no 7º dia, havia grande

quantidade de células mononucleadas e de miotubulos recém formados e ainda miofibrilas; no 21º, miofibrilas com núcleos centralizados, mostrando presença de miofibrilas regeneradas e, no 35º dia, havia presença de fibrose.

Minamoto et al. (1999) avaliaram o músculo sóleo após lesão muscular por impacto e, por meio de técnicas histoquímicas e histológicas, observaram a regeneração muscular espontânea no 1º, 4º e 6º dias após o trauma. No 1º dia, observaram fibras musculares necrosadas e intenso infiltrado celular. No 4º e 6º dias, havia fibras em regeneração evidenciadas pela presença de basofilia e núcleos centralizados.

Järvinen et al. (2000) realizaram uma revisão sobre a regeneração muscular em animais experimentais após contusões, rupturas e lesões provocadas por sobrecarga muscular e observaram que o processo regenerativo segue um padrão constante, ou seja, os eventos subseqüentes à lesão ocorrem num intervalo de tempo semelhante, confirmando os relatos de outros autores como Hurme et al. 1991, Grounds 1991 e Kalimo; Rantanen e Jarvinen* (1997 *apud* JARVINEN, 1977, p.1-24).

As lesões musculares constituem a maioria das lesões relatadas no esporte em muitos estudos epidemiológicos (GARRETT, 1996 e CROISIER et al. 2002). As moderadas ou graves podem resultar em incapacidades para o treino por várias semanas e ainda resultar em tendência a recorrer (VERRAL et al. 2001 e ORCHARD e BEST, 2002).

De acordo com Prisk e Huard (2003), lesões recorrentes e fraqueza prolongam a incapacitação provocada pela lesão. Por várias décadas, clínicos e

* KALIMO, H.; RANTANEN, J.; JARVINEN, M. (1997). Muscle injuries in sports. *Apud* JARVINEN, M. (1997). Soft tissue injuries in sports. **Bailliere's Clinical Orthopaedics**, v.2, p.1-24.

pesquisadores procuram alternativas para limitar essas incapacidades e promover o retorno funcional do paciente.

1.3 Imobilização

De acordo com Salter (1985), a imobilização pode ser definida como repouso local, contínuo e rígido de um segmento.

Esse método geralmente é o de escolha para o tratamento das alterações e/ou lesões no sistema músculo esquelético, embora incorra em alterações estruturais como atrofia, aumento de tecido conectivo, fibrose, perda da extensibilidade, força, resistência (JÄRVINEN, 1977; APPELL, 1990; BUCKWALTER e GRODZINSKI, 1999), além de desordens de síntese e função (BOOTH , 1977, TUCKER et al.,1981).

A maioria dos experimentos realizados para estudar os eventos que ocorrem no músculo durante e após a imobilização foram realizados em animais por questões éticas. Investigações em humanos voluntários ou pacientes poderiam fornecer somente medidas de trofismo, força, características de contração e, talvez, alguns parâmetros morfológicos e bioquímicos obtidos por meio de biopsia muscular (APPELL, 1990).

Os modelos animais permitem maior compreensão das alterações provocadas no músculo pela imobilização. Musacchia et al.(1988), em uma revisão sobre atrofia muscular por desuso, compararam os diferentes modelos animais e sua influência em relação a aspectos morfológicos, fisiológicos, bioquímicos e de força; observaram que as principais características foram à atrofia muscular e a diminuição

da atividade contrátil. Verificaram ainda que essa atrofia é um processo complexo e diferenças significativas estão associadas com os resultados das técnicas utilizadas para provocá-la.

As técnicas invasivas como denervação, tenotomia e fixação da articulação por meio de pinos forneceram base para conhecimento das alterações provocadas pela imobilização. A denervação é alcançada pela secção ou esmagamento nervoso ou ainda por bloqueio químico, eliminando a comunicação do músculo com o nervo, impedindo a ocorrência de reflexos musculares. Na tenotomia, a conexão músculo-osso é interrompida, ocasionando em encurtamento artificial do músculo (APPELL, 1986 e MUSACCHIA, 1988).

A imobilidade causa perda rápida e grave da estrutura, volume e função, detectadas pela diminuição das taxas de síntese proteica em músculos gastrocnêmios de ratos. Esse declínio é iniciado nas 6 primeiras horas de imobilização gessada de um membro (BOOTH, 1987). Além disso, após 72 horas, é iniciado o declínio do peso muscular (BOOTH e SEIDER, 1979).

Max et al. (1971) relataram que o peso muscular do gastrocnêmio de ratos, após 3 dias de fixação com pinos nas articulações, diminui cerca de 30 %.

Booth (1977) observou as alterações ocorridas em músculos gastrocnêmios imobilizados por 2, 4, 7, 10 e 28 dias, em posição encurtada, e músculos gastrocnêmios imobilizados por 2, 8, 20 50 e 65 dias, em posição alongada, verificando que, entre o 4° a 6° dia de imobilização, houve perda de proteínas, em contraste, a mioglobina permaneceu inalterada. Observou ainda que, no membro imobilizado na posição alongada, o grau de atrofia foi menor.

Järvinen (1977) imobilizou músculos gastrocnêmios de ratos por 7, 14, 21 e 42 dias e observou uma diminuição significativa nas propriedades mecânicas

de carga e alongamento no limite máximo, rigidez e resiliência. As principais alterações ocorreram na 1ª semana de imobilização, como: diminuição do peso muscular de 20% no 7º dia e 30% no 21º dia. A carga no limite máximo, após a 1ª semana, diminuiu aproximadamente 20%; a rigidez apresentou maior diminuição nos músculos imobilizados por 21 dias.

Appell (1986) avaliou, por meio da histomorfometria, os efeitos da imobilização por 1, 4, 7, 11, 14 e 18 dias e verificou que, a partir do 4º dia de imobilização, havia alterações patológicas no tecido muscular, mais evidentes em fibras vermelhas. No 7º dia, o diâmetro das fibras diminuiu 35% e, após esse período, a atrofia ocorreu de forma mais lenta. Na 1ª semana, observou, por meio de microscopia eletrônica, que se iniciava o processo de reparo, mesmo com o músculo imobilizado. Portanto, nos 7 dias iniciais, ocorrem as principais adaptações musculares frente à imobilidade do ponto de vista morfológico.

Appell (1990) realizou uma revisão sobre os métodos utilizados para promover atrofia em modelos animais; dentre eles, imobilização gessada, suspensão, tenotomia, denervação e imobilização, utilizando pinos nas articulações e, por meio de observações das propriedades funcionais, estruturais e bioquímicas realizadas nesses estudos, concluiu que a atrofia ocorre de forma intensa, na primeira semana de imobilização, em todas as técnicas que promoveram desuso.

Järvinen et al. (1992) imobilizaram os músculos gastrocnêmios de ratos por 7, 14 e 21 dias, nas posições encurtada e alongada. Observaram que, no 7º e no 21º dia, o peso muscular diminuía 15% e 36% respectivamente nos animais imobilizados em posição encurtada; na posição alongada, observaram uma diminuição do peso muscular de 17% no 21º dia. Entretanto, observaram que a posição de imobilização não interfere na porcentagem de tecido conectivo que é

depositada, ou seja, o aumento do tecido conectivo é similar em músculos imobilizados em posição alongada e em posição encurtada.

De acordo com Järvinen (1977), as rupturas musculares eram tratadas predominantemente com imobilização, porém, a partir da década de 50, a mobilização precoce tem sido o método de escolha no tratamento desse tipo de lesão em atletas. A mobilidade, após curto período de imobilização promove a reabsorção dos hematomas e células inflamatórias, acelera a organização das miofibrilas no processo regenerativo, além de promover aumento da resistência e rigidez muscular.

Caiozzo (2002) relatou que a atrofia promove diminuição da resistência e do módulo de elasticidade e que os efeitos da imobilização nas propriedades mecânicas de tecidos biológicos são muito importantes, pois essas alterações podem aumentar o risco de lesões.

Clinicamente as lesões musculares agudas (leve-moderada) são tratadas de acordo com o princípio R.I.C.E. (*Rest, Ice, Compression and Elevation*), ou seja, repouso, gelo, compressão e elevação. Além disso, outras modalidades terapêuticas como ultra-som ou antiinflamatórios não esteroidais também são utilizados.

1.4 Laser

No Brasil, a utilização da tecnologia Laser foi tardia em relação a países europeus e Estados Unidos. Os primeiros estudos foram publicados por Silveira et al. 1993, em Belo Horizonte (BRUGNERA Jr. e PINHEIRO, 1998).

O fenômeno físico da emissão estimulada da radiação foi postulado por Albert Einstein em 1916. Baseados neste princípio, em 1950, Townes, Gordon e Zeiger construíram o MASER ou amplificador de microondas por emissão estimulada de radiação, criando portanto, a possibilidade de trabalhar na região visível de radiação, ou seja, na região óptica do espectro eletromagnético (BAXTER, 1994; PRENTICE, 2002).

Em 1958, Townes e Schawlow propuseram um modelo para o desenvolvimento de um laser propriamente dito, trabalho este que constituiu o ímpeto para o descobrimento dos diferentes tipos de laser. No mesmo período, na antiga União Soviética, os cientistas Basov e Prokhorov também demonstraram essa possibilidade, por cujo trabalho ganharam, em 1964, o Prêmio Nobel (BAXTER, 1997).

Em 1960, Theodore Maiman produziu o primeiro laser de material sólido (rubí), com comprimento de onda fixado em 694nm. O laser de Hélio-Neônio foi construído por Javan, Bennett e Herriott nos anos 70, apoiados no descobrimento do laser vermelho visível feito por White e Rigden. Essa é a primeira fonte comercialmente disponível de luz coerente (KARU, 1987, BAXTER, 1997; KITCHEN et al. 1991, TURNER e HODE, 1999).

“LASER” é uma sigla formada para Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Amplificação da Luz pela Emissão Estimulada da Radiação), constitui-se de ondas eletromagnéticas, visíveis ou não, de acordo com o comprimento de onda (BAXTER, 1994).

A geração da onda eletromagnética depende da excitação dos elementos constituintes do material (sólido, líquido ou gasoso) por uma corrente

elétrica, proporcionando a emissão de fótons idênticos aos que amplificam a emissão da radiação.

O espectro eletromagnético inclui, além do infra-vermelho e do ultra violeta, raios X e Gama, microondas, luz visível e ondas de rádio. Essa variedade de tipos de radiação tem em comum a existência de campos elétricos e magnéticos alternados, que flutuam em sincronia e perpendiculares à direção da propagação. (BAXTER, 1997).

Os comprimentos de onda, na porção do espectro em que o laser opera, são pequenos e geralmente medidos em frações de um metro, ou seja, nanômetro ($1 \text{ nm} = 1/1\,000\,000\,000 \text{ m}$). A precisa relação entre frequência e comprimento de onda está sumarizada na figura 1.

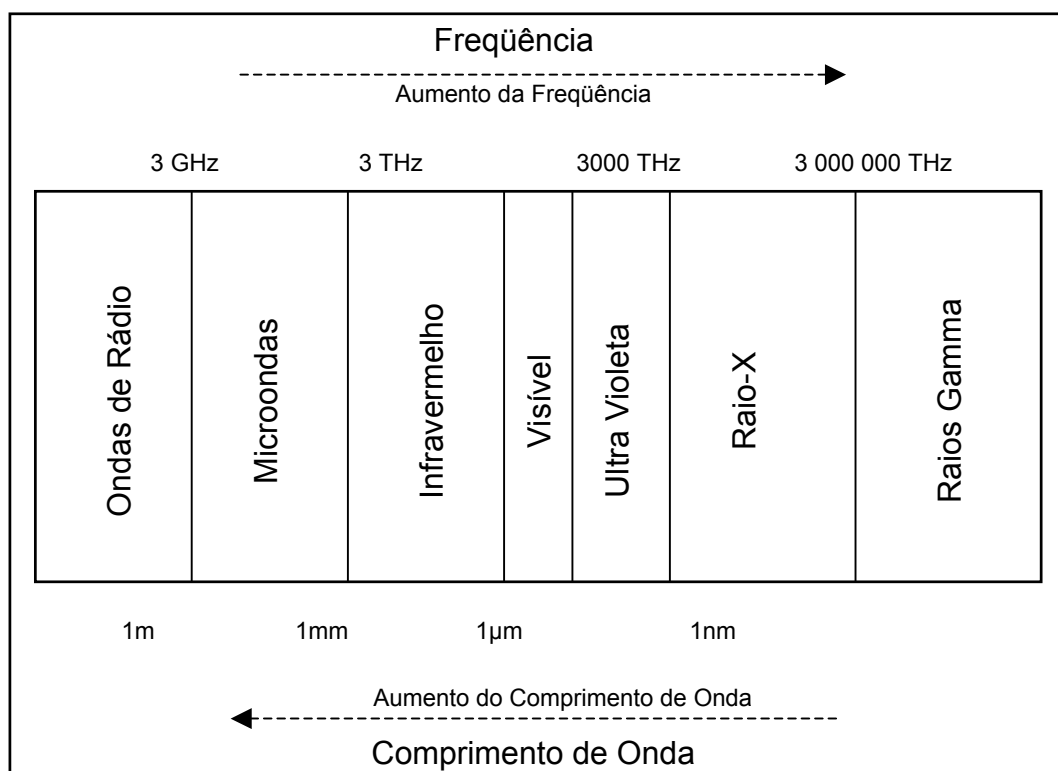


Figura 1. O espectro eletromagnético.

FONTE: BAXTER, G. D. (1997). Therapeutic lasers: theory and practice. United States of América. Ed. Churchill Livingstone

As fontes de lasers produzem feixes de luz muito intensas, que diferem de outros tipos de luz, por serem monocromáticas e altamente direcionais e coerentes, capaz de provocar alterações físicas e biológicas (GUIRRO e GUIRRO, 2002).

A monocromaticidade refere-se à radiação emitida pelo aparelho de uso terapêutico agrupar-se em torno de um único comprimento de onda.

O raio do laser é colimado, ou seja, existe uma divergência mínima dos fótons. Isso quer dizer que a luz emitida é altamente paralela. Portanto, o feixe de luz mantém um pequeno foco numa distância relativamente grande.

A coerência é a sincronização da radiação produzida pelo laser, ou seja, as depressões e picos das ondas encaixam-se no tempo (coerência temporal) e no espaço (coerência espacial), formando o mesmo comprimento de onda (PRENTICE, 2002).

Segundo Karu (1985), a fotoestimulação promovida pela radiação laser depende fundamentalmente da monocromaticidade da emissão, observando diversos efeitos em função do comprimento de onda e da dose utilizada, além do regime de pulso e o nível de energia depositado, os quais vão desde os efeitos bioestimulantes até os cirúrgicos.

O laser de baixa potência é usado desde 1960, no processo de reparo de tecidos, sendo a sua potência de radiação baixa (2-30mW); portanto, os efeitos biológicos ocorrem devido à ação direta da irradiação e não por aquecimento.

Os equipamentos de laser terapêutico e cirúrgico possuem características diversificadas. Dentre essas, diferentes comprimentos de onda que determinam sua profundidade de penetração e a potência; esses fatores caracterizam sua indicação.

Os elementos geradores de radiação laser podem ser agrupados em 3 categorias: cristais, semicondutores e gases. Na prática fisioterapêutica, são utilizados os de Hélio-Neônio (HeNe), Arseneto de Gálio (AsGa), (KARU, 2003), Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo (AlGaInP) e Arseneto de Gálio-Alumínio (AsGaAl).

O laser de HeNe emite uma luz visível, vermelha, com comprimento de onda de 632,8 nm. A potência desse laser é limitada de 30 a 50mW, a penetração da luz de HeNe no tecido humano é de 0,8 mm sem divergência e até 15 mm com alguma divergência.

Os lasers de AsGa e AsGaAl estão na faixa do infravermelho, ou seja, os comprimentos de onda emitidos por esses lasers são 904 nm e 830nm respectivamente. A potência de pico do laser de AsGa está entre 0 e 15 W de saída modo pulsado. O laser AsGaAl tem uma potência de pico que varia entre 20 e 100 mW modo contínuo (ORTIZ et al., 2001).

Os equipamentos AlGaInP e AsGaAl emitem uma potência média de 30mW, além de não precisarem da fibra óptica. Embora a radiação laser não tenha capacidade ionizante, isto é, não rompe ligações químicas, a sua propriedade de indução fotobiológica é capaz de provocar alterações bioquímicas, bioelétricas e bioenergéticas nas células (KARU, 1985).

A dosimetria ideal para a terapia laser ainda é controversa, dependendo, portanto, de alguns fatores como distância entre a pele e o aparelho laser, sistema óptico do aparelho, tipo de fonte de laser, reflexão, transmissão, dispersão, absorção e profundidade do tecido tratado. Além desses, há parâmetros, como: comprimento de onda, duração do tratamento, densidade de energia, número de irradiações (tratamentos) e modo de liberação (BECKERMAN et al. 1992).

Autores como Mester et al. (1985) e Karu (1998) consideram que a resposta fisiológica do tecido ao laser é dose-dependente.

Kubasova et al. (1984) observaram que a saturação dos efeitos bioestimulativos induzidos pela luz polarizada ocorriam a 4 J/cm^2 e, acima desse nível, as células ficavam incapacitadas de absorver mais energia.

Karu (1998), pela avaliação do crescimento celular *in vitro*, observou que, na maior parte das curvas dose-resposta, aparecia um limiar, um máximo e uma fase de declive, apresentando portanto, uma dependência da dose.

A efetividade clínica depende da densidade de energia adequada (dose), aplicada corretamente e de forma gradual e regular, pois os efeitos da terapia laser são cumulativos (ORTIZ et al. 2001).

1.3.1 Interações da luz atérmica do Laser com os tecidos

A terapia laser de baixa potência incide sobre reações não térmicas (atérmicas) da luz com o tecido, ocasionando efeitos fotoquímicos (KITCHEN e PARTRIDGE, 1991; HONMURA, et al. 1993 e SCHAFFER et al. 2000), ou seja, com radiações de baixa densidade de potência $0,01 \text{ w/cm}^2$ a 1 w/cm^2 e também de baixa densidade de energia 1 a 10 J/cm^2 (SCHINDL et al. 2000) nesses limites se produz um pequeno e insignificante aumento de temperatura, que não ultrapassa 1° .

O efeito fotoquímico ocorre por meio de fotorreceptores especialmente sensíveis a determinados comprimentos de onda. A absorção desses fótons por biomoléculas intracelulares específicas produz estimulação ou inibição da atividade enzimática e das reações fotoquímicas (KARU 1987).

A luz laser, ao incidir sobre uma superfície, pode refletir, transmitir, espalhar ou ser absorvida (HECHT, 1992).

Dentre os meios de interação, a absorção é considerada a mais importante em termos de base fotobiológica da laserterapia; consiste na transformação da energia luminosa em outra forma de energia. O grau de absorção depende do tecido, bem como do comprimento de onda da luz incidente (BAXTER, 1994).

Segundo Baxter (1997), a luz é absorvida por um cromóforo, por meio da absorção seletiva (GONZÁLEZ e CRUÑAS, 1988). A função fotorreguladora ocorre por meio desses fotorreceptores, moléculas de variedade morfológica, encontrados distribuídos nas células.

Cromóforos podem ser definidos como estruturas moleculares que absorvem luz no espectro visível; por exemplo, a hemoglobina, a melanina, enzimas específicas, membranas moleculares ou qualquer outra substância extracelular (Karu, 1998)

Esses fotorreceptores interferem no metabolismo celular sem a ação da energia luminosa, mas, se incidir sobre elas uma radiação de comprimento de onda específico, são capazes de absorver os fótons e provocar transformação da atividade funcional e metabólica da célula.

Trelles e Mayayo (1987) submeteram 50 ratas, com fraturas na tíbia e com fixação externa, a aplicações diárias de laser HeNe, com dose de 2,4 J por 30 minutos, durante 14 dias, com técnica pontual a 20 cm de distância da região da fratura. Após 4 semanas, observaram aumento da resistência máxima do tecido e da densidade da tíbia em comparação ao grupo controle. Entre os animais tratado, todos tiveram suas fraturas consolidadas.

Goldman et al. (1980) relataram que pacientes com artrite reumatóide, tratados com AsGaAl (630-680nm), com uma dose de $31\text{J}/\text{cm}^2$, conseguiram uma melhora significativa do quadro degenerativo.

Laakso et al. (1993) realizaram trabalhos, utilizando uma dosagem de $4\text{J}/\text{cm}^2$, no tratamento da artrite reumatóide com a finalidade de utilizar as capacidades inibitórias do laser para limitar esse processo.

Marcos (2001) submeteu o músculo tibial anterior a contrações tetânicas e, por meio do laser AsGaAl, tratou esses músculos com dose de $0,5\text{J}/\text{cm}^2$, $1\text{J}/\text{cm}^2$ e $1,5\text{J}/\text{cm}^2$, com intuito de verificar se o laser diminuía ou evitava a fadiga muscular. O melhor resultado obtido ocorreu com uma densidade de energia de $1\text{J}/\text{cm}^2$ visto que, com essa dose, conseguiu reduzir o índice de fadiga e aumentar a resistência do músculo à fadiga.

Schlager et al. (2000) avaliaram a cicatrização de feridas, utilizando diferentes comprimentos de onda 690 nm e 635nm; utilizaram a mesma dose para os grupos irradiados, que foi de $1,5\text{J}/\text{cm}^2$, por 30 dias. Concluíram que não ocorreu aceleração no processo cicatricial após os tratamentos implementados.

1.3.2 Laser de Baixa Intensidade no Processo de Regeneração Muscular

Mester et al. (1985) demonstraram, em seus trabalhos, que os potenciais de irradiação por laser de baixa intensidade, aplicado sobre os tecidos, para modular alguns processos biológicos, como a cicatrização e reparo dos tecidos, apresentam aplicabilidade clínica.

Esses autores desenvolveram pesquisas em animais e humanos; o que proporcionou a promoção da irradiação por Laser HeNe como tratamento para várias patologias (BAXTER et al. 1994).

De acordo com Kitchen e Partridge (1991) e Veçoso (1993), a irradiação laser pode promover a aceleração do processo de reparo, neovascularização, formação de tecido de granulação, aumento de fibroblastos, fibras colágenas, síntese de ATP e alterações na proliferação e motilidade celular.

Bulyakova e Azarova (1994) seccionaram transversalmente o músculo gastrocnêmio de cobaias e de ratos e trataram com laser de HeNe 2,5- 3 J/cm², o tempo de irradiação foi de 5 minutos. Avaliaram os músculos por 7, 14 e 30 e observaram que os músculos das cobaias responderam melhor ao tratamento. No 7º dia de tratamento, havia muitas células se diferenciando. No 14º dia, foram observados miotubos. No 30º dia, a reabsorção de fibrina e de material necrótico estava completa.

Bibikova e Oron (1995) avaliaram a regeneração de gastrocnêmios de sapos denervados e submetidos a irradiação a laser de HeNe, com dose de 31,2 J/cm², por 2,3 minutos e observaram que, 14 dias após a denervação, havia miotubos e algumas miofibrilas, mostrando que a fase inicial da regeneração é idêntica em músculos inervados ou denervados, submetidos a irradiação laser.

Amaral et al. (2001) mostraram que o laser de HeNe demonstrou eficácia no processo de regeneração muscular, utilizando uma dosagem de 2,6 J/cm², por 6 segundos, apresentando efeitos significativos, tais como aumento da área da fibra muscular e densidade mitocondrial.

A terapia Laser de Baixa intensidade tem sido usada no tratamento de muitas afecções e seus efeitos clínicos apresentam relatos satisfatórios, incluindo

regeneração de lesões de tecidos moles e ósseo. Entretanto, os efeitos do comprimento de onda, tipo de feixe, nível e intensidade de energia e regime de exposição ainda não estão totalmente esclarecidos (COOMBE et al. 2001).

A FDA (Food and Drug Administration), em 2002, aprovou a utilização dessa terapia adjuvante para o alívio temporário de dores crônicas no pescoço e algias no ombro, de origem musculoesqueléticas, com a utilização de um laser com comprimento de onda de 670 nm; e dores no punho e mãos, decorrentes da síndrome do túnel do carpo, utilizando o laser com comprimento de onda de 830 nm (LASER WORLD, 2002).

Parizotto (1998) observou, pela microscopia eletrônica de varredura, que houve uma melhora na organização tecidual e maior número de células para a síntese de material extra celular produzido pela fotoestimulação com Laser HeNe, após tenectomia de ratos. Além disso, mostrou que o laser estimulou a formação de colágeno precocemente, com melhor empacotamento e organização.

2 OBJETIVO

Avaliar a influência da irradiação a laser de baixa intensidade, associada ou não a imobilização, nas propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio submetido a lesão experimental por mecanismo de impacto.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizadas 70 ratas da raça *Rattus Norvegicus Albinus*, da linhagem Wistar, com massa corporal variando entre 160 a 260g, fornecidos pelo Biotério Central da Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo. Esses animais foram mantidos em grupos de 3, em gaiolas coletivas de contenção, a temperatura ambiente, no Biotério do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, com livre acesso a água e ração padrão.

No início do experimento, os animais foram pesados e identificados com marcas produzidas em suas orelhas, de acordo com o tipo de experimentação pré-estabelecida. Os animais foram pesados novamente antes de serem mortos.

3.2 Grupos experimentais

Foram estudados 7 grupos experimentais, nos quais os animais foram distribuídos aleatoriamente, em grupos compostos por 10 animais cada, da seguinte maneira:

GRUPO 1: controle (mantidos em condições normais de laboratório).

GRUPO 2: lesão muscular experimental

GRUPO 3: lesão muscular experimental e irradiação com Laser 3 J/cm²

GRUPO 4: lesão muscular experimental- irradiação a Laser 3 J/cm² e imobilização por 24 horas

GRUPO 5: lesão muscular experimental- irradiação a Laser 3 J/cm² e imobilização por 72 horas

GRUPO 6: lesão muscular experimental - imobilização por 24 horas

GRUPO 7: lesão muscular experimental - imobilização por 72 horas

3.3 Caracterização dos grupos

3.3.1 Grupo Controle (C)

Esse grupo foi constituído de ratas alojadas por 8 dias em gaiolas de contenção, com livre acesso a ração e água.

3.3.2 Grupo Lesão (L)

Esses animais tiveram o músculo gastrocnêmio do lado direito lesionado experimentalmente por mecanismo de impacto e não foram submetidos a

nenhuma intervenção terapêutica. Após a lesão, ficaram alojados por 8 dias, em gaiolas de contenção.

3.3.3 Grupo Lesão Laser (LL)

Os animais desse grupo tiveram o músculo gastrocnêmio do lado direito lesionado experimentalmente por mecanismo de impacto e foram submetidos à irradiação por laser de baixa intensidade, com dose de 3 J/cm^2 , 2 horas após a lesão. O tratamento foi realizado por 8 dias consecutivos, sendo que, durante o tratamento, os animais não tiveram restrição de mobilidade.

3.3.4 Grupo Lesão Imobilização 24h Laser (LI24L)

Os animais desse grupo tiveram o músculo gastrocnêmio do lado direito lesionado experimentalmente por mecanismo de impacto e foram imobilizados por meio de aparelho gessado, por 24 horas, e concomitantemente submetidos à irradiação por laser de baixa intensidade, com dose de 3 J/cm^2 , 2 horas após o trauma. Para tanto, durante a imobilização, foi deixada uma janela sobre o local lesionado, possibilitando o encaixe do laser probe, além do contato direto da caneta com a pele. O tratamento foi realizado por 8 dias consecutivos. Após a retirada do gesso, os animais continuaram sendo estimulados pela terapia laser.

3.3.5 Grupo Lesão Imobilização 72h Laser (LI72L)

Os animais desse grupo também foram submetidos a lesão experimental e imobilizados por aparelho gessado, por 72 horas, e concomitantemente submetidos à irradiação por laser de baixa intensidade, com dose de 3 J/cm². Por meio de uma janela no gesso sobre o local lesionado, o laser probe foi encaixado, possibilitando a irradiação direta sobre a lesão. O tratamento foi realizado por 8 dias consecutivos e, após a retirada do gesso, os animais tiveram a movimentação ativa livre.

3.3.6 Grupo Lesão Imobilização 24h (LI24)

Esse grupo teve o músculo gastrocnêmio direito lesionado experimentalmente por mecanismo de impacto e imobilizado por meio de aparelho gessado, por 24 horas. Após a retirada do gesso, foram alojados em gaiolas por 7 dias, com movimentação ativa livre, não foram submetidos à irradiação por laser.

3.3.7 Grupo Lesão Imobilização 72h (LI72)

Os animais desse grupo tiveram o músculo gastrocnêmio direito lesionado experimentalmente por mecanismo de impacto e foram imobilizados por meio de aparelho gessado, por 72 horas. Após esse período, ficaram alojados em gaiolas, por 5 dias, com movimentação ativa livre, não foram submetidos à irradiação por laser.

3.4 Protocolo para produção da lesão experimental

3.4.1 Equipamento utilizado para produção da lesão experimental

Para a realização da lesão experimental por mecanismo de impacto, foi confeccionado, na Oficina de Precisão da Universidade de São Paulo - Campus Ribeirão Preto, um aparelho semelhante ao proposto por STRATTON em 1984, que consiste em duas hastes metálicas telescópicas ajustáveis, onde é possível graduar a altura de 30 a 40 cm e uma base plástica com área de 272,5 cm². Sobre essa base, foi acoplada uma superfície metálica retangular, de área de 12,25 cm², que serve de apoio para a queda do peso. A figura 2 mostra os acessórios utilizados.

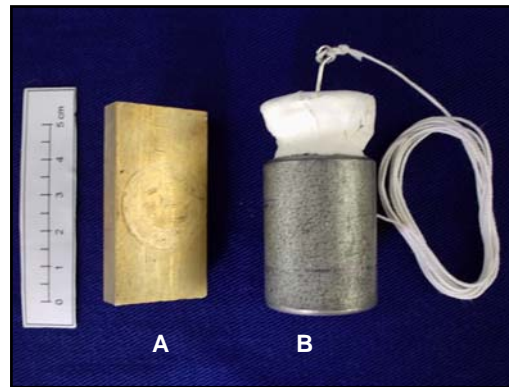


Figura 2. Acessórios utilizados no aparelho de produção da lesão experimental (A) Visão oblíqua da superfície metálica de apoio do músculo gastrocnêmio do animal (B) Peso de 200g com fio guia.

Na parte superior final das hastes metálicas, foi fixada uma estrutura metálica que proporciona estabilidade, bem como suporta uma roldana pela qual um fio guia fixa o peso a ser liberado. Entre as hastes, foi confeccionado, em acrílico transparente, um guia para conduzir o peso durante a queda livre, de 30 cm de altura, evitando desvios e oscilações do peso; a figura 3(A) mostra o aparelho descrito, com o peso, na posição inicial e, na figura 3(B), o aparelho com o peso na posição final (após a queda livre).

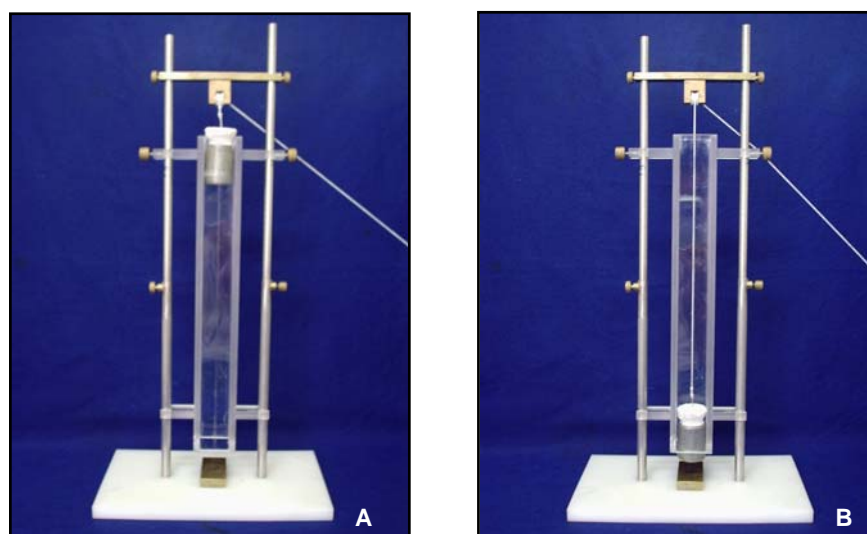


Figura 3. (A) Aparelho desenvolvido para a produção da lesão experimental . Vista frontal com peso na posição inicial. 3 (B) Vista frontal com peso, na posição final, sob a superfície de contato.

Estudos piloto previamente realizados no Laboratório de Bioengenharia da FMRP/ USP, determinaram a altura da liberação da carga a ser utilizada para produção da lesão muscular experimental aguda, sem que provocasse fraturas ósseas.

Conforme os resultados obtidos no estudo piloto, no trabalho realizado por Oliveira et al. (2004) e também no estudo realizado por Minamoto (1999), optou-se pela utilização de uma carga de 200g, liberada a uma altura de 30 centímetros, sendo a energia de impacto, no sítio da lesão, de aproximadamente 294 N, segundo a fórmula adaptada por Minamoto (1999) $f = m \times g \times h \times \Delta S^{-1}$, assim temos:

F= força

m = massa

g = aceleração da gravidade

h = altura da liberação da carga

ΔS^{-1} = deformação tecidual estabelecida em 2 mm.

3.5 Procedimento para produção da lesão experimental

Neste trabalho, a produção da lesão experimental não foi um método invasivo; porém, foram tomadas precauções em relação às técnicas de assepsia do local lesionado e do aparelho, para que agentes externos não exercessem qualquer ação.

Os animais foram previamente anestesiados com Cloridrato de Ketamina (60 mg/kg) e Xilazina (15 mg/kg) e o terço médio do ventre muscular do gastrocnêmio tricotomizado.

As figuras 4 e 5 mostram as ratas posicionadas em decúbito ventral, com extensão das articulações coxo-femoral e joelho e tornozelo a 90°, para a realização do trauma experimental.

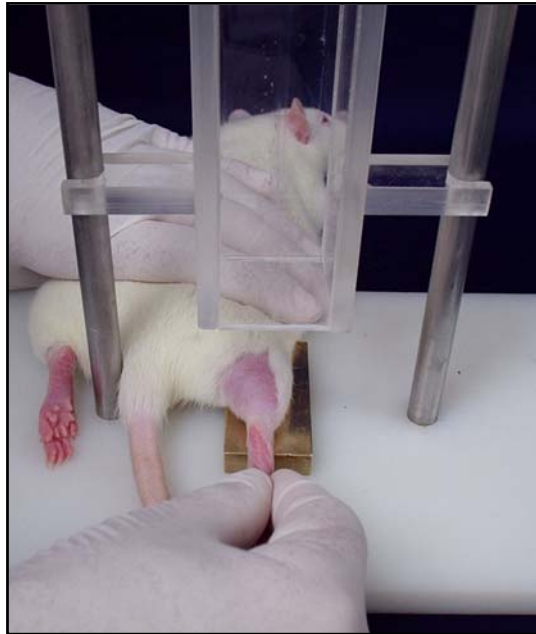


Figura 4. Posicionamento da pata do animal antes da queda do peso para produção da lesão experimental.

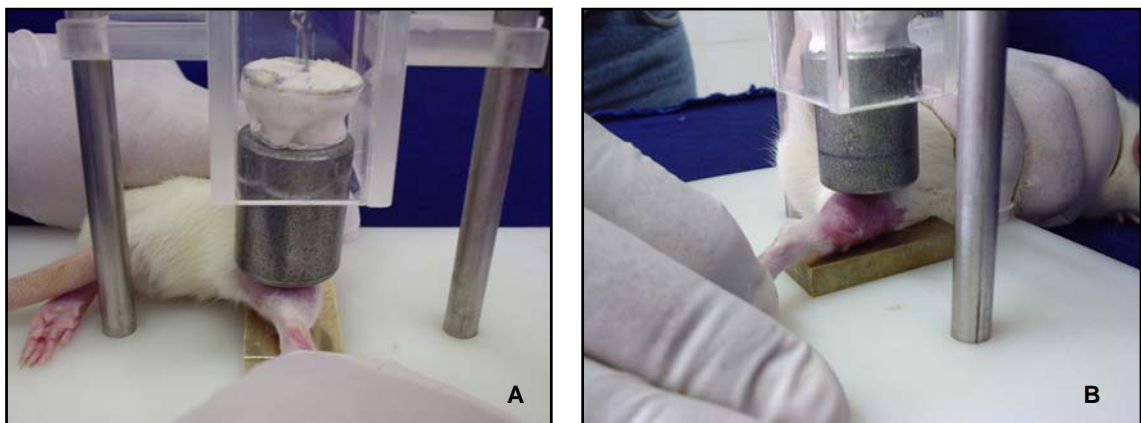


Figura 5. (A) Vista frontal e (B) vista lateral do peso sobre o músculo gastrocnêmio; detalhes do posicionamento para produção da lesão.

O aparelho de produção da lesão foi fixado, por meio de grampos, na mesa cirúrgica, como forma de estabilizá-lo e evitar que ocorresse qualquer oscilação na queda do peso.

Para que a contusão ocorresse sempre na mesma região, a carga liberada a uma altura de 30 cm foi conduzida pelo guia em acrílico e por um fio fixado diretamente sobre o peso e lançado centralmente por meio de uma roldana posicionada nas hastes do aparelho.

Os animais foram submetidos a um único trauma e separados de acordo com o grupo experimental.

3.6 Irradiação a laser

O equipamento utilizado para irradiação foi o Laserpulse, com laser probe, capaz de emitir comprimento de onda de 670 nm, da marca IBRAMED® (figura 6).

Antes de iniciar o protocolo de tratamento, as características do equipamento como potência e tempo de emissão foram aferidas pelo Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, por meio de um aparelho Laser Power/Energy Monitor, calibrado pela NIST (National Institute Standards and Technology) de acordo com ISO 10012-1, para confirmação dos parâmetros do aparelho utilizado. O modelo 670nm possui um braço flexível, que permite posicionar, na ampola emissora de irradiação laser, uma caneta com controle de disparo por toque e um controle toposcópico (Figura 7).



Figura 6. Equipamento Laser: Laserpulse (IBRAMED®) com laser probe de 670nm utilizado no tratamento do músculo após lesão.



Figura 7. Laser probe com capacidade de emitir um comprimento de onda de 670nm.

O aparelho AlGaInP apresenta as seguintes características técnicas: alimentação de 110/220 v; potência contínua de 30 mW; dosimetria de 1 a 15 J/cm² e comprimento de onda de 670 nm.

3.7 Protocolo de estimulação por irradiação Laser

Para aplicação do laser, os animais foram previamente imobilizados com fita adesiva, sobre um suporte de acrílico e as articulações do membro inferior posicionadas da mesma forma a que foram submetidas a lesão experimental.

O procedimento de aplicação foi realizado em cima da lesão, em contato com a pele, formando um ângulo de incidência do feixe de 90°, de maneira semelhante à realizada por Oliveira et al. 1999 e Amaral et al. 2001.

A técnica de aplicação da irradiação laser foi pontual, utilizando uma dose de 3 J/cm², por 3 segundos, tempo necessário para o depósito da densidade de energia no tecido.

Os parâmetros utilizados neste estudo foram: alimentação de 110 v; potência contínua de 30 mW; dosimetria de 3 J/cm² e comprimento de onda de 670 nm.

3.8 Técnica de Imobilização

O aparelho gessado foi realizado de maneira semelhante à realizada por Carvalho et al. (2003), que imobilizaram a pata posterior direita, incluindo pelve, quadril, joelho e tornozelo (figura 8). Os animais, imediatamente após a administração anestésica (associação de Cloridrato de Ketamina e Xilazina na dose de 0,6 mg para cada 100 gramas), foram submetidos ao trauma por impacto; em seguida, a pata foi envolta por uma malha tubular e ataduras de algodão para prevenir a formação de úlceras de pressão e imobilizadas com atadura gessada de secagem rápida.

Nos grupos submetidos a imobilização e irradiação laser, foram realizadas janelas no aparelho gessado, proporcionando o encaixe do laser probe (figura 9A e 9B).

A imobilização foi mantida por 24 e 72 horas respectivamente.



Figura 8. Imobilização da pata direita

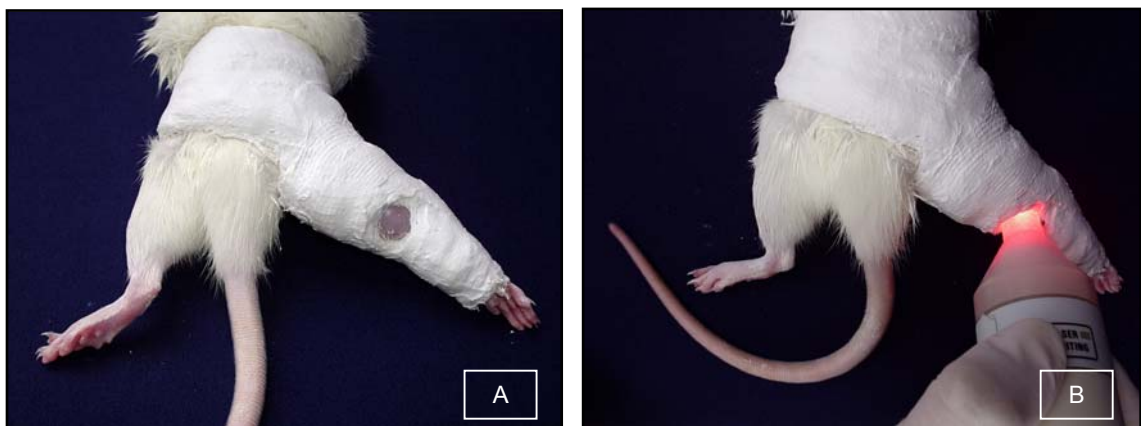


Figura 9. Detalhe da janela realizada no gesso para encaixe do laser probe (A) e, na B, laser probe encaixado.

3.9 Ensaio Mecânico

Após o tratamento de acordo com o grupo experimental, os animais foram mortos por overdose anestésica de Tiopental Sódico, para que seus músculos gastrocnêmios fossem dissecados e submetidos ao ensaio mecânico de tração.

Foi retirado o gastrocnêmio de cada animal, por meio da remoção da pele e de partes moles. A integridade desse músculo foi preservada, mantendo a origem e a inserção (fêmur -músculo-calcâneo), mostrados na figura 10. Em seguida, foram colocados em solução de Ringer lactato e mantidos a temperatura ambiente, até a realização do ensaio mecânico.

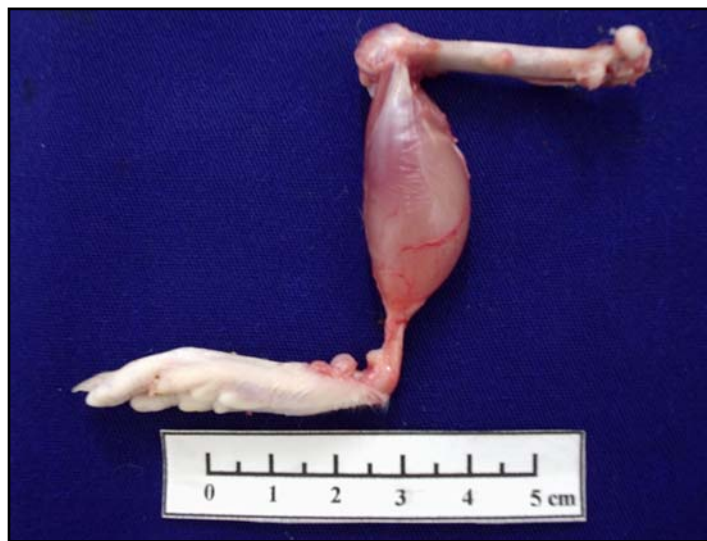


Figura 10. Músculo gastrocnêmio dissecado.

Para realizar o ensaio mecânico de tração, os músculos dos animais foram fixados à máquina de ensaios, por meio de um dispositivo que prendeu, de um lado, a diáfise femoral e, do outro lado, a pata, permitindo a fixação da peça. (figura 11).

A figura 12 mostra detalhes do posicionamento do músculo gastrocnêmio (fêmur- músculo- calcâneo) nos acessórios fixados à máquina de ensaio.

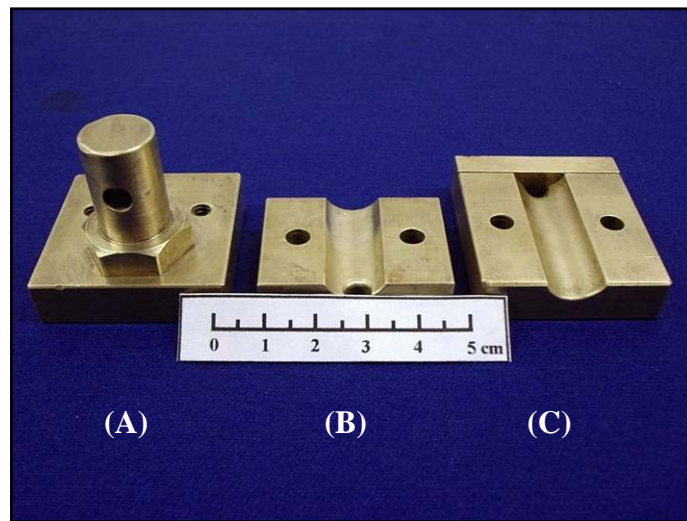


Figura 11. Partes superior (A), média (B) e inferior (C) do acessório de fixação do músculo à máquina de ensaio.

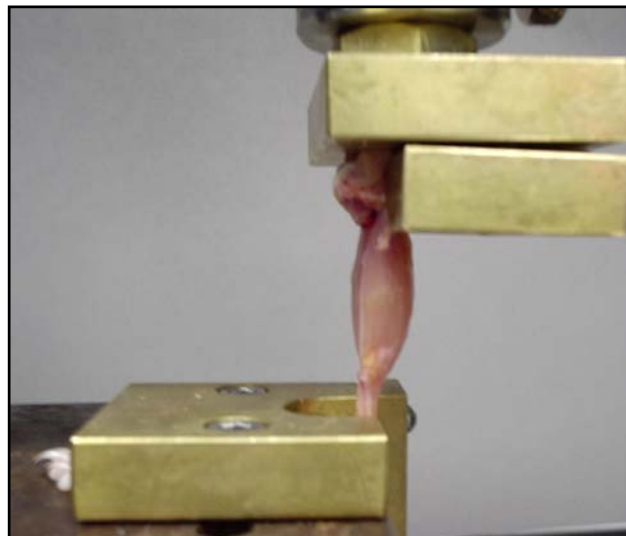


Figura 12. Posicionamento do músculo na máquina fixado pelos acessórios.

O ensaio mecânico foi realizado utilizando a máquina universal de ensaio EMIC[®] Modelo DL 10.000, do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ USP, na qual foi utilizada uma célula de carga com capacidade de medir até 50 Kgf (Figura 13).

Os parâmetros utilizados para esse ensaio mecânico seguiram protocolo desenvolvido e utilizado no Laboratório de Bioengenharia da FMRP/USP.

Foi aplicada uma pré-carga de 200g, para acomodação do sistema, durante 30 segundos, com velocidade de aplicação de carga de 5 mm/min.

Os valores de cada ensaio foram registrados no computador acoplado à máquina e, por meio de um software, forneceu o gráfico carga x alongamento do qual foram obtidas as principais propriedades mecânicas, tais como carga e alongamento no limite de proporcionalidade, carga e alongamento no limite máximo e rigidez.



Figura 13. Máquina universal de ensaio EMIC[®] interligada ao microcomputador.

3.9.1 Propriedades Mecânicas

Os dados obtidos de cada ensaio, registrados no computador, foram transcritos para o Microsoft Excel 2000[®], no qual foi possível construir gráficos carga x alongamento. A Figura 14 apresenta o exemplo de um gráfico obtido neste trabalho por meio dos quais foram calculadas as seguintes propriedades mecânicas: carga no limite de proporcionalidade (CLP), alongamento no limite de proporcionalidade (ALP), carga no limite máximo (CLM), alongamento no limite máximo (ALM) e rigidez (Rig). As curvas representativas de cada grupo estão apresentadas no ANEXO B.

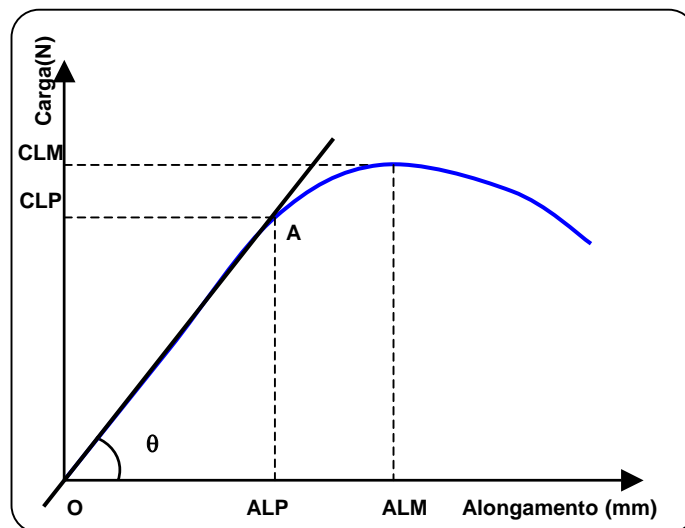


Figura 14. Gráfico carga x alongamento

3.9.1.1 Carga no limite de proporcionalidade (CLP)

É dada pelo registro da carga até o ponto A, que marca o fim da fase elástica e início da fase plástica. É medida em Newtons (N) (figura 14).

3.9.1.2- Alongamento no limite proporcionalidade (ALP)

É identificado como sendo o último ponto onde se encontra um segmento linear, representado pelo segmento AO, no gráfico carga x alongamento, medido em milímetros (mm) (figura 14).

3.10.1.3 Carga no limite máximo (CLM)

É dada pelo registro máximo de carga até o ponto de falência (rompimento) ou carga máxima imposta (CLM), medida em Newtons (N) (Figura 14).

3.10.1.4- Alongamento no limite máximo (ALM)

É dado pela deformação iniciada no ponto O até o ponto correspondente ao limite da carga máxima (ALM), medido em milímetros (mm) (figura 14).

3.10.1.5- Rigidez (Rig)

A rigidez é uma propriedade obtida na fase elástica do material, determinada pela tangente do ângulo θ , formado pela reta AO (Figura 14). É dada pela seguinte equação:

$$R = \text{Tg}\theta = \frac{Cp}{Ap}$$

3.11 Análise Estatística

Os dados obtidos no ensaio mecânico foram analisados por meio do programa "Instat® v. 3.00" da Graphpad Software. A análise simultânea dos grupos foi realizada aplicando o teste ANOVA e, para comparação entre grupos, o teste Tukey-Kramer, ambos com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 Análise das propriedades mecânicas

As tabelas com os valores das propriedades mecânicas de carga no limite de proporcionalidade (CLP), alongamento no limite de proporcionalidade (ALP), carga no limite máximo (CLM), alongamento no limite máximo (ALM), e rigidez, dos gastrocnêmios de cada animal e, as figuras mostrando as curvas *versus* alongamento obtidas em cada ensaio mecânico dos 7 grupos experimentais estão apresentadas no Apêndice.

4.1.1 Carga no Limite Proporcionalidade (CLP)

O valor médio da carga no limite proporcionalidade (CLP) para o Grupo Controle foi de $(30,6 \pm 3,2)$ N; para o Grupo Controle Lesão foi de $(25,8 \pm 2,9)$ N; para o Grupo Lesão Laser foi de $(28,2 \pm 2,9)$ N; para o Grupo Lesão Imobilização 24h Laser foi de $(24,5 \pm 4,0)$ N; para o Grupo Lesão Imobilização 72h Laser foi de $(21,7 \pm 3,3)$ N; para o Grupo Lesão Imobilização 24h foi de $(30,4 \pm 2,7)$ N; e para o Grupo Lesão Imobilização 72h) foi de $(24,5 \pm 2,0)$ N, mostrado na figura 15.

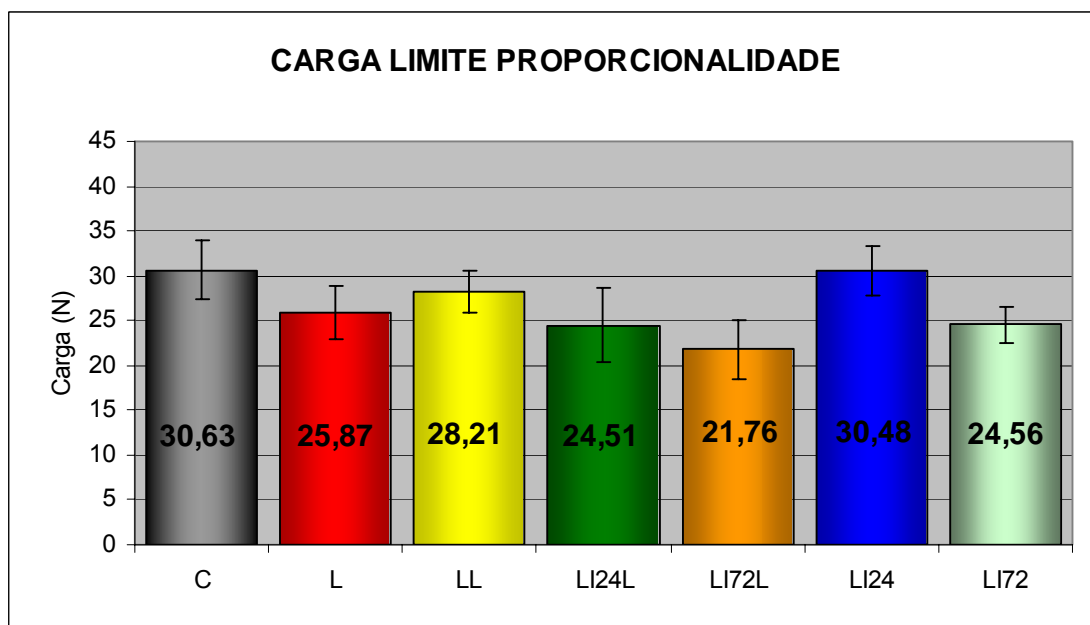


Figura 15. Gráfico representando a carga no limite de proporcionalidade dos grupos.

Os dados de carga no limite de proporcionalidade foram submetidos ao teste de Kolmogorov Smirnov e apresentaram distribuição normal, em seguida foi realizada a análise estatística paramétrica.

A análise simultânea dos grupos (ANOVA) apresentou diferença estatística ($p < 0,0001$). Por meio do teste de Tukey-Kramer foi possível observar diferença significativa entre o grupo Controle e os grupos Lesão, Lesão Imobilização 24h Laser, Lesão Imobilização 72h Laser e Lesão Imobilização 72h ($p < 0,001$). Houve diferença significativa entre os grupos Lesão e Lesão Imobilização 24h ($p < 0,01$); entre os grupos Lesão Laser e Lesão Imobilização 72h Laser ($p < 0,001$). Os grupos Lesão Imobilização 24h Laser e Lesão Imobilização 24h apresentaram diferença estatística ($p < 0,001$) assim como os grupos Lesão Imobilização 24h e Lesão Imobilização 72h ($p < 0,001$). Não houve diferença estatística entre as demais comparações.

4.1.2 Alongamento no Limite Proporcionalidade (ALP)

O valor médio do alongamento no limite de proporcionalidade (ALP) para o Grupo Controle foi de $(10,40 \pm 3,05)$ mm; para o Grupo Lesão foi de $(9,28 \pm 1,83)$ mm; para o Grupo Lesão Laser de $(10,14 \pm 3,88)$ mm; para o Grupo Lesão Imobilização 24h Laser de $(7,33 \pm 1,18)$ mm; para o Grupo Lesão Imobilização 72h Laser de $(6,36 \pm 1,75)$ mm para o Grupo Lesão Imobilização 24h $(8,08 \pm 1,99)$ mm e para o Grupo Lesão Imobilização 72h de $(7,62 \pm 1,66)$ mm, mostrado na figura 16.

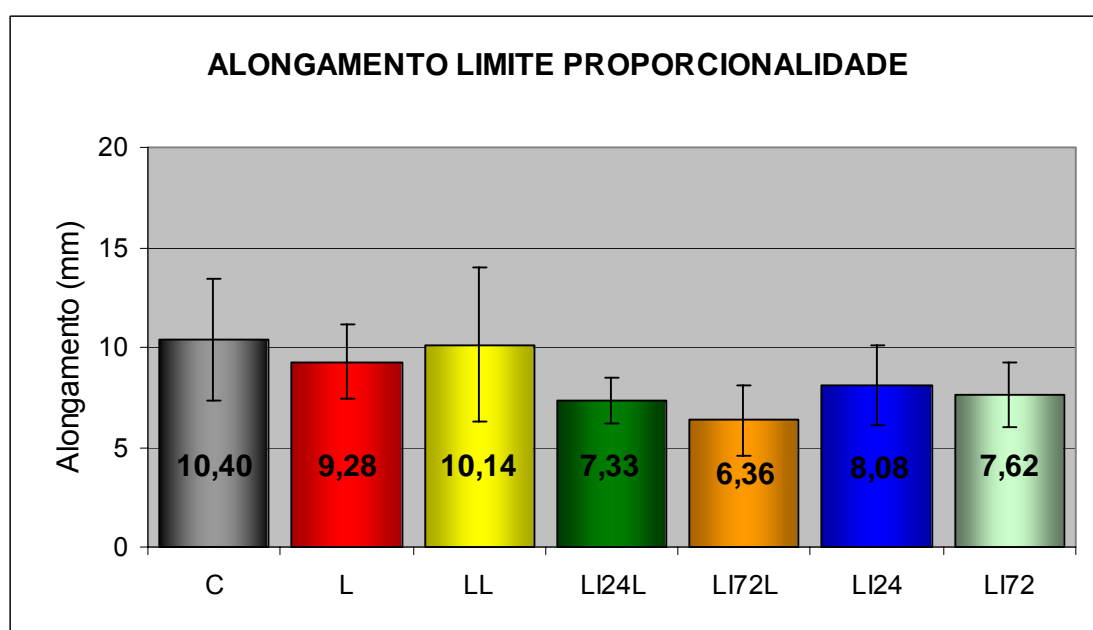


Figura 16. Gráfico representando o alongamento no limite de proporcionalidade dos grupos.

Os dados de alongamento no limite de proporcionalidade foram submetidos ao teste de Kolmogorov Smirnov e apresentaram distribuição normal, em seguida foi realizada a análise estatística paramétrica.

A análise simultânea dos grupos (ANOVA) apresentou diferença estatística ($p=0,0032$). Por meio do teste de Tukey-Kramer foi possível observar

diferença significativa entre o Grupo Controle e o Grupo Lesão Imobilização 72h Laser ($p < 0,05$), e entre o grupo Lesão Laser e o grupo Lesão Imobilização 72h Laser ($p < 0,05$). As demais comparações não apresentaram diferença significativa.

4.1.3 Carga no Limite Máximo (CLM)

O valor médio da carga no limite máximo (CLM) para o Grupo Controle foi de $(35,43 \pm 2,46)$ N; para o Grupo Lesão foi de $(28,05 \pm 3,25)$ N; para o Lesão Laser de $(31,33 \pm 2,74)$ N; para o Grupo Lesão Imobilização 24h Laser de $(27,48 \pm 3,71)$ N; para o Grupo Lesão Imobilização 72h Laser de $(24,32 \pm 3,99)$ N; para o Grupo Lesão Imobilização 24h de $(34,25 \pm 3,02)$ N; e para o Grupo Lesão Imobilização 72h de $(28,23 \pm 2,10)$ N, mostrado na figura 17.

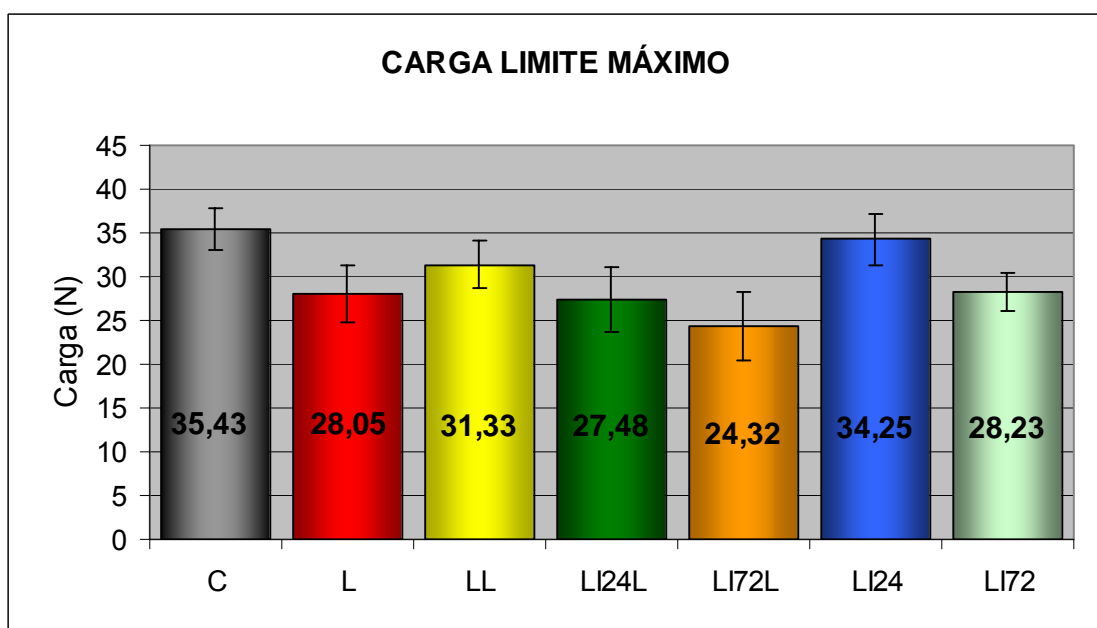


Figura 17. Gráfico representando a carga no limite máximo dos grupos.

Os dados de carga no limite máximo foram submetidos ao teste de Kolmogorov Smirnov e apresentaram distribuição normal, em seguida foi realizada a análise estatística paramétrica.

A análise simultânea dos grupos (ANOVA) apresentou diferença estatística ($p < 0,001$). Por meio do teste de Tukey-Kramer foi possível observar diferença significativa entre o Grupo Controle e os Grupos Lesão, Lesão Imobilização 24h Laser, Lesão Imobilização 72h Laser e Lesão Imobilização 72h ($p < 0,001$); entre os grupos Lesão e Lesão Imobilização 24h ($p < 0,001$); entre os Grupos Lesão Laser e Lesão Imobilização 72h Laser ($p < 0,001$); entre os grupos Lesão Imobilização 24h Laser e Lesão Imobilização 24h ($p < 0,001$); entre os grupos Lesão Imobilização 72h Laser e Lesão Imobilização 24h ($p < 0,001$) e entre os grupos Lesão Imobilização 24h e Lesão Imobilização 72h ($p < 0,001$). Não houve diferença estatística entre as demais comparações.

4.1.4 Alongamento no Limite Máximo (ALM)

O valor médio do alongamento no limite máximo (ALM) para o Grupo Controle foi de $(14,65 \pm 2,54)$ mm; para o Grupo Lesão foi de $(11,67 \pm 1,28)$ mm; para o Grupo Lesão Laser de $(13,07 \pm 3,56)$ mm; para o Grupo Lesão Imobilização 24h Laser de $(10,02 \pm 2,35)$ mm; para o Grupo Lesão Imobilização 72h Laser de $(8,48 \pm 1,62)$ mm; para o Grupo Lesão Imobilização 24h de $(11,31 \pm 1,86)$ mm; e para o Grupo Lesão Imobilização 72h de $(10,31 \pm 1,90)$ mm, mostrado na figura 18.

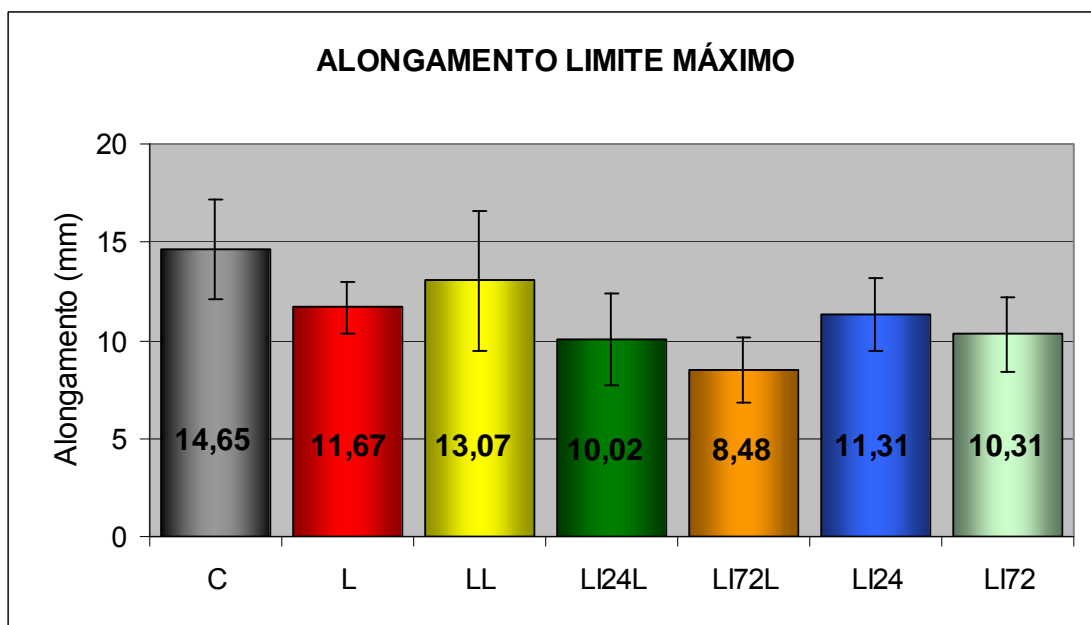


Figura 18. Gráfico representando o alongamento no limite máximo dos grupos.

Os dados de alongamento no limite máximo foram submetidos ao teste de Kolmogorov Smirnov e apresentaram distribuição normal, em seguida foi realizada a análise estatística paramétrica.

A análise simultânea dos grupos (ANOVA) apresentou diferença estatística ($p < 0,0001$). Por meio do teste de Tukey-Kramer foi possível observar diferença significativa entre o Grupo Controle e os Grupos Lesão Imobilização 24h Laser, Lesão Imobilização 72h Laser, Lesão Imobilização 72h ($p < 0,001$); e entre o Grupo Controle e o Grupo Lesão Imobilização 24h ($p < 0,05$). Houve diferença entre os grupos Lesão Laser e Lesão Imobilização 24h Laser ($p < 0,05$) e entre o Grupo Lesão Laser e Lesão Imobilização 72h Laser ($p < 0,01$). As demais comparações não apresentaram diferença significativa.

4.1.5 Rigidez (R)

O valor médio da Rigidez (R) para o Grupo Controle foi de $(3,91 \pm 0,67) \times 10^3 \text{N/m}$; para o Grupo Lesão foi de $(2,85 \pm 0,59) \times 10^3 \text{N/m}$; para o Grupo Lesão Laser de $(3,51 \pm 0,92) \times 10^3 \text{N/m}$; para o Grupo Lesão Imobilização 24h Laser de $(3,67 \pm 1,44) \times 10^3 \text{N/m}$; para o Grupo Lesão Imobilização 72h Laser de $(3,48 \pm 1,06) \times 10^3 \text{N/m}$; para o Grupo Lesão Imobilização 24h de $(3,87 \pm 0,79) \times 10^3 \text{N/m}$; e para o Grupo Lesão Imobilização 72h de $(3,43 \pm 0,76) \times 10^3 \text{N/m}$, mostrado na figura 19.

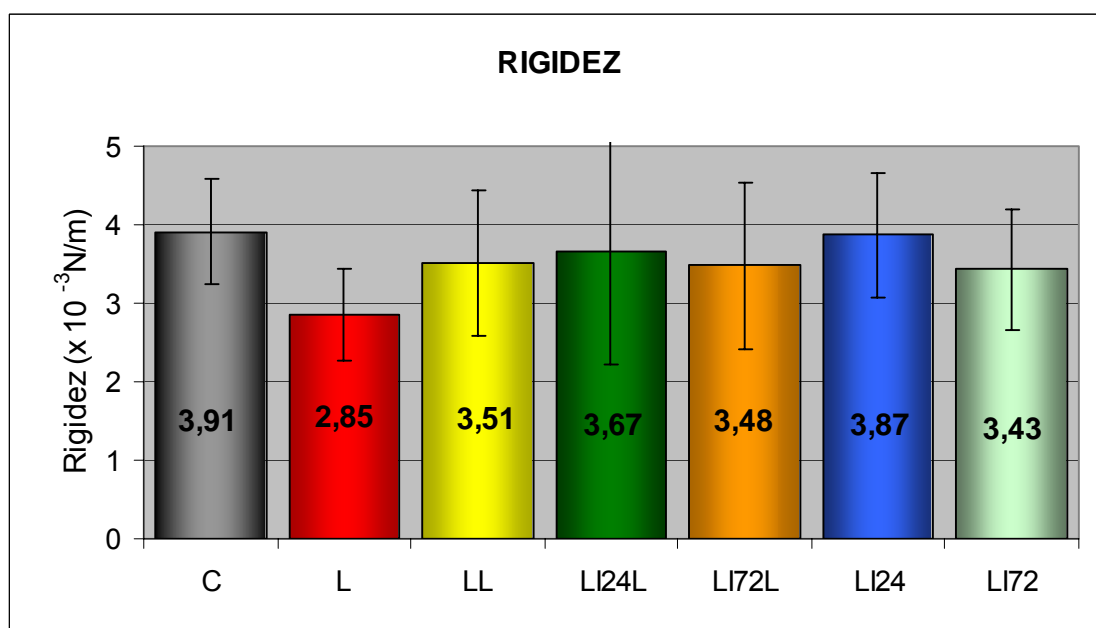


Figura 19. Gráfico representando a propriedade de rigidez dos grupos.

Os dados da propriedade Rigidez foram submetidos ao teste de Kolmogorov Smirnov e apresentaram distribuição normal, em seguida foi realizada a análise estatística paramétrica.

A análise simultânea dos grupos (ANOVA) não apresentou diferença estatística ($p = 0,1357$).

5 DISCUSSÃO

A contusão muscular é uma lesão que ocorre comumente durante atividades esportivas. Os principais músculos lesados são o reto femoral, semitendinoso e o gastrocnêmio (JÄRVINEN et al. 2000).

A reprodução desse tipo de trauma foi possível, por meio de um aparelho experimental de indução da lesão muscular que promoveu o impacto direto de forma não invasiva.

O modelo utilizado foi produzido baseado nos aparelhos propostos por Stratton et al. (1984) e Minamoto et al. (1999), com algumas adaptações a fim de promover de forma fidedigna a lesão, além de proporcionar um sítio de lesão tratável.

Vários animais têm sido utilizados em estudos experimentais. Neste, optamos pelo rato, por ser um animal de fácil manuseio, baixo custo, resistente a anestesia e com estrutura músculo esquelética semelhante a do homem (SCHULTZ e LIPTON, 1982; PACHIONI, 1996).

A idade dos animais selecionados foi entre 10-12 semanas pois, de acordo com Schultz e Lipton (1982) nesta idade os animais possuem alto potencial de regeneração muscular.

O músculo escolhido foi o gastrocnêmio por sua localização e função, pois, segundo Järvinen et al. (1992), este músculo trabalha sob condições de atividade física extrema, aumentando o risco de lesões e rupturas, além de

apresentar altos índices de lesão na prática desportiva (CARAZZATO, 1994 e JARVINEN et al. 2000).

Os animais selecionados para este estudo foram com idade entre 10-12 semanas pois, de acordo com Schultz e Lipton (1982), estes animais possuem alto potencial de regeneração muscular.

O laser de baixa intensidade é um recurso de uso relativamente novo no tratamento dos distúrbios do sistema músculo esquelético, porém apresenta resultados satisfatórios no tratamento de diversas afecções.

Neste trabalho a bioestimulação Laser foi iniciada 2 horas após a produção da lesão muscular, segundo protocolo proposto por Amaral et al. (2001), entretanto o período experimental foi adaptado para 8 dias com dose de 3 J/cm². Este período no qual os animais foram submetidos a diferentes terapêuticas foi escolhido porque optamos por avaliar o comportamento mecânico do músculo lesado sob influência da irradiação laser na fase aguda. A dose foi de 3 J/cm² pois de acordo com Ortiz et al. (2001) e Guirro e Guirro, 2002 essa dose têm efeitos analgésicos, antiinflamatórios e regenerativos.

Os processos de regeneração muscular seguido de lesão tem sido amplamente estudados, e, por conseguinte, as fase de reparo bem definidas.

Trabalhos realizados por autores como Weiss e Oron (1992); Bibikova e Oron (1994); Amaral et al. (2001); Vladimirov et al. (2004) e Karu (2003) mostram que a bioestimulação laser modula vários processos em diferentes sistemas biológicos.

No sistema muscular o processo de reparo é iniciado pela ativação das células satélites que se diferenciam em mioblastos, fundem-se e regeneram a fibra lesionada, este ciclo é mediado por fatores químicos e hormonais liberados logo

após o trauma nas primeiras 24 horas e pode continuar por até 10 dias dependendo da gravidade da lesão (HUARD et al. 2002; PRISK e HUARD, 2003).

Os efeitos promovidos pelo laser no músculo após lesão tem resultados histológicos documentados (Amaral et al. 2001), além de ser uma linha de pesquisa amplamente explorada. Por outro lado, poucos foram os trabalhos encontrados na literatura que estudaram o comportamento mecânico dos tecidos biológicos frente a agentes terapêuticos.

A imobilização gessada foi incorporada ao estudo, pois é uma forma de tratamento comumente utilizada nas lesões moderadas e graves, embora a mobilização precoce seja atualmente o método de escolha para muitas lesões.

Järvinen et al. (1993) e Kaariainen et al. (2001) imobilizaram músculos gastrocnêmios dos animais por curtos períodos (3 a 5 dias) e remobilizaram ativamente, concluindo que esta terapêutica promove bons resultados em relação às propriedades mecânicas.

Em contrapartida, a imobilização prolongada utilizada após lesões musculares graves causa acentuada atrofia, alterações na regeneração de miofibrilas e, como consequência, pode aumentar o risco de lesões (KAARIAINEN, et al., 1998).

A pata traseira direita da rata foi imobilizada em posição encurtada, visto que, nesta posição ocorre maior grau de atrofia, diminuição de sarcômeros e conseqüentemente do comprimento muscular (WILLIAMS, 1987 e SALVINI, 2000).

O ensaio mecânico de tração foi escolhido por possibilitar a preservação das características fisiológicas do complexo testado, posto que a análise da estrutura inteira reproduz melhor a solicitação mecânica a que a estrutura é submetida durante situações reais.

A mensuração das propriedades mecânicas consiste numa ferramenta de estudo muito útil, pois fornece conhecimentos relevantes sobre as adaptações e alterações nas diferentes demandas funcionais (CAIOZZO, 2002).

Na comparação dos valores médios da carga no limite de proporcionalidade foi observado que o grupo lesão assumiu valores estatisticamente menores em relação ao grupo controle ($p < 0,05$), o que significa que a lesão foi efetiva e provocou alterações que fizeram com que o tecido muscular se deformasse suportando uma menor carga.

Este resultado é confirmado pelo trabalho de Oliveira (2004), que ressalta a importância da integridade muscular frente a imposição de cargas.

A diminuição da carga no limite de proporcionalidade provavelmente torna o músculo mais susceptível a lesões recorrentes, já que o tecido suporta menor carga.

Os grupos Lesão Laser e Lesão Imobilização 24h não apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle, o que significa que provavelmente as terapêuticas experimentais utilizadas são efetivas na reparação.

Em relação a propriedade de alongamento no limite de proporcionalidade houve diferença estatística entre o grupo Controle e o grupo Lesão imobilização 72h Laser, sugerindo que a associação do laser com a imobilização por 72h não promoveu melhora da propriedade. Entre o grupo Lesão Laser e o grupo Lesão Imobilização 72h Laser houve diferença estatística mostrando que o uso do laser isolado promoveu melhora da propriedade. Entre as demais comparações não houve diferença estatística.

Quando os valores médios da carga no limite máximo são comparados foi observada diferença estatística entre o grupo controle e os grupos Lesão, Lesão

Imobilização 24h Laser, Lesão Imobilização 72h Laser e Lesão Imobilização 72h. Estes dados mostram que houve diminuição desta propriedade de 21%, 22,4%, 31,3% e 20,3% respectivamente ($p > 0,0001$), o que significa que os grupos lesão e lesados e irradiados suportam uma carga menor em relação ao controle. Portanto, a associação da terapia laser com imobilização não promoveu melhora nesta propriedade mecânica.

Neste estudo, não foi observada diferença estatística na carga no limite máximo entre o grupo Controle e os grupos Lesão Laser e Lesão Imobilização 24h, entretanto, houve queda de 11,57 e 3,33%, respectivamente. Estes resultados sugeriram que o uso de cada modalidade terapêutica isolada foi mais efetivo na melhora propriedade.

Na comparação entre o grupo Lesão e os grupos Lesão Laser, Lesão Imobilização 24h Laser, Lesão Imobilização 72h Laser e Lesão Imobilização 72h não houve diferença significativa, contudo foi observada uma tendência a melhora da propriedade nos quatro grupos submetidos respectivamente a irradiação laser e imobilização por 24h; irradiação laser e imobilização 72 horas e irradiação laser e imobilização por 72h.

O grupo Lesão Imobilização 24h comparado ao grupo Lesão apresentou diferença estatística ($p < 0,001$), mostrando uma melhora na propriedade de 22,9%, o que sugere que a imobilização por 24 horas foi efetiva.

Na propriedade mecânica de alongamento no limite máximo, apesar de não apresentar diferença estatística entre os grupos Controle e Lesão Laser em relação ao grupo lesão, houve uma melhora na propriedade de respectivamente, 25,6% e 14,5%, ou seja, a capacidade de alongamento destes músculos frente a

imposição de cargas no grupo irradiado com laser aumentou em relação ao grupo lesão.

O grupo Controle quando comparado aos demais apresentou diferença significativa, o que significa que os grupos tratados com a associação de imobilização e bioestimulação laser ou somente com imobilização, assumiram valores menores de alongamento no limite máximo em relação ao grupo controle.

Na comparação entre o grupo Lesão Laser e os grupos submetidos a irradiação laser e imobilizados por 24 e 72 horas respectivamente, houve diferença significativa, sugerindo que a utilização do laser isolado da imobilização é mais efetivo.

Entretanto, o grupo Lesão Laser assumiu valores de alongamento no limite máximo que aproximaram do grupo controle, sugerindo que este grupo suporta uma carga maior se alongando mais.

Na comparação entre o grupo controle e os grupos Lesão Imobilização 24h Laser, Lesão Imobilização 72h Laser e Lesão Imobilização 72h houve diferença significativa. Estes dados mostram que essas intervenções terapêuticas, analogamente aos dados de carga no limite máximo, não promoveram melhora na propriedade, pois estes grupos assumiram valores inferiores ao do grupo controle.

Em relação à rigidez, não foi observada diferença significativa ($p=0,1743$), embora os grupos submetidos aos tratamentos tenham assumido valores menores quando comparados ao grupo controle.

O laser é um recurso terapêutico que apresentou resultados histológicos quando utilizado no processo de reparo muscular, embora não existam estudos que tenham testado mecanicamente esse material biológico avaliando suas propriedades.

Outro fator limitante é em relação a associação da imobilização gessada com a terapia laser. A falta de estudos que analisem e quantifiquem os efeitos dessa associação de modalidades terapêuticas provavelmente limitou a interpretação das possíveis alterações promovidas por estes recursos.

O estudo do comportamento mecânico dos materiais biológicos é importante, pois o objetivo a ser atingido é a melhora destas propriedades, instituindo um protocolo de tratamento de qualidade que proporcione ao paciente retorno às suas atividades esportivas e de vida diária.

6 CONCLUSÕES

A análise mecânica mostrou que a produção da lesão muscular por mecanismo de impacto foi eficiente.

A intervenção terapêutica instituída por meio da irradiação laser de baixa intensidade promoveu aumento das propriedades mecânicas de carga e alongamento no limite máximo e carga no limite de proporcionalidade dos músculos submetidos a lesão.

A associação da imobilização por 24 e 72 horas à terapia laser não promoveu a melhora esperada das propriedades mecânicas do tecido. O uso isolado de cada modalidade neste estudo foi mais efetivo.

REFERÊNCIAS

ALLBROCK, D.; BAXTER, N.C.; KIRKALDY-WILL, W.H. (1962). Muscle regeneration in experimental animal and in man. **Journal of Bone and Joint Surgery**, Boston, v.48, p.153-169.

AMARAL, A.C.; PARIZZOTTO, N.A.; SALVINI, T.F. (2001). Dose-dependency of low-energy HeNe laser effect in regeneration of skeletal muscle in mice. **Lasers in Medical Science**, Godalming, v.16, n.1, p.44-51.

APPELL, H.J. (1986). Morphology of immobilized skeletal muscle and the effects of a pre and postimmobilization training program. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v.7, n.1, p.6–12.

_____. (1990). Muscular atrophy following immobilization: a review. **Sports Medicine**, Auckland, v.10, n.1, p.42–58.

ARMSTRONG, R.B.; PHELPS, R.D. (1984). Muscle fiber type composition of rat hindlimb. **American Journal of Anatomy**, Lancaster, v.171, n.3, p.259-272.

BAXTER, G.D. (1994). **Therapeutic lasers: theory and practice**. Edinburgh: Churchill Livingstone.

_____. (1997). _____. Edinburgh: Churchill Livingstone.

BECKERMAN, H. et al. (1992). The efficacy of laser therapy for musculoskeletal and skin disorders: a criteria-based met-analysis of randomized clinical trials. **Physical Therapy**, Chicago, v.72, n.7, p.483- 491, July.

BIBIKOVA, A.; ORON, V. (1994). Attenuation of the process of muscle regeneration in the toad gastrocnemius muscle by low-energy laser: radiation. **Laser in Surgery and Medicine**, New York, v.14, n.4, p.355-361.

BIBIKOVA, A.; ORON, V. (1995). Regeneration in denervated toad (*bufo viridis*) gastrocnemius muscle and the promotion of the process by low energy laser irradiation. **The Anatomical Record**, v. 241, p.123-128.

BISCHOFF, F.W. (1994). The satellite cell and muscle regeneration. In _____ Basic and clinical. 2ed. New York: McGraw Hill, p. 89-125.

BOOTH, F.W. (1977). Time course of muscular atrophy during immobilization of hindlimbs in rats. **Journal Applied of Physiology**, Bethesda, v.43, n.4, p.656-661, Oct.

_____. (1987). Physiologic and biochemical effects of immobilization on muscle. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, Philadelphia, n.219, p.15- 20, June.

BOOTH, F.W.; SEIDER, M.J. (1979). Early change in skeletal muscle protein synthesis after limb immobilization of rats. **Journal Applied of Physiology**, Bethesda, v.47, n.5, p.974-977, Nov.

BRUGNERA Jr.; A.; PINHEIRO, A.L.B. (1998). **Lasers na odontologia moderna. São Paulo: Pancast.**

BUCKWALTER, J.A.; GRODZINSKI, A.J. (1999). Loading of healing bone, fibrous tissue and muscle: implications for orthopaedic practice. **Journal American Academy Orthopaedics Surgery**, Boston, v.7, n.5, p.291–299, Sept./Oct.

BULYAKOVA, N.V.; AZAROVA, V.S. (1994). Comparative study of regeneration of skeletal muscles in adult rats and guinea pigs of the laser therapy. **Cell Biology**, v.337, n. 6, p.818- 820.

CAIOZZO, V.J. (2002). Plasticity of skeletal muscle phenotype: mechanical consequences. **Muscle & Nerve**, New York, v.26, n.6, p.740–768, Dec.

CARAZZATO, J.G. (1994). Lesões músculo-esqueléticas e seu tratamento. **Revista Brasileira de Ortopedia**, Belo Horizonte, v.29, p.723-728.

CARLSON, B.M.; FAULKNER, J.A. (1983). The regeneration of skeletal muscle fibers following injury: a review. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Madison, v.15, n.3, p.187-198.

CARVALHO, C.M.M.; SHIMANO, A.C.; VOLPON, J.B. (2002). Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, Rio de Janeiro, v.18, n.2, p.65–73.

COOMBE, A.R. et al. (2001). The effects of low level laser irradiation on osteoblastic cells. **Clinical Orthodontics & Research**, Copenhagen, v.4, n.1, p.3-14, Feb.

CORNWALL, M.W. (1984). Biomechanics of non contractile tissue: a review. **Physical Therapy**, Chicago, v.64, n.12, p.1869-1873.

CRISCO, J.J. et al. (1994). A muscle contusion injury model. Biomechanics, physiology and histology. **American Journal of Sports Medicine**, Columbus, v.22, n.5, p.702-710.

CROISIER, J.L. et al. (2002). Hamstring muscle strain recurrence and strength performance disorders. **American Journal of Sports Medicine**, Columbus, v.30, n.2, p.199-203, Mar./Apr.

DIMARIO, J.; STROHMAN, R.C. (1998). Satellite cells from dystrophic mouse muscle are stimulated by fibroblast growth factors in vitro. **Differentiation**, London, v.39, n.1, p.42-49.

FISCHER, R.D. et al. (1990). Ultrastructural events following acute muscle trauma. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.22, n.2, p.185-193, Apr.

GARRETT, W.E. et al. (1984). Recovery of skeletal muscle after laceration and repair. **Journal of Hand Surgery – American**, Nepeville, v.9A, n.5, p.683-692.

GARRETT, W.E. (1990). Muscle strain Injuries: clinical and basis aspects. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.22, n.4, p.436-443, Aug.

_____. (1996). Muscle strain injuries. **American Journal of Sports Medicine**, Columbus, v.24, p.S2-S8. Suppl.

GOLDMAN, J.A. et al. (1980). Laser therapy of rheumatoid arthritis. **Athritus and Reumatism**, New York, v.23, n.6, p.682.

GOLDSPINK, G. (1998). Selective gene expression during adaptation of muscle in response to different physiological demands. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part B: biochemistry and molecular biology, Oxford, v.120, n.1, p.5-15, May.

GONZÁLEZ, M.V.; CRUÑAS, J.C. (1988). Comportamiento de la luz en la interacción con los tejidos en especial el laser de baja potencia. **Boletim do Centro de Documentación Laser de Meditec**, n.15, p.6-21.

GUIRRO, E.C.O.; GUIRRO, R.R.J. (2002). Laser. In: _____. **Fisioterapia dermatofuncional: fundamentos – recursos – patologias**. 3.ed. Barueri: Manole. Cap.8, p.209-222.

GUYTON, A.C. (1973). Contração do músculo. In: _____. **Tratado de fisiologia médica**. Tradução de Alcyr Kraemer. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap.7, p.75–92.

GROUND, M.D. (1991). Towards understanding skeletal muscle regeneration. **Pathology Research and Practice**, Stuttgart, v.187, n.1, p.1-22, Jan.

HECHT, J. (1992). **The laser guidebook**. 2nded. New York: McGraw Hill.

HONDA, H.; KIMURA, H.; ROSTAMI, A. (1990). Demonstration and phenotype characterization of resistant macrophages in rat skeletal muscle. **Immunology**, Oxford, v.70,n.2, p.272-277.

HONMURA, A. et al. (1993). Therapeutic effect of AsGaAl diode laser irradiation on experimentally inflammation in rats. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v.12, n.4, p.441-449.

HUARD, T.; Li, Y.; FU, F.H. (2002). Current concepts review – muscle injuries e repair: current trends in research. **Journal of Bone and Joint Surgery - American**, Boston, v.84A, n.5, p.822-832, May.

HURME, T. et al. (1991). Healing of skeletal muscle injury: ultrastructural and immunohistochemical study. **Medicine and Science in Sports Exercise**, Madison, v.23, n.7, p.801-810, July.

HURME, T.; KALIMO, H. (1992). Activation of myogenic precursor cells after muscle injury. **Medicine and Science in Sports Exercise**, Madison, v.24, p.197-205.

JÄRVINEN, M.J. (1977). Immobilization effect on the tensile properties of striated muscle: an experimental study in the rat. **Archives of Physicaql Medicine and Rehabilitation**, Chicago, v.58, n.3, p.123-127, Mar.

JÄRVINEN, M.J.; Einola, S.A.; Virtanen, O.E. (1992). Effect of the position of immobilization upon the tensile properties of the rat gastrocnemius muscle. **Archives of Physicaql Medicine and Rehabilitation**, Chicago, v.73, p.253-257, Mar.

JÄRVINEN, M.J.; LETHO, M.V. (1993). The effects of early mobilization and immobilization on the healing process following muscle injuries. **Sports Medicine**, Aukland, v.15, n.2, p.78-89, Feb.

JÄRVINEN, T.A. et al. (2000). Muscle strain injuries. **Current Opinion in Rheumatology**, Philadelphia, v.12, n.2, p.155-161, Mar.

KAARIAINEN, M. et al. (1998). Correlation between biomechanical and structural changes during the regeneration of skeletal muscle after laceration injury. **Journal of Orthopaedic Research**, New York, v.16, n.2, p.197-206, Mar.

_____. (2001). Regulation of alpha 7 integrin by mechanical stress during skeletal muscle regeneration. **Neuromuscular Disorders**, Oxford, v.11, n.4, p.360-369, May.

KASEMKIJWATTANA, C. et al. (1998). Development of approaches to improve the healing following muscle contusion. **Cell Transplantation**, Elmsford, v.7, n.6, p.585-598, Nov./Dec.

KARU, T.I. (1985). Photochemistry of the regulation of cellular metabolism with low-intensity visible light. **SRCTL de la Academia Ciências de la URSS**, v.8, p.1-56.

_____. (1987). Photobiological fundamentals of low power laser therapy. **IEEE Journal of Quantum Electronics**, New York, v.23, n.10, p.1703-1717, Oct.

_____. (1998). The science of low power laser therapy. Amsterdam: **Gordon & Breach Science**

_____. (2003). **Low power laser therapy**. New York: CRC Press. p.485-841.

KITCHEN, S.S.; PARTRIDGE, C.J. (1991). A review of low level laser therapy. **Physiotherapy**, London, v.77, n.3, p.161-168.

KUBASOVA, T. et al. (1984). Biological effect of HeNe laser investigations on functional and micromorphological alterations of cell membranes, in vitro. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v.4, n.4, p.381-388.

LAAKSO, L.; RICHARDSON, C.; CRAMOND, T. (1993). Factors affecting low level laser therapy. **Australian Journal Physiotherapy**, Melbourne, v.39, n.2, p.95-99.

LASER WORLD. The Level Laser Therapy – LLLT Internet Guide (2004). **Laser therapy FDA news**: food and drug administration approves laser therapy. 2002. Disponível em: <<http://www.laser.nu/lllt/fda.htm>>. Acesso em: 2 June.

LEHTO, M.; JÄRVINEN, M.J. (1991). Muscle injuries, their healing process and treatment. **Annales Chirurgiae et Gynaecologiae**, Helsinki, v.80, n.2, p.102-108.

LIEBER, R.L.; FRIDÉN, J. (2001). Clinical significance of skeletal muscle architecture. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, Philadelphia, n.383, p.140-151, Feb.

LUGER, E.J. et al. (1998). Effect of low power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v.22, n.2, p.97-102.

MARCOS, R.L. (2001). **Avaliação do efeito da radiação laser AsGaAl (630-680) no modelo experimental de fadiga muscular induzida por estimulação elétrica em ratos**. 56p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. 2002.

McLENNAN, I.S. (1996). Degenerating and regenerating skeletal muscle contain several subpopulations of macrophages with distinct spatial and temporal distributions. **Journal of Anatomy**, London, v.188, pt.1, p.17-28, Feb.

MAURO, A. (1961). Satellite cell of skeletal muscle fibers. **Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, New York, v.9, n.2, p.493- 495.

MAX, S.R.; MAYER, R.F.; VOGELSAN, L. (1971). Lysosomes and disuse atrophy of skeletal muscle. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v.146, n.1, p.227-232.

MESTER, E. et al. (1971). Effects of laser rays on wound healing. **American Journal of Surgery**, New York, v.122, n.4, p.532-535, Oct.

MESTER, E.; MESTER, A.F.; MESTER, A. (1985). The biomedical effects of laser application. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v.5, n.1, p.31-39.

MINAMOTO, V.B.; GRAZZIANO, C.R.; SALVINI, T.F. (1999). Effect of single and periodic contusion on the rat soleus muscle at different stages of regeneration. **Anatomical Record**, Philadelphia, v.254, n.2, p.281-287, Feb.

MUSACCHIA, X.J.; STEFEN, J.M.; FELL, R.D. (1988). Disuse atrophy of skeletal muscle: animal models. **Exercise and Sports Science Reviews**, Philadelphia, v.16, p.61-87.

OLIVEIRA, N.M.L.; PARIZZOTTO, N.A.; SALVINI T, F. (1999). GaAs (904-Nm) laser radiation does not affect muscle regeneration in mouse skeletal muscle. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v.25, n.1, p.13-21.

OLIVEIRA, F.B. (2004). **O ultra-som terapêutico adicionado à imobilização gessada nas propriedades mecânicas reparação muscular pós-trauma por mecanismo de impacto**. 126p. Dissertação (mestrado) – Programa Interunidades em Bioengenharia EESC/FMRP/IQSC,. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

ORCHARD, J.; BEST, T. (2002). The management of muscle strain injuries: an early return versus the risk of recurrence. **Clinical Journal of Sports Medicine**, Philadelphia, v.12, n.1, p.3-5, Jan.

ORTIZ, M.C.S. et al. (2001). Laser de baixa intensidade princípios e generalidades - parte 1. **Revista Fisioterapia Brasil**, Rio de Janeiro, v.2, n.4, p.221-240.

PACHIONI, C.A.S. (1996). **Lesão por estiramento do músculo soleus: estudo experimental em ratos**. 60p. Dissertação (Mestrado) – Programa Interunidades em Bioengenharia FMRP/EESC, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 1996.

PARIZOTTO, N.A. (1998). **Ação do laser de hélio-neônio sobre o processo de reparo tecidual: um estudo do colágeno por microscopia eletrônica de varredura**,

microscopia de força atômica e espectroscopia por infravermelho. 181p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1998.

PRENTICE, W.E. (2002). Laser de baixa potência. In: MODALIDADES terapêuticas em medicina esportiva. 4.ed. São Paulo: Manole. Cap.11, p.246-265.

PRISK, V.; HUARD, J. (2003). Muscle injuries and repair: the role of prostaglandins and inflammation. **Histology and Histopathology**, Murcia, v.18, n.4, p.1243-1256, Oct.

RANTANEN, J. et al. (1995). Satellite cell proliferation and the expression of myogenin and desmin in regeneration skeletal muscle - evidence for 2 different populations of satellite cells. **Laboratory Investigation**, New York, v.72, n.3, p.341-347, Mar.

ROBINSON, A.J.; SNYDER-MACKLER, L. (2001). **Eletrofisiologia clínica**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed.

ROCHKIND, S.; OUAKNINE, G.E. (1992). New trend in neuroscience: low-power laser effect on peripheral and central nervous system (basic science, preclinical and clinical studies). **Neurological Research**, Leeds, v.14, n.1, p.2-11, Mar.

ROBERTSON, T.A. et al. (1983). The role of macrophages in skeletal muscle regeneration with particular reference chemotaxis. **Experimental Cell Research**, New York, v.207, n.2, p.321-331, Aug.

SALTER, R.B. (1985). Estrutura e função normal dos tecidos musculoesqueléticos. In: _____. **Distúrbios do sistema músculo esquelético**. Tradução de Carlos Naschpitz. 2.ed. Rio de Janeiro: MEDSI. Cap.2, p.7-24.

SALVINI, T.F. (2000). Plasticidade e adaptação postural dos músculos esqueléticos. In: MARQUES, A.P. **Cadeias musculares: um programa para ensinar avaliação fisioterapêutica global**. São Paulo: Manole. p.3-14.

SCHAFFER, M. et al. (2000). Effect of 780 nm diode laser irradiation on blood microcirculation preliminary findings on time-dependent T1 weighted contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI). **Journal of Photochemistry and Photobiology – B-biology**, Lausanne, v.54, n.1, p.55-60, Jan.

SCHINDL, A. et al. (2000). Low-intensity laser therapy: a review. **Journal of Investigative Medicine**, Thorofare, v.48, n.5, p.312-326, Sept.

SCHLAGER, A. et al. (2000). Low-power laser light in the healing of burns: a comparison between two different wavelengths (635 nm and 690 nm) and a placebo group. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v.27, n.1, p.39-42.

SCHULTZ, E.; LIPTON, B.H. (1982). Skeletal muscle satellite cells: changes in proliferation potential as a function of age. **Mechanisms of Ageing and Development**, Ireland, v.20, n.4, p.377-383.

STRATTON, S.A. et al. (1984). Therapeutic ultrasound, its effects on the integrity of a nonpenetrating wound. **Journal Orthopaedic and Sports Physical Therapy**, Alexandria, v.5, n. 5 , p.278-281, mar.

TIDBALL, J.G. (1995). Inflammatory cell response to acute muscle injury. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.27, n.7, p.1022-1032, July.

TRELLES, M.A.; MAYAYO, E. (1987). Bone fracture consolidates faster with low-power laser. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v.7, n.1, p.36-45.

TUCKER, K.R. et al. (1981). Protein synthesis rates in atrophied gastrocnemius muscles after limb immobilization. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.51, n.1, p.73-77, July.

TURNER, J.; HODE, L. (1999). **Low level laser therapy: clinical practice an scientific**. Grängesberg: Prima Books.

VAN BREUGEL , H.H.; BAR, P.R. (1993). HeNe laser irradiation affects proliferation of cultured rat Schwann cells in a dose dependent manner. **Journal of Neurocytology**, Hampshire, v.23, n.3, p.185-190, Mar.

VLADIMIROV, Y.A.; OSIPOV, A.N.; KLEBANOV, G.I. (2004). Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. **Biochemistry**, Moscow, v.69, n.1, p.81-90, Jan.

VEÇOSO, M.C. (1993). **Laser em fisioterapia**. São Paulo: Lovise Científica.

VERRAL, E.M. et al. (2001). Clinical risk factors for hamstring muscle strain injury: a prospective study with correlation of injury by magnetic resonance imaging. **British Journal of Sports Medicine**, London, v.35, n.6, p.435-439, Dec.

WEISS, N.; ORON, U. (1992). Enhancement of muscle regeneration in the rat gastrocnemius muscle by low energy laser radiation. **Anatomy and Embryology**, Berlin, v.186, n.5, p.497-450, Oct.

WILLIAMS, R. (1987). Production and transmission of ultrasound. **Physiotherapy**, London, v.73, p.113-116,.

YAAKOBI, T.; MALTZ, L.; ORON, U. (1996). Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (HeNe) irradiation. **Calcified Tissue International**, New York, v.59,n.4, p.297-300, Oct.

APÊNDICES

Apêndice A – Curvas carga *versus* alongamento.

As figuras de 20 a 26 apresentam as curvas *versus* alongamento dos 7 grupos experimentais.

Figura 20.. Curvas carga versus alongamento do Grupo Controle (C)

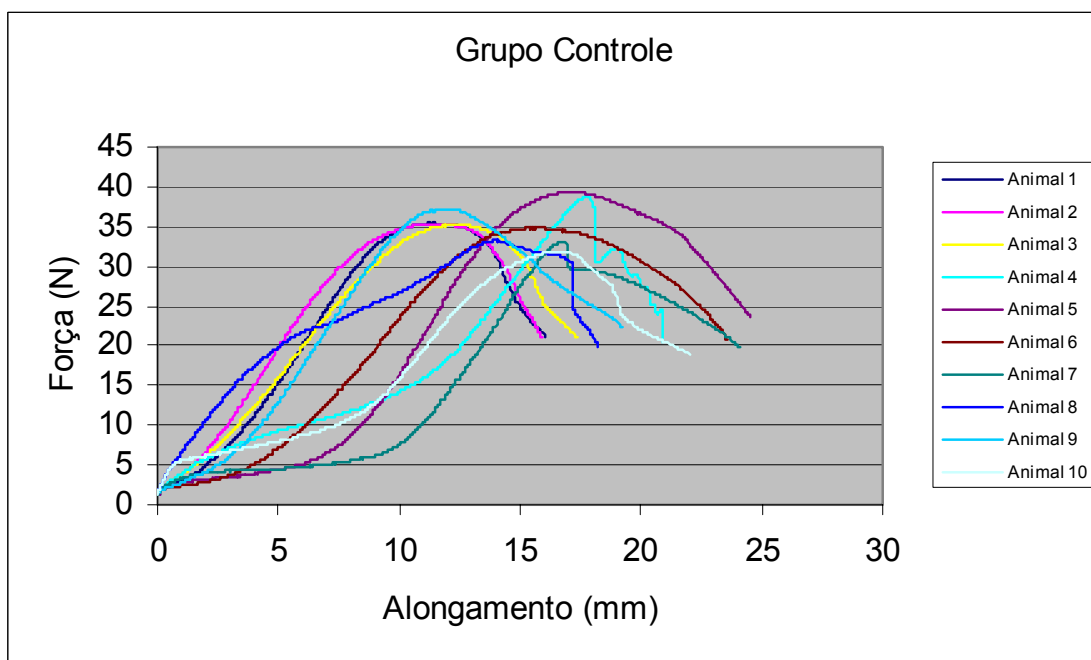


Figura 21. Curvas carga versus alongamento do Grupo Lesão (L)

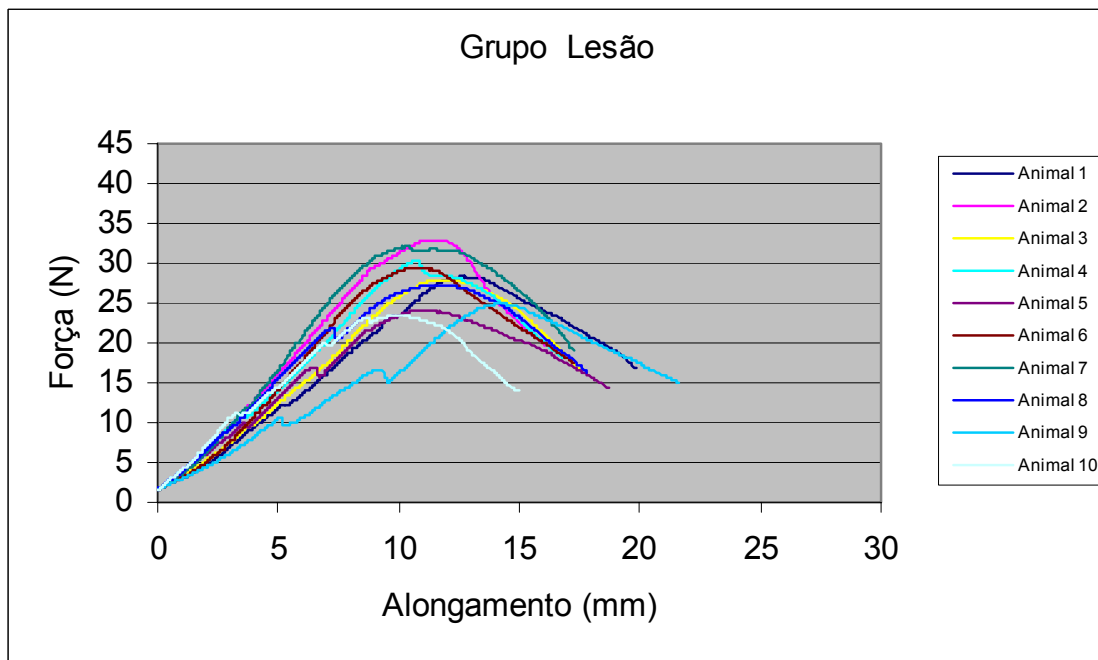


Figura 22. Curvas carga versus alongamento do Grupo Lesão Laser (LL)

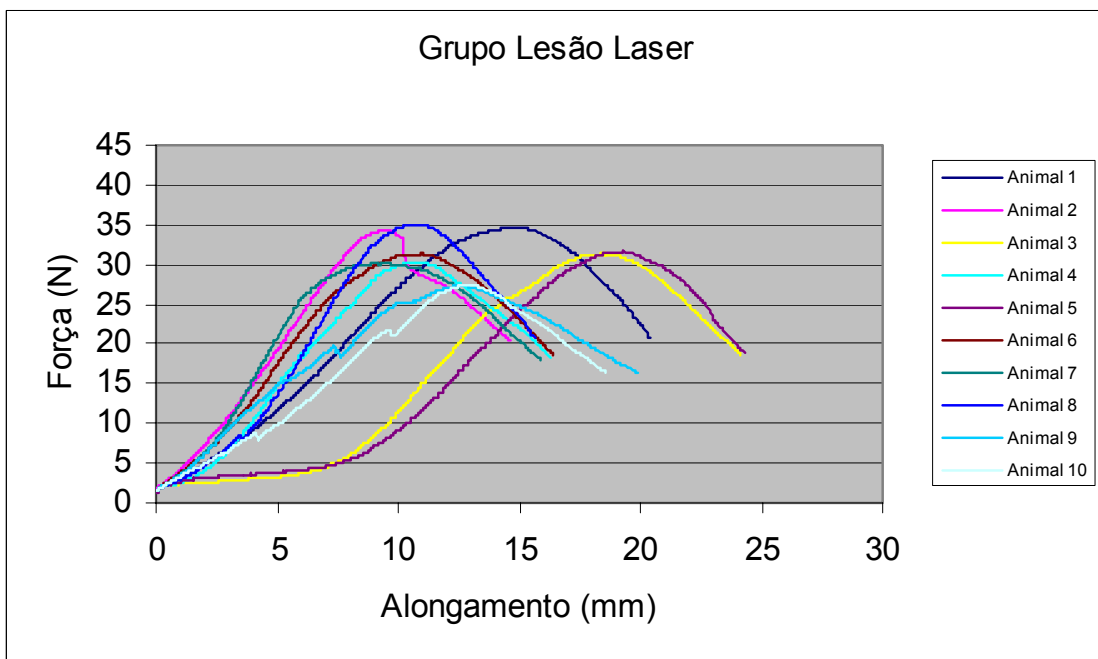


Figura 23. Curvas carga versus alongamento do Grupo Lesão Imobilização 24h Laser (LI24L)

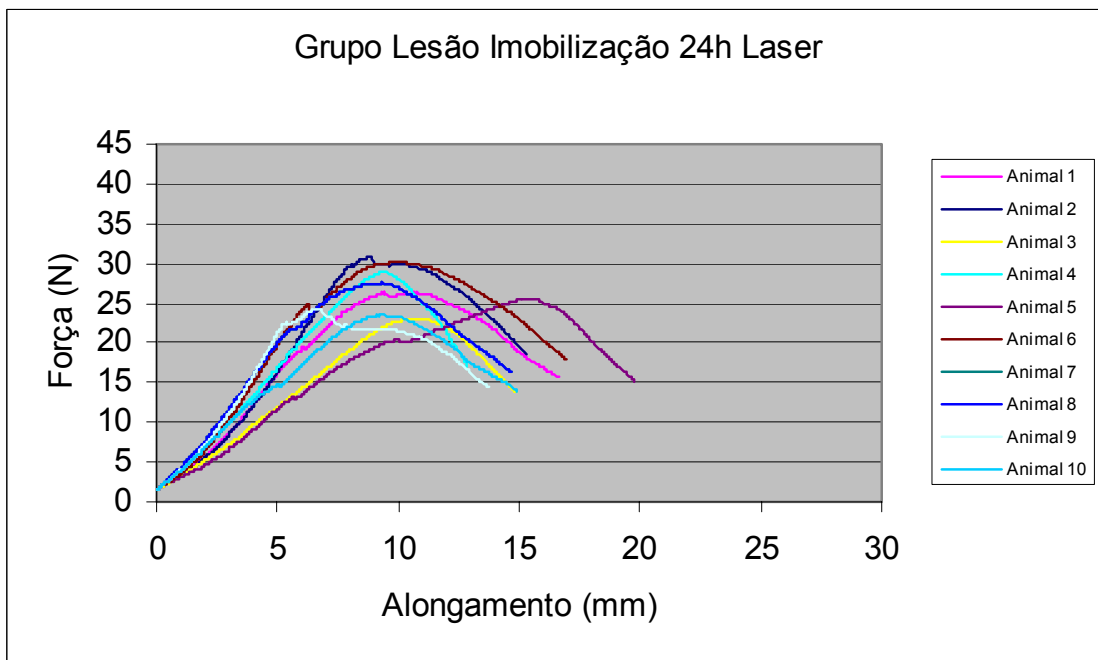


Figura 24. Curvas carga versus alongamento do Grupo Lesão Imobilização 72h Laser (LI72L)

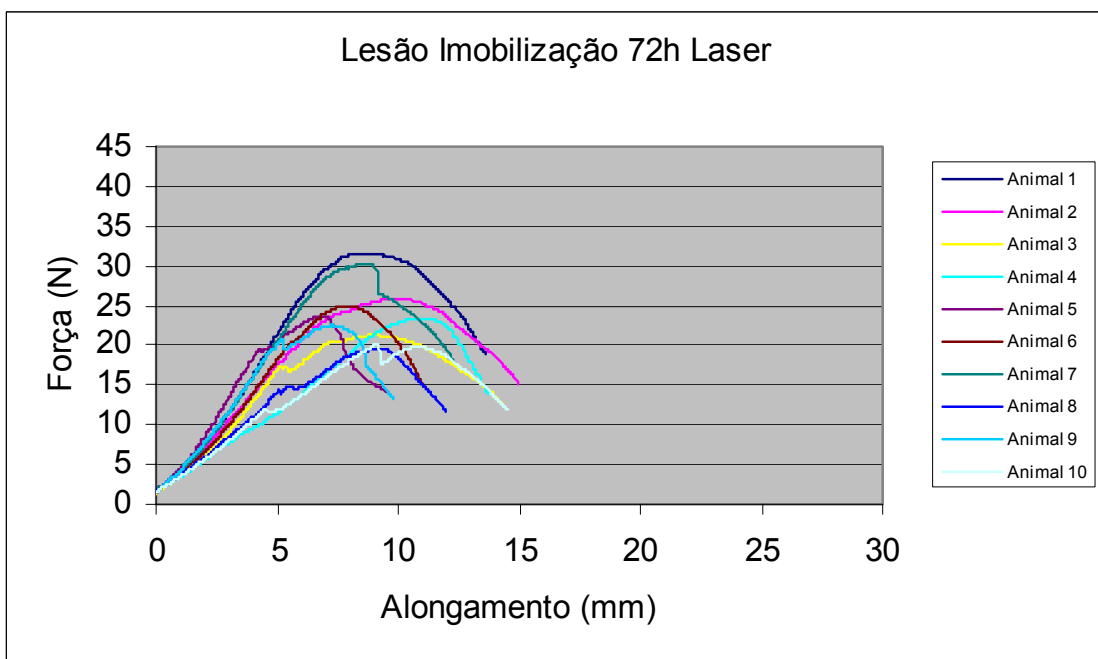


Figura 25. Curvas carga versus alongamento do Grupo Lesão Imobilização 24h (LI24)

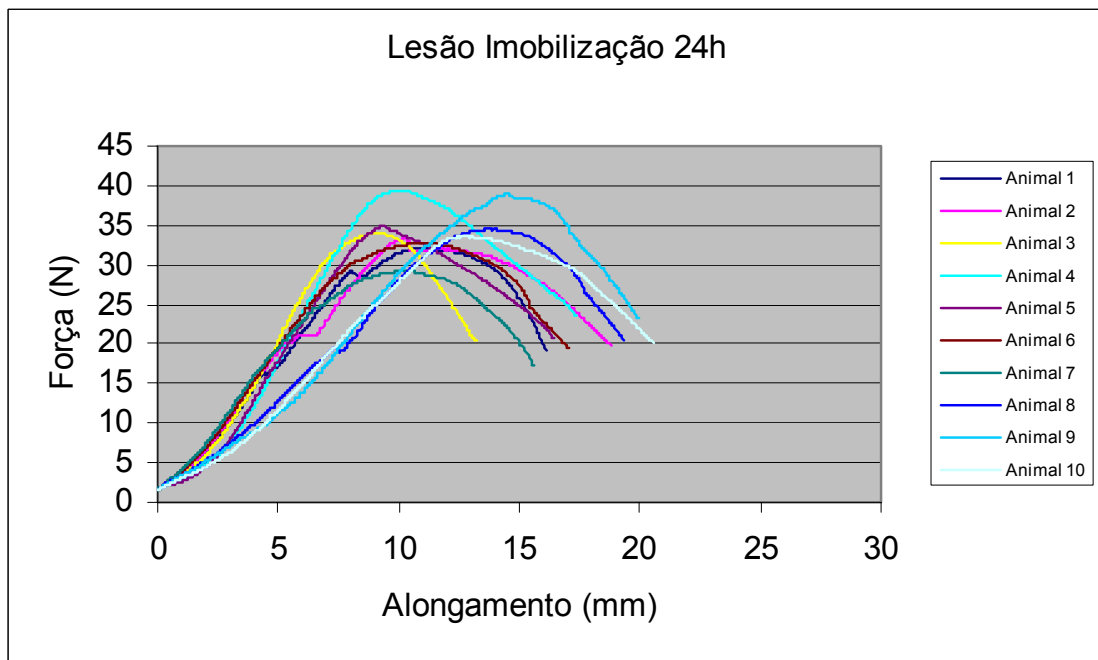
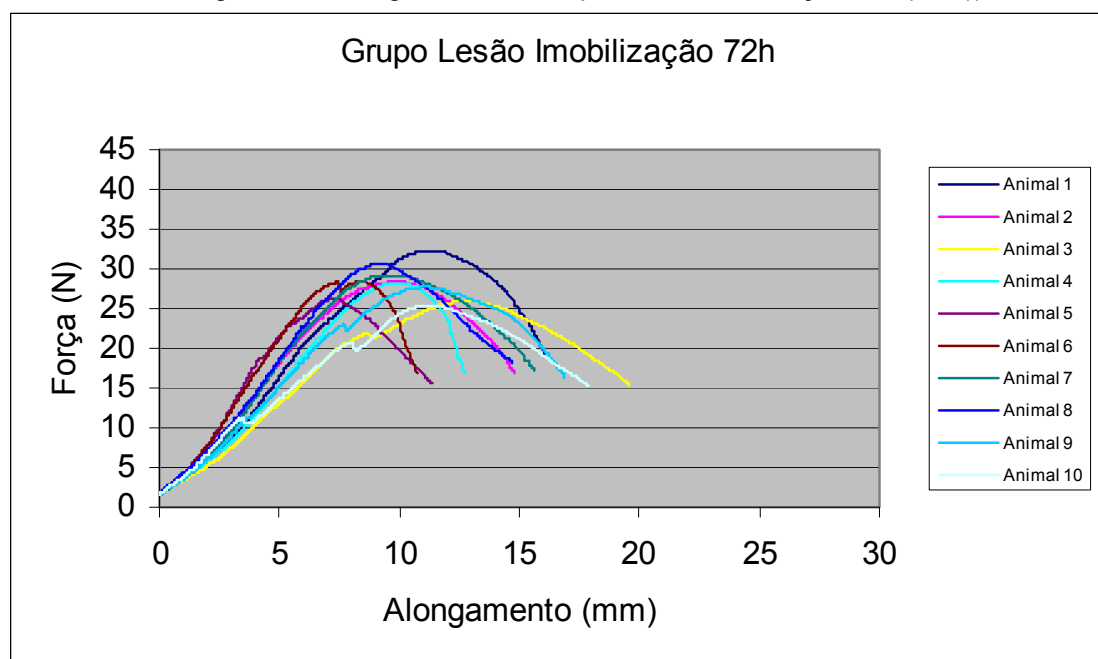


Figura 26. Curvas carga versus alongamento do Grupo Lesão Imobilização 72h (LI72)



Apêndice B – Propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio obtidas por meio do ensaio de tração.

As tabelas 1 a 7 apresentam as propriedades mecânicas de carga no limite de proporcionalidade (CLP), alongamento no limite de proporcionalidade (ALP), carga no limite máximo (CLM), alongamento no limite máximo (ALM), e rigidez dos gastrocnêmios dos animais dos grupos

Tabela 1 – Propriedades mecânicas do GRUPO 1 – Controle (C).

GRUPO CONTROLE	CLP (N)	ALP (N)	CLM (N)	ALM (x10⁻³ m)	RIGIDEZ (x10³N/ m)
Animal 1	32,82	7,35	35,42	11,45	4,32
Animal 2	28,53	6,50	35,29	11,60	4,39
Animal 3	29,63	8,34	35,23	12,51	3,55
Animal 4	36,80	9,52	38,94	17,76	3,86
Animal 5	31,46	13,17	39,33	17,39	4,73
Animal 6	28,36	11,67	34,77	16,03	3,40
Animal 7	31,65	15,97	33,08	16,81	4,49
Animal 8	27,69	11,01	33,21	14,11	2,51
Animal 9	33,51	7,63	37,25	12,17	4,39
Animal 10	25,93	12,84	31,84	16,67	3,55
Média	30,63	10,40	35,43	14,65	3,91
Desv.Pad.	3,232	3,05	2,46	2,54	0,67

Tabela 2 –Propriedades mecânicas do GRUPO 2 – Lesão (L).

GRUPO LESÃO	CLP (N)	ALP (N)	CLM (N)	ALM (x10⁻³ m)	RIGIDEZ (x10³N/ m)
Animal 1	28,02	11,86	28,32	12,77	2,46
Animal 2	29,36	8,86	32,95	11,69	3,41
Animal 3	27,45	11,02	27,93	11,90	2,49
Animal 4	29,55	10,23	30,34	10,84	2,88
Animal 5	22,30	9,32	24,16	11,13	2,25
Animal 6	26,04	7,43	29,37	10,97	3,50
Animal 7	27,21	6,93	32,04	10,43	3,92
Animal 8	21,63	7,18	27,22	12,07	3,01
Animal 9	24,27	11,64	24,81	14,61	2,08
Animal 10	22,88	8,41	23,37	10,31	2,56
Média	25,87	9,28	28,05	11,67	2,85
Desv.Pad.	2,92	1,83	3,25	1,28	0,59

Tabela 3 –Propriedades mecânicas do GRUPO 3 –Lesão Laser (LL).

GRUPO LL	CLP (N)	ALP (N)	CLM (N)	ALM (x10⁻³ m)	RIGIDEZ (x10³N/ m)
Animal 1	28,61	10,58	34,64	15,23	3,16
Animal 2	32,53	8,28	34,32	9,59	4,13
Animal 3	29,53	16,35	31,32	18,55	2,82
Animal 4	28,60	9,32	30,34	10,74	3,51
Animal 5	28,84	16,84	31,58	19,47	2,89
Animal 6	25,61	7,23	31,32	11,00	4,00
Animal 7	26,15	5,23	30,08	9,67	5,00
Animal 8	30,30	6,36	35,04	10,75	4,76
Animal 9	25,24	10,04	27,28	12,80	2,51
Animal 10	26,70	11,17	27,42	12,94	2,39
Média	28,21	10,14	32,33	13,07	3,51
Desv.Pad.	2,29	3,88	2,74	3,56	0,92

Tabela 4–Propriedades mecânicas do GRUPO 4 –Lesão Imobilização 24h e Laser (LI24L).

GRUPO LI24L	CLP (N)	ALP (N)	CLM (N)	ALM (x10⁻³ m)	RIGIDEZ (x10³N/ m)
Animal 1	23,63	7,29	26,31	9,45	3,24
Animal 2	29,58	6,71	30,86	8,88	4,40
Animal 3	22,08	9,32	23,11	10,62	2,36
Animal 4	26,83	8,16	28,91	9,42	3,28
Animal 5	17,92	8,16	25,52	15,60	2,19
Animal 6	24,51	6,07	30,15	10,15	4,58
Animal 7	25,16	7,05	27,54	9,34	3,51
Animal 8	31,84	7,18	34,74	8,42	5,41
Animal 9	22,11	5,22	24,22	6,75	5,12
Animal 10	21,46	8,16	23,51	11,61	2,63
Média	24,51	7,33	27,48	10,02	3,67
Desv.Pad.	4,08	1,18	3,71	2,35	1,44

Tabela 5 –Propriedades mecânicas do GRUPO 5 – Lesão Imobilização 72h e Laser (LI72L).

GRUPO LI72L	CLP (N)	ALP (N)	CLM (N)	ALM (x10⁻³ m)	RIGIDEZ (x10³N/ m)
Animal 1	27,43	5,94	31,52	8,74	4,61
Animal 2	22,13	6,65	25,78	10,20	3,32
Animal 3	17,37	4,59	21,29	9,20	3,75
Animal 4	21,92	9,39	23,44	11,09	2,23
Animal 5	19,25	4,30	23,64	6,89	4,92
Animal 6	23,64	6,84	25,00	7,93	3,45
Animal 7	26,50	6,32	30,28	8,68	4,46
Animal 8	18,49	7,97	19,60	9,33	2,15
Animal 9	20,85	5,23	22,53	7,27	3,98
Animal 10	20,02	9,13	20,12	9,15	2,02
Média	21,76	6,36	24,32	8,48	3,48
Desv.Pad.	3,30	1,75	3,99	1,62	1,06

Tabela 6 –Propriedades mecânicas do GRUPO 6 – Lesão Imobilização 24h (LI24).

GRUPO LI24	CLP (N)	ALP (N)	CLM (N)	ALM (x10 ⁻³ m)	RIGIDEZ (x10 ³ N/ m)
Animal 1	31,64	10,25	32,10	11,34	3,08
Animal 2	32,74	9,76	33,21	10,32	3,35
Animal 3	30,00	5,58	33,99	9,09	5,37
Animal 4	34,75	6,22	39,33	10,23	5,58
Animal 5	31,64	6,72	34,84	9,39	4,49
Animal 6	27,62	6,72	32,75	11,35	4,11
Animal 7	23,96	6,43	29,17	10,28	3,72
Animal 8	32,01	11,03	34,58	13,93	2,90
Animal 9	30,58	8,20	38,94	14,56	3,72
Animal 10	31,64	9,90	33,60	12,70	3,19
Média	30,48	8,08	34,25	11,31	3,95
Desv.Pad.	2,76	1,99	3,02	1,86	0,93

Tabela 7 –Propriedades mecânicas do GRUPO 7 – Lesão Imobilização 72h (LI72).

GRUPO LI72	CLP (N)	ALP (N)	CLM (N)	ALM (x10 ⁻³ m)	RIGIDEZ (x10 ³ N/ m)
Animal 1	27,37	10,20	32,23	13,01	2,68
Animal 2	25,56	7,17	28,39	10,02	3,56
Animal 3	20,71	7,82	25,91	13,22	2,64
Animal 4	25,82	8,11	28,26	9,18	3,56
Animal 5	22,50	5,31	26,24	7,36	4,48
Animal 6	25,51	5,87	28,45	8,49	4,34
Animal 7	24,03	6,67	29,17	9,84	3,99
Animal 8	26,59	7,10	30,60	9,33	3,86
Animal 9	22,73	7,57	27,67	11,23	3,00
Animal 10	24,80	10,47	25,46	11,49	2,22
Média	24,56	7,62	28,23	10,31	3,43
Desv.Pad.	2,06	1,66	2,10	1,90	0,76

ANEXO

Anexo A- Certificado da comissão de ética no uso de animais da USP Campus de
Ribeirão Preto



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus de Ribeirão Preto
Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho (Protocolo nº 04.1.663.53.6), intitulado: "Influência do Laser e da Imobilização nas Propriedades Mecânicas do Músculo Gastrocnêmio Submetido a Lesão Muscular", de autoria de **Giovana Leitão Sene**, por estar de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotado pela **Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)** do *Campus* de Ribeirão Preto – USP, foi aprovado em reunião da CEUA de 16.11.2004.

Ribeirão Preto, 22 de novembro de 2004


Presidente da CEUA
Prof. Dr. José Clóvis do Prado Junior


Secretária da CEUA
Maria Angélica S. Depiro