

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS - UFSCar
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Mayna Adabbo

**EFEITOS DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE E DO
EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO SOBRE A REGENERAÇÃO DO
MÚSCULO TIBIAL ANTERIOR DE RATOS**

SÃO CARLOS, 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS - UFSCar
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Mayna Adabbo

**EFEITOS DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE E DO EXERCÍCIO
FÍSICO AERÓBIO SOBRE A REGENERAÇÃO DO MÚSCULO TIBIAL
ANTERIOR DE RATOS.**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Biotecnologia
da Universidade Federal de São
Carlos como requisito para o título de
mestre em Biotecnologia.

Orientadores:

Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto
Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato

SÃO CARLOS, 2012

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

A191eL

Adabbo, Mayna.

Efeitos do laser de baixa intensidade e do exercício físico aeróbio sobre a regeneração do músculo tibial anterior de ratos / Mayna Adabbo. -- São Carlos : UFSCar, 2014.
49 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2012.

1. Biotecnologia. 2. Lesão muscular. 3. Regeneração do músculo esquelético. 4. Laserterapia. 5. Atividade física. I. Título.

CDD: 660.6 (20^a)

Mayna Adabbo

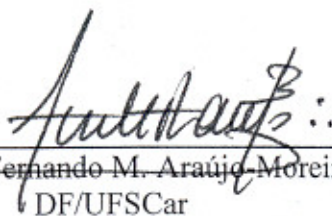
Dissertação de Mestrado submetida
à Coordenação do Programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia,
da Universidade Federal de São
Carlos, como requisito parcial para
a obtenção do título de Mestre em
Biotecnologia

Aprovado em: 17/02/2012

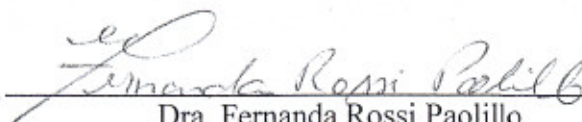
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato (Orientador)
USP/São Carlos-SP



Prof. Dr. Fernando M. Araújo Moreira
DF/UFSCar



Dra. Fernanda Rossi Paolillo
USP/São Carlos-SP

*Dedico ao meu filho Lorenzo que muitas vezes foi a
inspiração, para que eu não desistisse.*

AGRADECIMENTOS

À Deus.

À toda minha família e amigos que me apoiaram nas horas mais difíceis.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto e Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato por todo conhecimentos transmitido.

Aos alunos do laboratório Paulo e Natalia que muito me auxiliaram durante a execução deste trabalho.

A todos que participaram direta ou indiretamente para que esse trabalho se concretizasse.

A todos que torceram por mim!

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Objetivo	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
2.1. Tecido Muscular.....	2
2.1.2. Músculo Estriado Esquelético	3
2.2. Lesão Muscular	6
2.2.1. Regeneração muscular.....	7
2.3. Laser de Baixa Intensidade	9
2.3.1. Aspectos Físicos do Laser de baixa Intensidade	9
2.3.2. Interação Laser - Tecido.....	10
2.3.3. Laser de baixa intensidade e Regeneração Muscular	11
2.4. Exercício Físico Aeróbio.....	11
2.4.1. Exercício Físico na Regeneração Muscular	12
3. METODOLOGIA	14
3.1. Confecção da Esteira Rolante	14
3.2. Animais e grupos experimentais	15
3.3. Adaptação à Esteira Rolante	16
3.4. Técnica Cirúrgica e Protocolo de Criolesão.....	17
3.5. Período de Repouso Pré-Tratamento.....	19
3.6. Protocolo de Irradiação	19
3.7. Protocolo de Exercício Físico Aeróbio	20
3.8. Eutanásia e Retirada dos Músculos	21
3.9. Confecção das lâminas histológicas.....	22
3.9.1. Análise das Lâminas.....	22
3.10. Análise Estatística	23

4. RESULTADOS.....	24
5. DISCUSSÃO.....	29
6. CONCLUSÃO	36
7. BIBLIOGRAFIA.....	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tipos de Músculo (Junqueira & Carneiro,1999, p. 159)	3
Figura 2 - Esquema de estrutura geral do músculo.	5
Figura 3 – Características que identificam e diferenciam a luz laser das outras ondas luminosas.....	10
Figura 4 - Vista superior da esteira	15
Figura 5 - Vista frontal da esteira utilizada	15
Figura 6 - Ambientação dos animais na esteira.....	17
Figura 7 – Músculo TAE após criolesão	18
Figura 8 – Lesão já suturada e iodada	18
Figura 9 – Aparelho de laser utilizado	19
Figura 10 – Animal sendo irradiado.....	20
Figura 11 – Animais em tratamento caminhando na esteira	21
Figura 12 – Valores da Área de lesão e do número de vasos no grupo A.....	26
Figura 13 - Valores da Área de lesão e do número de vasos no grupo B	26
Figura 14 - Correlação entre a área de lesão e quantidade de vasos sanguíneos – Grupo A (3dias).....	27
Figura 15 – Correlação entre a área de lesão e quantidade de vasos sanguíneos – Grupo B (7 dias)	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de p referentes à área de lesão dos grupos A e B.....	26
Tabela 2 – Valores de p referentes ao número de vasos do grupos A e B.....	26
Tabela 3 – Médias e Desvio Padrão de todos os grupos.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	= Adenosina di-fosfato
ATP	= Adenosina tri-fosfato
cm²	= Centímetro quadrado
GC	= Grupo Controle
GE	= Grupo Exercício
GEL	= Grupo Exercício e Laser
GL	= Grupo Laser
HE	= Hematoxilina e Eosina
J	= Joules
KCl	= Cloreto de Potássio
Kg	= Quilograma
Laser	= Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
LED	= Light Emitting Diodes
LLLT	= Low level laser therapy
m/min	= Metros por minuto
mg	= Miligrama
mW	= Miliwatts
NaCl	= Cloreto de Sódio
nm	= Nanometros
TAD	= Tibial Anterior Direito
TAE	= Tibial Anterior Esquerdo
V	= Volts
λ	= Comprimento de onda

RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da laserterapia e do exercício físico aeróbio sobre a regeneração do músculo tibial anterior de ratos com diferentes períodos de repouso após a lesão. Foram utilizados para este estudo 40 ratos Wistar que foram submetidos à cirurgia para criolesão no músculo tibial anterior (TA). Os animais foram divididos em 2 grupos (A e B). Os animais do Grupo A permaneceram em repouso por 3 dias, enquanto o Grupo B permaneceu em repouso por 7 dias. Cada grupo foi subdividido em 4 grupos: o GC (Grupo Controle) – lesionado e não tratado; o GE (Grupo Exercício) – lesionado e tratado com exercício físico na esteira; o GL (Grupo Laser) - lesionado e tratado com laser e; o GEL (Grupo Exercício e Laser) lesionado e tratados com exercício físico na esteira e laser. Os parâmetros do laser utilizado foram 780 nm, 15 mW de potência, tempo de 10 s, com energia de 0,125J e dose de 3,8 J/cm². O exercício físico com ou sem laser foi realizado durante 5 dias, cada sessão teve a duração de 12 minutos e a velocidade da esteira foi 17 m/min. Os músculos TA foram retirados para análise histológica e morfométrica. A área de lesão foi significativamente menor no GEL, quando o repouso foi mantido por 3 e 7 dias respectivamente, (4,4±0,42 % e 3,5±0,14 %, p < 0.05) comparado ao GL (18,6±0,64 % e 7,5±0,13 %), GE (21±0,26 % e 8,7±0,32 %) e GC (23,9±0,37 % e 21,4±0,38 %). Ainda, o número de vasos sanguíneos foi significativamente maior no GEL, quando o repouso foi mantido por 3 e 7 dias respectivamente, (71,2±13,51 % e 104,5±11,78, p < 0.05) comparado ao GL (60,6±11,25 e 93,5±16,87), GE (51,6±7,3 e 93,8±15,1) e GC (34,4±2,54 e 65,7±14,1). Portanto, o laser aplicado antes do exercício físico na esteira estimulou a angiogênese e acelerou o processo de regeneração muscular.

Palavras-chave: laser de baixa intensidade, exercício físico aeróbico, reparo muscular.

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the effects of Low level laser therapy (LLLT) associated with aerobic physical exercise on the muscle regeneration process during 2 periods of rest after of the muscle injury in rats. Forty rats were divided into 2 groups (A and B), and 4 subgroups each: GC (Control Group) - cryolesioned untreated; GE (Exercise Group) - cryolesioned treated with aerobic physical exercise; GL (Laser Group) - cryolesioned treated with laser; GEL (Exercise and Laser Group) - cryolesioned treated with laser and aerobic physical exercise. The tibialis anterior (TA) of the middle belly was injured by a cooling iron bar (cryoinjury). The animals in Group A remained at rest for 3 days, while Group B remained at rest for 7 days. The laser parameters were: 780 nm, 15 mW, during 10 s, 0.152 J e 3.8 J/cm². Physical exercises with or without laser were performed during 5 days, each session lasting 12 min at a treadmill velocity of 17 m/min. The AT muscles were removed for histological and morphometric analysis. The damage area was significantly smaller for the GEL, when remained at rest for 3 and 7 days respectively, (4.4±0.42 % and 3.5±0.14 %, p < 0.05) compared to GL (18.6±0.64 % and 7.5±0.13 %), GE (21±0.26 % and 8.7±0.32 %) and GC (23.9±0.37 % and 21.4±0.38 %). In addition, the number of blood vessels were significantly higher for the GEL, when remained at rest for 3 and 7 days respectively, (71.2±13.51 % and 104.5±11,78, p < 0.05) compared to the GL (60.6±11.25 and 93.5±16.87), GE (51.6±7.3 and 93.8±15.1) and GC (34.4±2.54 and 65.7±14.1). Therefore, the laser applied before the physical exercise on the treadmill stimulated an angiogenesis and accelerated the process of muscle regeneration.

Keywords: Low level laser therapy, aerobic exercise, muscle repair.

1. INTRODUÇÃO

Várias são as lesões teciduais que afetam a população, entre elas as lesões musculares que ocorrem com frequência nos esportes competitivos, recreação, acidentes de trânsito e jornadas excessivas de trabalho, incluindo a população de jovens, adultos e idosos.

O músculo é compreendido como sendo o elemento motor do corpo humano, acionando voluntária ou involuntariamente os segmentos corpóreos. A musculatura estriada, de contração voluntária é denominada musculatura esquelética (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999), que é um tecido dinâmico, capaz de responder a estímulos fisiológicos ou a lesões por meio de um orquestrado processo de regeneração para restaurar sua arquitetura (JARVINEN et al., 2005).

A lesão muscular é caracterizada por uma série de fatores, tais como desorganização de miofibrilas, ruptura de mitocôndrias e retículo sarcoplasmático, interrupção de continuidade do sarcolema, autodigestão e necrose celular, além de disfunção microvascular progressiva e inflamação local (MATHEUS et al., 2008). Dentre os tipos de lesão, a criolesão, e um procedimento utilizado para causar lesão tecidual, como o muscular, através de temperaturas muito abaixo de zero, promovendo destruição do tecido por morte das células do local lesado, edema e processo inflamatório (PAVESI, 2008).

O músculo esquelético apresenta alta incidência de lesão, mas também alta capacidade de regeneração, sendo bem documentado na literatura que as fases do processo regenerativo são similares, independente dos diferentes mecanismos indutores de lesão, mas com duração e características específicas às causas da lesão (MINAMOTO, 2006).

Alguns recursos utilizados na regeneração muscular são a crioterapia (HERRERA et al., 2011), o ultra som (RANTENEN, 2000; WILKIN et al., 2004), os antiinflamatórios (LAPOINT et al., 2003), a mobilização e imobilização (VENOJARVI et al., 2004), além do uso de tecnologias como o laser (LEAL et al., 2010).

A laserterapia é um recurso fisioterapêutico que possui propriedades especiais capazes de produzir efeitos bioquímicos e fisiológicos nos tecidos. Dentre esses efeitos podem-se destacar os relacionados com a bioenergética, como o aumento na taxa energética e síntese de ATP mediante modificações mitocondriais (KARU, 1987).

Alguns estudos sugerem que em células irradiadas, os primeiros eventos fotoquímicos e fotofísicos acontecem nas mitocôndrias, cujas alterações respiratórias são explicadas como resultado tanto de mudanças estruturais, quanto de alterações químicas (metabólicas) nessa organela citoplasmática, podendo ocorrer no potencial de membrana e/ou em atividades enzimáticas, todas contribuindo para a maior disponibilidade de energia, via metabolismo aeróbio, para ser utilizada na realização das atividades celulares (AMAT et al. 2005); (KARU, PIATYBRAT E AFANASYEVA, 2004); (BAKEEVA et al., 1993).

Além dos efeitos do laser sobre o metabolismo energético, o treinamento físico aeróbio também promove mudanças nas características estruturais e metabólicas do tecido (LUMINI-OLIVEIRA et al., 2009); (IRRCHEER et al., 2003).

Os exercícios físicos realizados regularmente são capazes de promover uma aceleração dos processos de reparo tecidual e inflamatório (NIEMAM, 1998). Alguns estudos evidenciaram que exercícios aeróbios interferem em várias etapas do processo de reparo tecidual, promovendo a migração de leucócitos em direção ao foco da lesão e aumento da capacidade de fagocitose dessas células em seres humanos e animais (FEHR et al. 1989), além de aumentar a atividade dos macrófagos (WOODS et al. 1983).

A laserterapia pode ser um coadjuvante do exercício, para a aceleração do reparo tecidual, tendo em vista que alguns de seus achados sobre a bioenergética das células se assemelham a algumas das adaptações do tecido ao treinamento físico, em especial ao do exercício aeróbio (VIEIRA et al., 2006). Neste contexto, os efeitos da laserterapia associado ao exercício físico sobre as adaptações do tecido após a lesão muscular devem ser investigados.

1.1. TECIDO MUSCULAR

O tecido muscular, responsável pelos movimentos corporais, é constituído por células alongadas e que contém grande quantidade de filamentos citoplasmáticos, responsáveis pela contração (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999).

São denominadas estriadas ou lisas dependendo, respectivamente, da presença ou ausência de um arranjo de proteínas contráteis miofibrilares, os miofilamentos, que se repetem regularmente (GARTNER E HIATT, 1997).

Podem-se distinguir nos mamíferos três tipos de tecido muscular: o músculo liso, o músculo estriado cardíaco e o músculo estriado esquelético (objeto deste estudo), observando suas características morfológicas e funcionais (Figura 1).

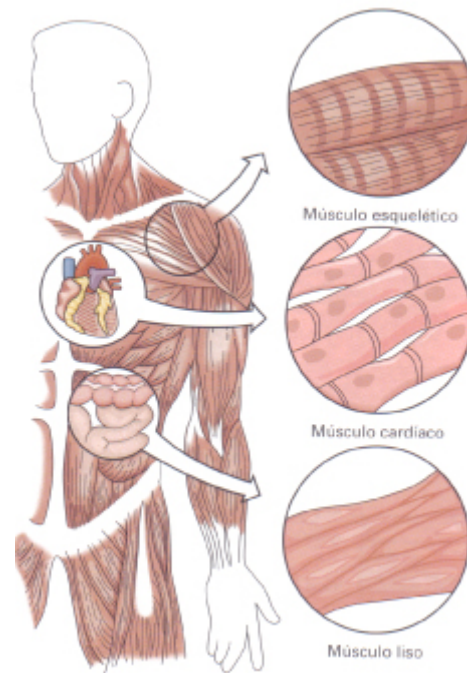


Figura 1 – Tipos de Músculo (Junqueira & Carneiro,1999, p. 159)

1.1.2. MÚSCULO ESTRIADO ESQUELÉTICO

As células musculares, em razão de seu comprimento ser maior que sua largura, são frequentemente chamadas de fibras musculares. Essas fibras estão dispostas paralelamente em relação as suas vizinhas. Tem vários núcleos, e estão situados na periferia da célula, sob a membrana celular (sarcolema). Os elementos contráteis ocupam a maior parte do volume da célula, que tem uma relação muito ordenada e específica entre si, organização essa responsável pelas estriações transversais vista nos cortes longitudinais das fibras musculares esqueléticas e que deram origem à denominação de músculo estriado (ROSS E ROWRELL, 1993).

Em um músculo, as fibras musculares estão organizadas em grupos de feixes, chamados de fascículos, envolvidos por uma camada de tecido conjuntivo, chamado epimísio. Do epimísio partem septos muito finos de tecido conjuntivo, que se dirigem para o interior do músculo, separando os feixes. Estes septos são chamados de perimísio. O perimísio envolve cada feixe de fibras musculares. Cada fibra muscular, por sua vez, é envolvida por uma camada muito fina constituída lâmina basal da fibra muscular e por fibras reticulares do endomísio. A função deste tecido conjuntivo é manter as fibras musculares unidas, permitindo que a força de contração gerada por cada fibra individualmente atue sobre o músculo inteiro (grande significado funcional) porque na maioria das vezes as fibras não se estendem de uma extremidade até a outra do músculo (BASSOLI, 2001).

Ainda segundo Bassoli (2001), o citoplasma da fibra muscular apresenta-se preenchido, quase que completamente, principalmente por fibrilas paralelas, as miofibrilas (cilíndricas). Essas miofibrilas aparecem com estriações transversais, pela alternância de faixas claras e escuras. A faixa escura (anisotrópica) recebeu o nome de banda A, enquanto a faixa clara (isotrópica) banda I. No centro de cada banda I aparece uma linha transversal escura – a linha Z. A estriação da miofibrila é devida à repetição de unidades iguais, chamadas sarcômeros. Cada sarcômero é formado pela parte da miofibrila que fica entre as duas linhas Z sucessivas, e contém uma banda A separando duas semibandas I. Nas miofibrilas existe a presença de filamentos finos de actina e filamentos grossos de miosina dispostos longitudinalmente, organizados simétrica e paralelamente. Na contração muscular os filamentos de actina deslizam sobre os de miosina. Juntas essas proteínas representam 55% do total de proteínas do músculo estriado (Figura 2).

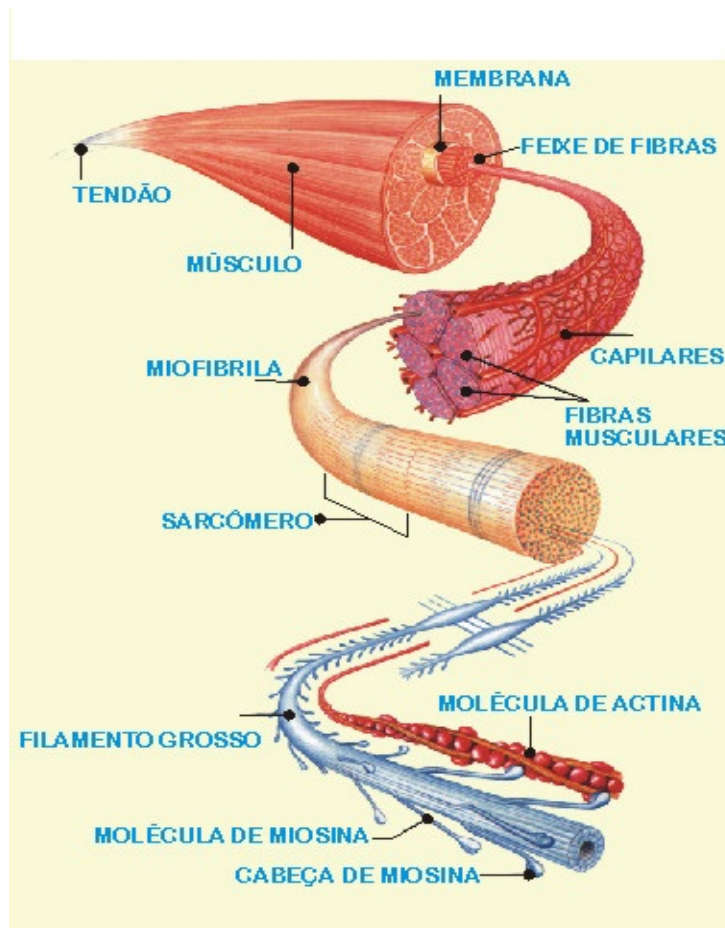


Figura 2 - Esquema de estrutura geral do músculo.
(Figura retirada de <http://www.ck.com.br>)

O músculo esquelético é fartamente irrigado com sangue e, geralmente, cada fibra tem em suas proximidades vários capilares que correm entre as fibras musculares.

A cor do músculo esquelético varia de acordo com suprimento vascular e a quantidade de mioglobina (proteínas transportadoras de oxigênio, semelhantes à hemoglobina, no entanto menores que esta) (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999; GARTNER E HIATT, 1997).

As fibras musculares esqueléticas podem ser identificadas como sendo do tipo I, ou fibras lentas, ou do tipo II, ou fibras rápidas. As fibras tipo II são subdivididas em IIa, que são de contração intermediária e II b de contração rápida.

As identificadas como do tipo I são ricas em sarcoplasma, de cor vermelho-escura, adaptadas para contrações continuadas. As Fibras do tipo II são de cor vermelho-clara, adaptadas para contrações rápidas e descontínuas (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 1999).

1.1.3. LESÃO MUSCULAR

A lesão muscular é caracterizada por uma série de fatores, tais como desorganização de miofibrilas, ruptura de mitocôndrias e retículo sarcoplasmático, interrupção da continuidade do sarcolema, autodigestão e necrose celular (MATHEUS et al., 2008).

Pode-se considerar que, das lesões que mais afetam a população, as lesões musculares merecem atenção devido a sua alta incidência e ao aumento contínuo causado, mais constantemente, por esportes competitivos, recreação, acidentes em trânsito e jornadas excessivas de trabalho. Das lesões significativas que acometem o homem, pelo menos dois terços envolvem o sistema musculoesquelético (COELHO, 2005).

Desse modo, o tratamento das lesões musculares na prática fisioterapêutica é de grande incidência (MINAMOTO, 2007), e embora as lesões músculo esqueléticas isoladas em indivíduos sadios raramente sejam fatais, são de grande importância por acarretarem afastamento do indivíduo de suas atividades diárias, além de predispor o risco de lesões recorrentes quando não diagnosticadas e tratadas efetivamente (COELHO, 2005).

O sistema musculoesquelético é muito susceptível a traumas e por isso, há muitos anos, existem inúmeros trabalhos que avaliaram o efeito da contusão em diferentes músculos do rato, tais como o músculo Gastrocnêmio (FISHER et al., 1990; CRISCO et al., 1994; MATHEUS, 2008), músculo Sóleo (MINAMOTO, 1997; MIYOSHI et al., 2003; BONETTI, 2009), e músculo Tibial Anterior (MINAMOTO et al., 2007; MOREIRA, 2008; RODRIGUES, 2009).

No músculo estriado esquelético lesado, a dor está associada à lesão estrutural e ao edema, à destruição da integridade da membrana plasmática e da membrana basal (RESENDE et al., 2005). A dor é conceituada pela *International Association for the Study of the Pain* como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada com uma lesão tecidual presente ou potencial, descrita relativamente a essa lesão” (Prentice, 2002), resultando em incapacidade e/ ou inabilidade e tem como finalidade a proteção do organismo; permanecendo essa condição, podendo resultar em outros problemas musculares por hábitos de desuso e à consciente ou inconsciente proteção, levando a perda grave da função muscular (TEIXEIRA, 2001).

As células musculares que forem lesionadas não são substituídas por novas células. No sistema musculoesquelético são obtidos núcleos satélites adicionais, que se multiplicam e, dessa forma, se fundem com as fibras danificadas (WERNICK e GOLDSPINK, 2003).

As células satélites fazem parte de uma população de células com grande atividade mitogênica que contribuem para o crescimento muscular pós-natal, para o reparo de fibras musculares danificadas e a manutenção do músculo esquelético adulto. Foram assim denominadas por sua localização anatômica na periferia de fibras multinucleadas maduras. São células indiferenciadas e mononucleadas, cuja membrana basal está em continuidade com a membrana basal da fibra muscular. Enquanto o tecido muscular mantém-se livre de agressões, as células satélites permanecem em estado de quiescência (repouso). Entretanto, em resposta a estímulos como crescimento, remodelamento ou trauma, as células satélites são ativadas, proliferam-se e liberam marcadores da linhagem miogênica. Neste estado, também são denominadas mioblastos. Essas células se fundem às fibras musculares já existentes ou se fundem às células satélites vizinhas para poder gerar novas fibras musculares (FOSCHINI, 2004). Há evidências de que as células satélites constituem uma população bastante heterogênea, visto que algumas podem sofrer diferenciação imediata, sem divisão prévia, enquanto outras, primeiramente se proliferam, gerando uma célula filha para diferenciação e outra célula filha para futura proliferação (RANTENEN et al., 1995).

1.1.4. REGENERAÇÃO MUSCULAR

O estabelecimento e recuperação da lesão fazem parte do processo de resposta inflamatória. O reparo muscular, que começa imediatamente após a lesão, termina quando há neutralização do agente agressor e restauração tissular. Durante o processo de reparo há regeneração das células danificadas e ou substituição por tecido fibroso cicatricial (COELHO, 2005).

Ainda segundo Coelho (2005), os elementos da resposta inflamatória são constituídos de plasma e células circulantes, células do tecido conjuntivo e células da matriz extracelular. A cura do processo inflamatório, ou seja, o reparo da lesão implica no desaparecimento do exsudato, dos sinais locais e sistêmicos da inflamação (dor, rubor, calor, edema e perda de função), e na regeneração e substituição do tecido lesado por tecido normal, sendo que a cura por completo dependerá da capacidade de regeneração das células lesadas.

Embora seja necessário elucidar algumas questões relacionadas à regeneração muscular, principalmente com relação aos mecanismos envolvidos na ativação das células satélites, a sequência de respostas celulares envolvidas no mecanismo de regeneração muscular já está bem estabelecida (BODINE-FOWLER, 1994; TIDBALL, 1995). O músculo esquelético pode ser lesado por diferentes agentes, que independentemente do método utilizado para a lesão, o músculo sofrerá processo de reparo, que parece seguir passos comuns (GOUVÊA et al., 1998).

De acordo com Gouvêa et al. (1998), inicialmente há um período de degeneração da fibra muscular caracterizado pela desorganização e dissolução das unidades sarcoméricas, sarcossoma, retículo sarcoplasmático e mionúcleo. Essa resposta imediata é seguida por um estágio no qual ocorre autólise dos componentes musculares lesados. Assim, pelo menos duas populações de células respondem à injúria muscular: células inflamatórias envolvidas na remoção de restos celulares e células miogênicas envolvidas na reposição da fibra danificada. As células satélites presentes abaixo da lâmina basal sobrevivem ao evento traumático inicial e resistem ao ambiente deletério. Após a remoção dos componentes celulares da fibra muscular lesada, as células satélites são ativadas, dando origem a uma população de mioblastos, os quais vão se fundir, formando miotúbulos multinucleados, com núcleo central, os quais se diferenciam em fibras musculares maduras, com núcleo periférico.

De modo geral, a resposta regenerativa envolve a revascularização tecidual, infiltração celular, fagocitose do material necrosado, proliferação e fusão de células precursoras miogênicas e finalmente, a reinervação (GROUNDS, 1991).

Entretanto, a duração e o sucesso da regeneração muscular esquelética são dependentes de alguns fatores, ou seja, a sequência morfológica da regeneração é praticamente a mesma, mas pode haver uma alteração no tempo de duração de cada fase do processo regenerativo (COELHO, 2005).

Para o tratamento das lesões musculares, além do recurso fisioterápico e farmacológico, várias são as tecnologias utilizadas, entre elas a laserterapia.

1.2. LASER DE BAIXA INTENSIDADE

Os lasers de baixa intensidade (também chamados de lasers terapêuticos, laser de bioestimulação ou de biomodulação) são utilizados, excluindo-se a possibilidade de manifestação de efeitos térmicos, para interação da radiação com o tecido e pode promover alterações que culminem em efeitos analgésicos, moduladores da resposta inflamatória, antiedematoso e cicatrizante (GAMBIRAZI, 2007).

Atualmente, a utilização do laser é considerada um dos maiores avanços tecnológicos para a área da saúde. Em razão de suas propriedades diferenciais como monocromaticidade, coerência e colimação, o laser pode depositar uma grande quantidade de energia nos tecidos biológicos com extrema precisão, o que permite a sua utilização em diagnóstico e terapias nas mais diversas áreas (COELHO, 2005; SOUSA, 2008).

1.2.1. ASPECTOS FÍSICOS DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE

As características que identificam e diferenciam o laser de outras fontes emissoras de radiação, como os diodos emissores de luz (LEDs) e as lâmpadas, são a monocromaticidade, colimação e coerência (Figura 3).

A monocromaticidade indica que cada meio que gera laser vai corresponder, idealmente, a um único comprimento de onda. Essa característica é considerada a mais importante do laser, pois, determina quais moléculas absorverão a radiação e, portanto, a interação fotobiológica e os efeitos terapêuticos específicos (CARVALHO, 2006).

Ainda de acordo com Carvalho (2006), a colimação refere-se ao alto grau de paralelismo do feixe laser, mantendo um pequeno tamanho do feixe em uma distância relativamente grande; a coerência é a sincronicidade das ondas da luz, podendo ser temporal, quando estas se encontram em fase; ou espacial, quando os fótons estão ajustados em planos espaciais paralelos entre si e, portanto, são assim mantidos em grandes distâncias.

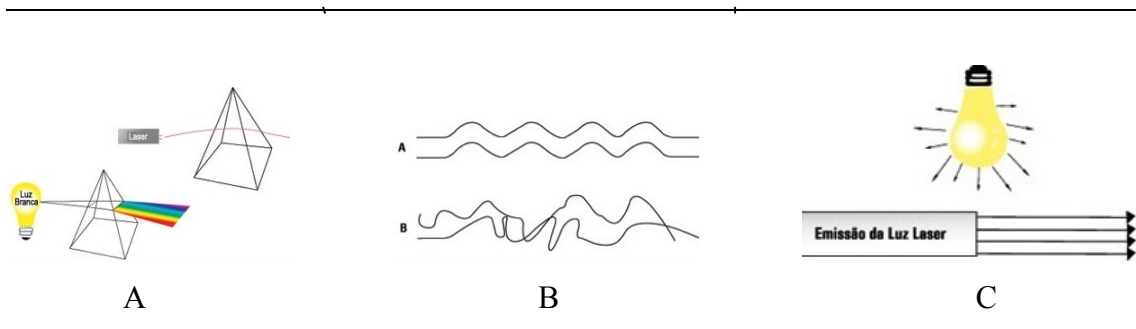


Figura 3 – Características que identificam e diferenciam o laser das outras fontes de radiação (**A** - característica monocromática do laser. **B** - em A comprimentos de ondas coerentes no tempo e no espaço e, em B, comprimentos de ondas incoerentes no tempo e espaço. **C** - característica de unidirecionalidade ou colimação do laser. Outras fontes de radiação, como LEDs e lâmpadas, não são coerentes e nem colimadas, ainda atuam numa banda mais ampla de comprimento de onda comparado ao laser.

1.2.2. INTERAÇÃO LASER - TECIDO

A radiação entregue nos tecidos sofre fenômenos de absorção, reflexão, difusão e transmissão. Do ponto de vista óptico, a pele é uma barreira extremamente heterogênea e, à medida que distanciamos-nos da superfície, menor é a energia absorvida (TATARUNAS et al., 1998).

Os mecanismos biomoleculares da laserterapia têm como evento inicial a absorção da luz pelos cromóforos. Os citocromos, presentes na mitocôndria, são responsáveis por converter ADP em ATP, que fornece energia para a célula e dirige os seu metabolismo (síntese de proteínas, replicação, motilidade celular, manutenção do potencial de membrana). Como os citocromos são fotossensíveis, a energia do laser é absorvida e convertida em energia para a célula (ATP) (FERREIRA, 2006).

Segundo Karu (1998), a luz promove mudanças fotoquímicas nos receptores das mitocôndrias, alterando o seu metabolismo. Há envio de sinais para outras áreas da célula e geração de respostas terapêuticas, no qual nenhum efeito colateral é observado, pois seus fótons são de baixa energia e não ionizantes.

1.2.3. LASER DE BAIXA INTENSIDADE E REGENERAÇÃO MUSCULAR

A laserterapia é utilizada para promover a regeneração do músculo esquelético ao ativar as células satélites quiescentes, realçando sua proliferação e inibindo a diferenciação e fusão. Possui um efeito inibitório na apoptose celular, demonstrado por Shefer et al. (2002), onde as células do tecido não irradiado morrem por apoptose enquanto aquelas em volta das fibras irradiadas pelo laser sobrevivem (COSTARDI et al., 2008).

Na fisioterapia, a laserterapia vem sendo amplamente utilizada por seu efeito analgésico, modulador do processo inflamatório e cicatrizante (HOPKINS et al., 2004; PUGLIESE et al., 2005). Entretanto é importante salientar que a dosimetria utilizada e a posição da ponteira em relação ao tecido (perpendicular) são de fundamental importância para a eficácia do tratamento (RIBEIRO, 2001).

Amaral, Parizotto e Salvini (2001), afirmam que a regeneração músculo-esquelética, a partir do uso do laser de baixa intensidade, se torna mais eficiente quando usado em uma dosagem adequada. No trabalho proposto foram utilizados 15 ratos, divididos em 03 grupos diferentes de laser 632 nm, com 2.6 mW, para cada grupo (2,6; 8,4 e 25 J), comparando o resultado com outros trabalhos, Amaral, Parizotto e Salvini (2001), afirmam que a dosagem de 2,6 J é mais eficiente na regeneração do músculo.

Rocha Jr. et al. (2006), observaram que a laserterapia aumenta significativamente a vascularização local, formando um tecido de granulação mais organizado, acelerando portanto a proliferação tecidual.

Recentemente, vários estudos aplicaram a Laserterapia ou a Ledterapia antes (Leal Jr et al. 2009), durante (Paolillo et al. 2011b) ou após (Ferraresi et al. 2011a) o exercício físico.

1.3. EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO

O treinamento desportivo tem obtido importantes evoluções nos últimos anos, principalmente devido ao avanço da pesquisa científica. Verificam-se alterações tanto fisiológicas como bioquímicas que levam a um melhor desempenho de tarefas específicas que são dependentes do tipo de atividade física realizada. O treinamento físico pode variar de acordo com os objetivos, podendo ser de força ou aeróbio. Estes

treinamentos são importantes para a manutenção da saúde e desempenham papel fundamental na manutenção ou melhora da funcionalidade cardiovascular e muscular (SILVA et al., 2007).

1.3.1. EXERCÍCIO FÍSICO NA REGENERAÇÃO MUSCULAR

Segundo Vieira (2004), o treinamento aeróbio consiste na prática de exercícios de baixa ou moderada intensidade e longa duração, na qual fibras musculares são submetidas a sobrecargas repetitivas e progressivas por período prolongado de tempo, demandando assim o metabolismo oxidativo para sua execução. Esse tipo de treinamento promove uma série de adaptações fisiológicas no organismo, que podem ser descritas em relação às alterações sistêmicas e musculares, as quais estão envolvidas com o aumento da capacidade do músculo em gerar ATP e utilizar a gordura como substrato energético.

Considerando as adaptações musculares, está muito bem documentado que o uso repetido das fibras musculares estimula alterações estruturais e funcionais, as quais podem ocorrer nas seguintes estruturas desse tecido:

- no tipo de fibra muscular; há evidências que o treinamento aeróbio pode fazer com que as fibras com características mais glicolíticas se transformem em outras com propriedades mais oxidativas (FOSS e KETEVIAN, 2000; WILMORE; COSTILL, 2001).

- no suprimento capilar; o treinamento pode aumentar a quantidade de capilares no tecido muscular, o que promoverá um aumento na perfusão sanguínea através do músculo e, conseqüentemente contribuirá para a manutenção de um ambiente adequado para a produção aeróbia de energia e para as contrações musculares (WILMORE; COSTILL, 2001; SIMÕES, 2007).

- no conteúdo da mioglobina; este pode aumentar de 75 a 80%, melhorando o fornecimento de oxigênio para as mitocôndrias (FOSS e KETEVIAN, 2000; VIEIRA, 2004).

- no conteúdo e função mitocondrial; observa-se um aumento no número e tamanho das mitocôndrias, fornecendo um sistema oxidativo muito mais eficiente ao músculo, de um modo que, quanto maior for o volume do treinamento aeróbio, maiores serão as adaptações (WILMORE; COSTILL, 2001).

- nas enzimas oxidativas; Gladden (2000) e Vieira (2004) sugerem que a atividade contrátil muscular crônica promova um aumento na concentração e na atividade das enzimas do metabolismo aeróbio, com destaque para a citrato sintase. Esta adaptação pode reduzir a velocidade de utilização do glicogênio muscular, em detrimento da maior oxidação de gorduras, bem como reduzir a produção de lactato durante o exercício numa determinada velocidade.

1.4. MOTIVAÇÃO E JUSTIFICATIVA

A laserterapia e o exercício aeróbio são recursos terapêuticos importantes que podem acelerar o processo de recuperação da lesão muscular e beneficiar a população de atletas, idosos, trabalhadores e pessoas no dia-a-dia, diminuindo o custo com tratamentos para contribuir com a saúde pública.

2.OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos da laserterapia e do exercício físico aeróbio na regeneração do músculo tibial anterior de ratos.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar se a laserterapia associada ao exercício físico acelera o processo de regeneração muscular.
- Avaliar a relação da regeneração muscular com o tempo de repouso pós-lesão.
- Avaliar a área de lesão muscular.
- Avaliar a quantidade de vasos sanguíneos.

2.2 HIPÓTESE

A hipótese deste estudo consiste que a laserterapia associada ao exercício físico aeróbio pode potencializar a velocidade de regeneração muscular avaliada por histologia e morfologia.

3. METODOLOGIA

O atual projeto de pesquisa foi aprovado pelo “Comitê de Ética em Experimentação Animal” da Universidade Federal de São Carlos (Parecer nº 035/2012) e pode ser visualizado no Anexo 1.

3.1. CONFECCÃO DA ESTEIRA ROLANTE

A esteira utilizada foi projetada para atender às necessidades do experimento. Construída e doada à Universidade Federal de São Carlos pelo Departamento de Engenharia da Hece Máquinas e Acessórios Ind. e Com. LTDA, a esteira foi montada sobre uma base metálica com acabamento em pintura epóxi e laterais em alumínio. Possui cinco divisórias de largura ajustável ao tamanho do animal, em uma única pista, para garantir igualdade na velocidade entre as pistas. Movida por um motorreductor de Corrente Contínua de 24 Volts, a transmissão é feita por correia sincronizada e o comando eletrônico com variação por potenciômetro, garante o ajuste da velocidade, que varia de 0 a 32 m/min. Para o melhor manuseio dos animais no ato do exercício, o equipamento é provido de uma tela metálica superior, que garante a permanência do animal na esteira. Para melhor higiene do local onde o experimento é realizado, a esteira possui uma bandeja removível na parte inferior para a captação das fezes e urina dos animais durante o treinamento.



Figura 4 - Vista superior da esteira



Figura 5 - Vista frontal da esteira utilizada

3.2. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Quarenta ratos machos adultos da espécie Wistar, com idade de cinco meses, com peso aproximado de 500g foram fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Foram alojados no biotério pertencente ao Laboratório de Eletrotermofototerapia, no Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos. Os animais foram acomodados em dois ou três por caixa. Todos os animais

tiveram livre acesso à água e ração industrializada específica para roedores (Fig. 3.1). O Biotério possui um climatizador de ar, que mantém a temperatura em 25°C, e controle ambiental de luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas).

Quarenta animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos:

— Grupo A: repouso pós-cirúrgico de 3 dias (n=20)

— Grupo B: repouso pós-cirúrgico de 7 dias (n=20)

O Grupo A e o Grupo B foram divididos aleatoriamente em 4 subgrupos cada.

— Grupo Controle (GC): Músculos lesados sem tratamento (n=5).

— Grupo Exercício (GE): Músculos lesados e tratados com exercício físico aeróbio (n=5).

— Grupo Laser (GL): Músculos lesados e tratados com laser (n=5).

— Grupo Exercício e Laser (GEL): Músculos lesados e tratados com laser e exercício físico aeróbio (n=5).

3.3. ADAPTAÇÃO À ESTEIRA ROLANTE

A adaptação à esteira rolante foi baseada no protocolo utilizado por Vieira (2004), mas modificado para se adequar às necessidades da presente pesquisa, visto que os animais tinham idade e peso diferentes dos animais da pesquisa do protocolo original.

Todos os animais foram submetidos à adaptação ao exercício físico em esteira rolante para serem separados em grupos de tratamento. A adaptação foi realizada diariamente durante duas semanas.

1° dia: foi realizada apenas a ambientação na esteira. Os animais foram colocados na esteira, deixados por 3 minutos com a esteira desligada (Fig.6), e mais dois minutos com a esteira com velocidade de 6 metros por minuto.



Figura 6 - Ambientação dos animais na esteira

2° dia: velocidade de 8 m/min. durante 5 minutos.

3° dia: velocidade de 10 m/min. durante 5 minutos.

4° dia: velocidade de 10 m/min. durante 8 minutos.

5° dia: velocidade de 12 m/min. durante 8 minutos.

6° dia: velocidade de 12 m/min. durante 10 minutos.

7° dia: velocidade de 15 m/min. durante 10 minutos.

Na segunda semana, foram colocados na esteira com velocidade de 17 m/min. durante 10 minutos, todos os dias.

Os animais que não conseguiram acompanhar o protocolo de adaptação foram selecionados e colocados nos grupos GC e GL nos quais não tinham como tratamento, o exercício.

3.4. TÉCNICA CIRÚRGICA E PROTOCOLO DE CRIOLESÃO

Os animais foram pesados e anestesiados de acordo com o peso corporal com injeção intraperitoneal de solução composta de Cloridrato de Ketamina (0,05 mg/Kg) e Cloridrato de Xilasina (0,03 mg/Kg). Em seguida a pele que recobre o músculo foi tricotomizada e higienizada, para que fosse realizada uma incisão longitudinal de aproximadamente um centímetro e meio, na região correspondente ao ventre do músculo. O músculo submetido ao procedimento foi o Tibial Anterior Direito (TAD) e Esquerdo (TAE). Para a exposição do músculo TA, foi necessária ainda, incisão e afastamento da fáscia que o recobre.

Vários estudos (RODRIGUES, 2009; MOREIRA, 2008; PAVESI, 2008) utilizaram a criolesão (lesão tecidual foi induzida por resfriamento) para induzir a lesão muscular (MIYABARA et al. 2006). Este protocolo de criolesão foi escolhido para o desenvolvimento do atual estudo, pois é um modelo de regeneração tecidual. Este modelo é facilmente reprodutivo e gera uma lesão homogenia (não difusa) comparado a outras técnicas de lesão induzida por carga mecânica, como a lesão por estiramento através de exercício concêntrico (MALAGUTI et al. 2009) e excêntrico (LIMA-CABELLO et al. 2010), ou por contusão (com peso) (COSTARDI et al. 2008).

A criolesão foi realizada na região central do ventre do músculo TA. Para isso, um bastão de ferro com ponta de 0,5cm², previamente imerso em nitrogênio líquido por 10 segundos, foi pressionado perpendicularmente contra o ventre muscular por 30 segundos. Após novo resfriamento do bastão por 10 segundos, esse procedimento foi repetido. (Fig.7). Em seguida a pele foi suturada (Fio de Nylon 3-0 SHALON Ltda.) e limpa com álcool iodado (Fig.8).

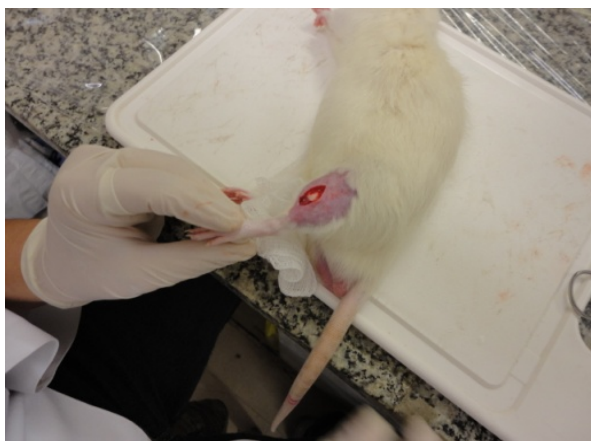


Figura 7 – Músculo TAE após criolesão



Figura 8 – Lesão já suturada e iodada

3.5. PERÍODO DE REPOUSO PRÉ-TRATAMENTO

Os animais ficaram um período em repouso, pois, a dor e incômodo da lesão após as primeiras horas pós-cirúrgicas os impediriam de realizar os exercícios físicos em esteira rolante.

Os animais do grupo A ficaram em repouso em suas gaiolas, com tratamento medicamentoso (8 gotas de Dipirona, em suas mamadeiras – 500 ml - de água) por um período de 3 dias pós-cirúrgicos.

Os animais do grupo B ficaram em repouso em suas gaiolas, com tratamento medicamentoso (8 gotas de Dipirona em suas mamadeiras - 500ml - de água) por um período de 3 dias. Após os 3 dias com tratamento medicamentoso, os animais permaneceram em repouso por mais 4 dias, totalizando um período de 7 dias de repouso.

3.6. PROTOCOLO DE IRRADIAÇÃO

O laser utilizado foi o Twin Laser® (MM Optics, São Carlos, SP, Brasil) e pode ser visualizado na figura 9, que foi previamente calibrado e novamente aferido após procedimento experimental na empresa fabricante, com o propósito de se obter uma alta confiabilidade na intensidade efetiva da emissão laser. Trata-se de um laser de diodo de Arseneto de Gálio e Alumínio de baixa intensidade, cujo feixe de saída do laser tem 0,04 cm².



Figura 9 – Aparelho de laser utilizado.

Neste estudo, foi utilizado o laser com $\lambda 780$ nm, potência de 15 mW, com densidade de energia na superfície do tecido alvo de $3,8 \text{ J/cm}^2$, durante 10 segundos por ponto, resultando numa energia de 0,152J por ponto. Foram aplicados dois pontos por músculo (TAD e TAE).

As irradiações foram feitas pelo mesmo operador durante os 5 dias de tratamento, a cada 24 horas, diretamente sobre a pele que recobre o ventre muscular (Fig.10).

Os animais submetidos ao tratamento com laser de baixa intensidade foram os animais do GL e GEL dos grupos A e B. Para as irradiações os animais não foram anestesiados.

No grupo A, os animais foram irradiados nos dias IV, V, VI, VII e VIII após a lesão e; no grupo B, os animais foram irradiados nos dias VIII, IX, X, XI e XII após a lesão.



Figura 10 – Animal sendo irradiado

3.7. PROTOCOLO DE EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO

Os animais que foram submetidos ao exercício em esteira rolante foram os animais do GE e GEL, dos grupos A e B.

No grupo A, o exercício foi realizado nos dias IV, V, VI, VII e VIII após a lesão; e no grupo B, o exercício foi realizado nos dias VIII, IX, X, XI e XII após a lesão.

Os animais do GEL faziam os exercícios após a irradiação de laser.

Os animais caminharam por 12 minutos, com velocidade de 17 metros por minuto, durante cinco dias (Fig.11). Este protocolo foi baseado no estudo de Vieira (2006).



Figura 11 – Animais em tratamento caminhando na esteira (a tampa metálica superior foi aberta para melhor visualização fotográfica).

3.8. RETIRADA DOS MÚSCULOS, EUTANÁSIA E HISTOLOGIA

No sexto dia após o início do tratamento todos os animais foram pesados e anestesiados com Ketamina e Xilasina. Os músculos TAD e TAE foram cuidadosamente dissecados e retirados com os animais ainda vivos.

Primeiramente foi retirado o TAD, que foi limpo em soro fisiológico e inserido em formalina 10% em frascos individuais nomeados. Os músculos TAD foram destinados à análise histológica.

O músculo TAE foi retirado em seguida, inserido em frascos (eppendorfs) nomeados e imediatamente colocados em nitrogênio líquido para congelamento; posteriormente levados ao freezer a -86°C . Os músculos TAE serão destinados à posterior análise através da Zimografia.

Terminado o processo de extração da musculatura, os animais foram eutanasiados com injeção intracardíaca de Cloreto de Potássio (KCl – 3M).

CONFECÇÃO DAS LÂMINAS HISTOLÓGICAS

Para a preparação das lâminas para a análise histológica, os músculos (TAD) foram cortados transversalmente, ao meio da lesão.

Os músculos TAD foram desidratados através de banhos de uma hora, em álcool, com concentrações diferentes até chegar à concentração absoluta, onde permaneceram por mais três banhos de uma hora.

Após a desidratação, foram submetidos ao processo de endurecimento, em quatro banhos, de meia hora, de Xilol.

Em seguida foram submetidos a dois banhos de parafina, para serem posicionados no recipiente com a parte cortada para baixo e imersos em parafina com Paraplast, para consolidar (emblocamento) e serem fatiados, inclusos em lâminas e corados.

Cada lâmina contém cinco cortes de 6µm de espessura, corados com HE.

ANÁLISE DAS LÂMINAS

A análise das lâminas foi realizada em um microscópio de luz (ZEISS®) com o auxílio do Programa Axio Visio 4,7 para fotografar os cortes.

Para determinação da área de lesão, 3 cortes de cada lâmina, foram fotografados com aumento de 10 vezes de objetiva. As fotos foram tiradas, de modo que houvesse intercessão entre elas. As fotos de cada corte foram agrupadas e montadas com o auxílio do Programa PT Gui 9.0, resultando em um panorama do corte, aumentado em 10 vezes. Esse panorama foi avaliado com o auxílio do Image J, para determinar a área total e a área de lesão do corte. Os dados obtidos foram agrupados em tabelas para posterior análise.

Para a contagem de vasos sanguíneos, foi utilizado o mesmo microscópio ZEISS® com o aumento de 40 vezes de objetiva. Foram tiradas 5 fotos de cada corte, totalizando 15 fotos por lâmina. As fotos foram analisadas, também, com o auxílio do Programa Image J. Os dados foram colocados em tabelas para análise.

3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos em médias e desvios padrão, organizado em tabelas e ilustrado em gráficos.

Os testes de Levene e Shapiro-Wilk foram utilizados para observar a homogeneidade de variância e distribuição dos dados, respectivamente.

Foi utilizado a técnica paramétrica [análise de variância (ANOVA) Two Way] com post hoc Tukey para comparação intergrupos.

Para investigar a relação entre as variáveis foi usado o coeficiente de correlação produto momento de Pearson. De acordo com a classificação, de 0 até 0,19 a correlação é insignificante, de 0,2 até 0,30 a correlação é fraca; de 0,4 até 0,69, é moderada; de 0,7 até 0,89, é forte; de 0,9 até 1 é muito forte. Valores negativos são correlações inversas.

Para análise estatística foi utilizado o software Statistica for Windows Release 7 (Statsoft Inc., Tulsa, Ok, USA). O nível de significância estatística foi de 5% ($p < 0.05$).

4. RESULTADOS

Os valores de média, desvio padrão e resultados estatísticos da área de lesão e do número de vasos para os grupos A e B podem ser observados respectivamente nas tabelas 1 e 2, bem como, nas figuras 12 e 13.

A tabela 1 refere-se aos dados dos animais que permaneceram 3 dias de repouso após a lesão muscular (grupo A) e foi constatada a redução significativa da área de lesão do GEL, GL e GE comparado ao GC (GLE x GC, $p = 0,0001$; GL x GC, $p = 0,0003$ e GE x GC, $p = 0,02$), bem como, do GEL comparado aos GE e GL (GEL x GE, $p = 0,0001$ e GEL x GL, $p = 0,0001$). Também foi constatado o aumento significativo no número de vasos sanguíneos do GEL e GL comparado ao GC (GEL x GC, $p = 0,0004$ e GL x GC, $p = 0,006$), bem como, do GEL comparado ao GE (GEL x GE, $p = 0,03$).

A tabela 2 refere-se aos dados dos animais que permaneceram 7 dias de repouso após a lesão muscular (grupo B) e foi constatada a redução significativa da área de lesão do GEL, GL e GE comparado ao GC (GLE x GC, $p = 0,0001$; GL x GC, $p = 0,0001$ e GE x GC, $p = 0,0001$), bem como, do GEL comparado aos GE e GL (GEL x GE, $p = 0,0002$ e GEL x GL, $p = 0,002$). Também foi constatado o aumento significativo no número de vasos sanguíneos do GEL e GL comparado ao GC (GEL x GC, $p = 0,007$ e GL x GC, $p = 0,006$).

Pode-se observar que houve o aumento significativo do número de vasos sanguíneos e a redução significativa da área de lesão nos grupos A e B, constada pela correlação negativa, significativa e forte entre as variáveis analisadas (área de lesão e número de vasos sanguíneos) para o Grupo A ($r = - 0,71$; $p = 0,0006$), bem como, para o grupo B ($r = - 0,76$ e $p = 0,0002$).

Tabela 1: Valores de média, desvio padrão e resultados estatísticos da área de lesão e do número de vasos do grupo A.

	GC	GE	GL	GEL
Área de Lesão (%)	23,9 ± 0,37	21 ± 0,26 ^a	18,6 ± 0,64 ^a	4,4 ± 0,42 ^{abc}
Número de vasos	34,4 ± 2,54	51,6 ± 7,30	60,6 ± 11,25 ^a	71,2 ± 13,51 ^{ab}

^a Diferença significativa intergrupo (GEL x GC; GL x GC; GE x GC), p < 0,05

^b Diferença significativa intergrupo (GEL x GE), p < 0,05

^c Diferença significativa intergrupo (GEL x GL), p < 0,05

Tabela 2: valores de média, desvio padrão e resultados estatísticos da área de lesão e do número de vasos do grupo B.

	GC	GE	GL	GEL
Área de Lesão (%)	21,4 ± 0,38	8,7 ± 0,32 ^a	7,5 ± 0,13 ^a	3,5 ± 0,14 ^{abc}
Número de vasos	65,7 ± 14,1	93,8 ± 15,1	93,5 ± 16,87 ^a	104,5 ± 11,78 ^a

^a Diferença significativa intergrupo (GEL x GC; GL x GC; GE x GC), p < 0,05

^b Diferença significativa intergrupo (GEL x GE), p < 0,05

^c Diferença significativa intergrupo (GEL x GL), p < 0,05

Diferenças significativas entre os grupos A e B foram constatadas. A área de lesão (Figura 12) foi significativamente menor para o grupo B que permaneceu 7 dias de repouso (GE, p = 0,0001; GL, p = 0,0001 e GLE, p = 0,0001) comparada ao grupo A que permaneceu 3 dias de repouso. O número de vasos sanguíneos (Figura 13) foi significativamente maior para o grupo B que permaneceu 7 dias de repouso (GC, p = 0,02; GE, p = 0,0001; GL, p = 0,0001 e GLE, p = 0,0001) comparada ao grupo A que permaneceu 3 dias de repouso.

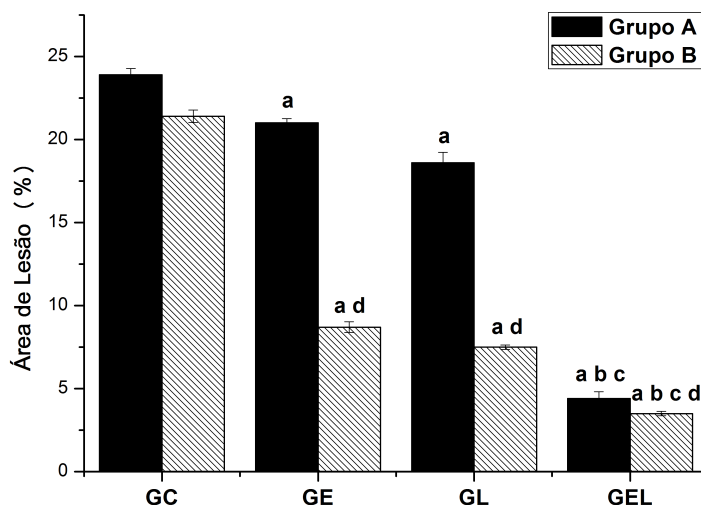


FIGURA 12: Redução da área de lesão para os grupos A e B. ^a Diferença significativa intergrupo (GEL x GC; GL x GC; GE x GC), $p < 0,05$; ^b Diferença significativa intergrupo (GEL x GE), $p < 0,05$; ^c Diferença significativa intergrupo (GEL x GL), $p < 0,05$; ^d Diferença significativa intergrupo (A x B), $p < 0,05$.

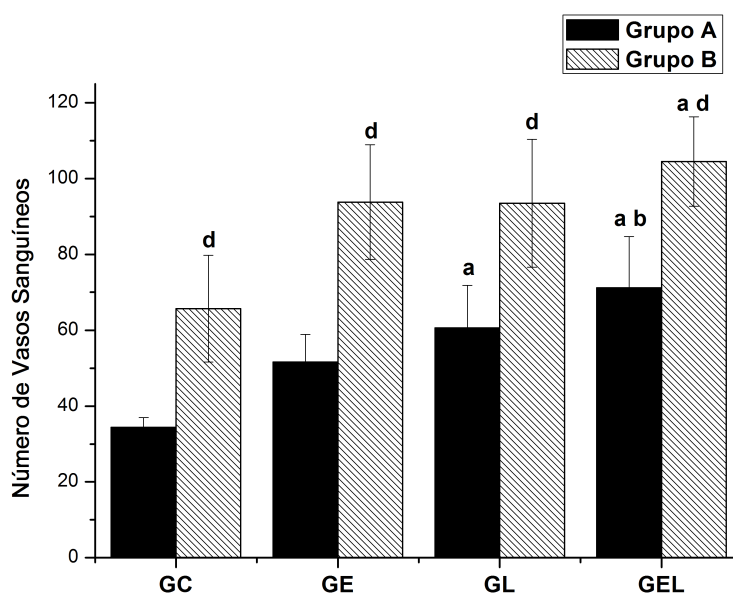


FIGURA 13: Aumento do número de vasos sanguíneos para os grupos A e B. ^a Diferença significativa intergrupo (GEL x GC; GL x GC; GE x GC), $p < 0,05$; ^b Diferença significativa intergrupo (GEL x GE), $p < 0,05$; ^c Diferença significativa intergrupo (GEL x GL), $p < 0,05$; ^d Diferença significativa intergrupo (A x B), $p < 0,05$.

A análise qualitativa do processo de regeneração do músculo TAD do grupo A (Figura 14) e do Grupo B (Figura 15) podem ser observadas através da análise histológica das lâminas coradas com HE e em 10x de aumento. O GEL, GL e GE mostraram maior reparação tecidual comparado ao GC. Entretanto, o GEL mostrou acelerado processo de regeneração muscular comparado aos outros grupos. Ainda, o Grupo B mostrou maior qualidade tecidual comparado ao Grupo A, principalmente o GEL.

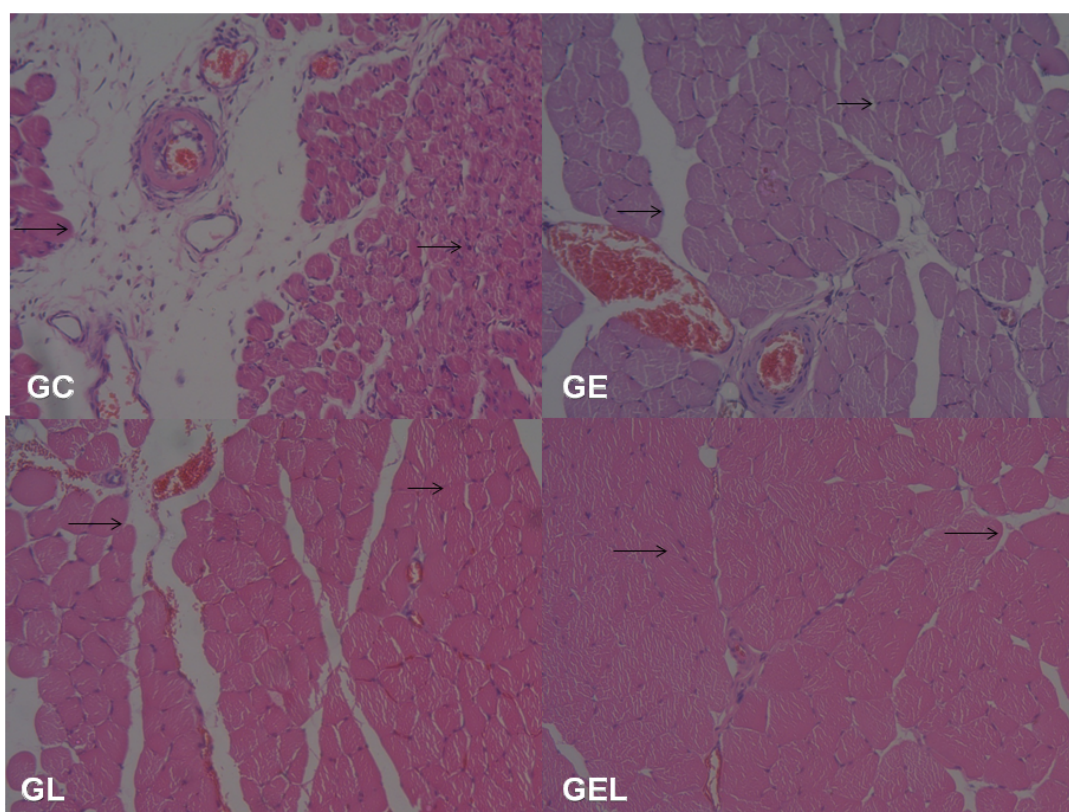


Figura 14: Análise morfológica da região lesada no músculo TAD do Grupo A. O GC mostra núcleos centralizados, maior infiltrado inflamatório, maior presença de tecido conjuntivo e desorganização fascicular. O GE mostra núcleos periféricos, menor quantidade de infiltrado inflamatório, menor presença de tecido conjuntivo e maior organização fascicular comparada a GC. O GL mostra núcleos periféricos, menor quantidade de infiltrado inflamatório, menor presença de tecido conjuntivo e maior organização fascicular comparado a GE e GC. O GEL mostra núcleos periféricos, menor quantidade de infiltrado inflamatório, menor presença de tecido conjuntivo e maior organização fascicular comparada aos grupos GL, GE e GC. → região correspondente ao infiltrado inflamatório e núcleo celular.

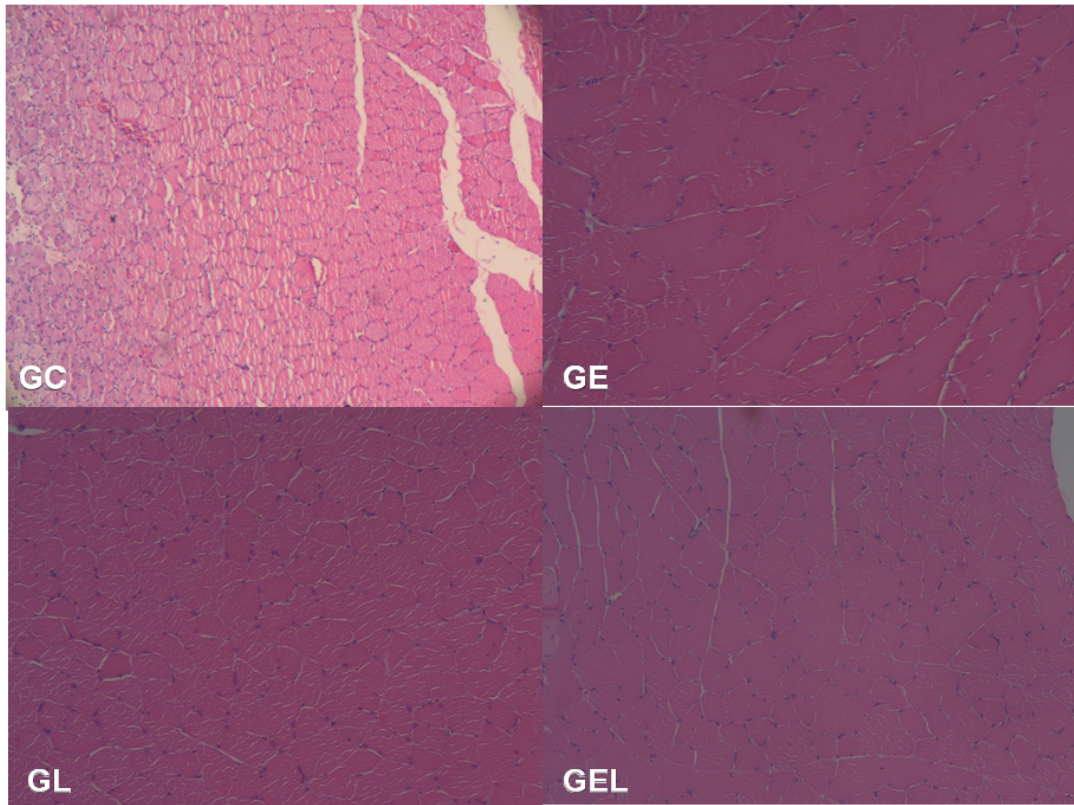


Figura 15: Análise morfológica da região lesada no músculo TAD do Grupo B. O GC mostra núcleos periféricos, infiltrado inflamatório, tecido conjuntivo e desorganização fascicular. O GE, GL e GEL mostram núcleos periféricos e organização fascicular, entretanto, não apresentam infiltrado inflamatório. O grupo GEL mostra maior qualidade tecidual comparado ao GL, GE e GC.

5. DISCUSSÃO

Este foi o primeiro estudo que investigou a ação do laser aplicado antes do exercício aeróbio na esteira sobre o processo de regeneração muscular com diferentes períodos de repouso pós-lesão em ratos.

Foi constatado que em todos os grupos tratados houve maior reparação tecidual comparado ao grupo sem tratamento, tanto no período de 3 dias de repouso pós-lesão, quanto no período de 7 dias de repouso pós-lesão. Entretanto, o grupo que fez laserterapia antes do exercício aeróbio na esteira mostrou acelerado processo de regeneração muscular comparado aos grupos que realizaram apenas a laserterapia ou apenas o exercício aeróbio. Ainda, observou-se que o repouso de 7 dias pós-lesão mostrou maior reparação tecidual com menor área de lesão e maior número de vasos sanguíneos com melhor qualidade tecidual comparado ao repouso de 3 dias pós-lesão, principalmente no grupo que fez a laserterapia associada ao exercício aeróbio. Entretanto, se a meta é acelerar o processo de reabilitação e iniciar o tratamento precocemente, a aplicação de laser e exercício aeróbio após 3 dias de repouso pós-lesão demonstrou ser o melhor protocolo com acelerado processo de reparação tecidual comparado aos outros tratamentos também realizados depois de 3 dias da ocorrência da lesão muscular.

Inúmeras pesquisas têm demonstrado que a laserterapia acelera o processo de reparação tecidual, pois de acordo com Paolillo et al. (2011b) a fototerapia gera ativação celular pela absorção da luz por cromóforos que acelera o transporte de elétrons na cadeia respiratória da mitocôndria, do citocromo c para oxigênio molecular e possibilita diversos efeitos terapêuticos, como o aumento da síntese de ATP, alterações nas expressões de DNA/RNA e regeneração tecidual da pele, músculo, osso e nervos periféricos, além da ação anti-inflamatória e analgésica. Ainda, de acordo com Corazza et al. (2007) a fotobioestimulação gera proliferação de fibroblastos, deposição de colágeno e aumento dos vasos sanguíneos com consequente aumento do suprimento de oxigênio e nutrientes ao novo tecido, o que favorece o aumento da taxa metabólica e da atividade mitótica celular.

Diferenças nos parâmetros de irradiação entre os estudos *in vitro* e *in vivo*, principalmente entre animais e humanos são distintos devido a curva dose *versus* resposta biológica de Arndt-Schultz. Esta lei prediz um efeito dose-dependente, ou seja, acredita-se que haja um valor de dose que acima do limiar ocasione fotobioestimulação

e um abaixo que ocasione fotobioinibição (Peplow et al. 2010). Em relação à penetrabilidade, diferenças entre os estudos com cultura de célula, animais e humanos devem ocorrer, pois o volume tecidual é maior nos humanos comparado aos ratos, devido a diferenças na composição corporal, o que pode diminuir a propagação da luz, diferentemente da irradiação de cultura de células.

Em estudo *in vitro* sobre os efeitos da fototerapia (632.8 nm, 4.5 mW durante 3 segundos) sobre a regeneração muscular constatou-se que o ciclo celular foi estimulado e houve acúmulo de células satélites ao redor de uma única fibra isolada. Isso indica sobrevivência de fibras e de células adjacentes, como as miogênicas, que geralmente sofreriam apoptose (SHEFER et al., 2002).

Em estudos com animais, Oliveira et al. 1999 avaliou os efeitos do laser infravermelho (904 nm) com 1,5 mW de potência, 7,5 mW/cm² de intensidade e em diferentes doses (3 J/cm² e 10 J/cm²) aplicado sobre o processo de regeneração muscular em ratos e não obteve mudanças morfológicas comparado ao grupo sham, o que indica ausência de resultados da fototerapia. Entretanto, os efeitos terapêuticos do infravermelho são dependentes dos parâmetros de irradiação, como o comprimento de onda, densidade de potência, energia e fluência, além da frequência de tratamento.

Por outro lado, Rizzi et al. (2006) constataram que o laser infravermelho (904 nm, 45 mW durante 35 segundos e dose de 5 J/cm²) em ratos acelerou o processo de recuperação da lesão muscular induzida por trauma mecânico por reduzir o processo inflamatório, com bloqueio dos efeitos da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e inibição da ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF-kB) e redução do óxido nítrico sintase induzida (iNOS). Em estudo similar, Fillipin et al. (2005) também utilizou o laser infravermelho (904 nm, 45 mW durante 35 segundos e dose de 5 J/cm²) em ratos e constatou o rápido processo de recuperação da lesão tendínea com redução da fibrose e regulação da síntese de colágeno. Estes efeitos benéficos da fototerapia sobre a reparação de lesões musculares e tendíneas são decorrentes do equilíbrio oxidante/antioxidante (Filippin et al. 2005).

No estudo de Avni et al. (2005) foi constatado que a aplicação de diferentes intensidades (1,4 mW/cm², 2,8 mW/cm² e 4,5 mW/cm²) de infravermelho (810 nm) no músculo esquelético intacto e com lesão isquêmica em ratos resultou na prevenção da degeneração muscular, pois induziu a síntese de antioxidantes e de outras proteínas citoprotetoras.

Paralelamente aos efeitos terapêuticos da fototerapia sobre o processo de regeneração tecidual, o exercício físico também possibilita adaptações fisiológicas sistêmicas, em especial musculares, representadas principalmente pelo aumento do número de mitocôndrias, com consequente aumento de atividade oxidativa, contribuindo para o bom desempenho muscular (WILMORE E COSTILL, 2001; POWERS E HOWLEY, 2000).

Neste contexto, a influência do exercício no processo de regeneração muscular vem sendo investigada e constatou-se que a mobilização provoca o aumento de miofibrilos, crescimento rápido e intenso dos capilares, formação e orientação do tecido de cicatrização, além do ganho de força tênsil (JARVINEN, 1991; VENOJARVI, 2004).

No entanto, embora o tratamento por meio do exercício físico aeróbio venha se mostrando um método muito favorável e eficaz, ele é alvo de alguns estudos e discussões em relação ao tempo de início do exercício (FERRARI, 2004). Estudos mostraram que o início do exercício imediatamente após a lesão muscular pode causar rupturas e fraqueza do tecido da área lesada, devendo ser evitada nos primeiros dias após a lesão (LEHTO; JARVINEN, 1991; JARVINEN; LEHTO, 1993). Por outro lado, Gregory, Heckmann e Francis (1995) investigaram o efeito do exercício físico aeróbio após 3 dias de lesão e observaram a diminuição do número de leucócitos, eritrócitos e fibras colágenas, o que indicou melhor resposta à lesão quando o exercício foi precocemente prescrito no período pós-lesão.

No presente estudo, o grupo que ficou 7 dias de repouso pós-lesão obteve melhores resultados comparado ao grupo que permaneceu apenas 3 dias de repouso pós-lesão. Este resultado pode estar relacionado com o tempo de reparação tecidual. Borato et al. (2008) demonstrou que aos 21 dias pós-lesão a regeneração muscular pode estar completa mesmo sem intervenção terapêutica. Resultados similares também são mostrados por Ferrari (2005).

Entretanto, é importante ressaltar que se a meta é acelerar o processo de reabilitação de pessoas jovens, adultas e idosas que sofreram lesão muscular em esportes competitivos, recreação, acidentes de trânsito e jornadas excessivas de trabalho, a aplicação da laserterapia associada ao exercício é fundamental, pois os resultados do atual estudo mostraram que a intervenção precoce após 3 dias da ocorrência da lesão acelerou o processo de regeneração muscular com presença de maior número de vasos sanguíneos e menor área de lesão com melhor qualidade

tecidual comparado ao grupo sem tratamento e também aos outros grupos tratados com apenas exercício ou apenas laser.

A luz age no metabolismo energético celular através de mecanismos químicos com ativação ou mudança do potencial redox de componentes da cadeia respiratória da mitocôndria, principalmente o citocromo C oxidase e o NADH desidrogenase (Vladimirov, Osipov e Klebanov 2004), bem como através de mecanismos estruturais que possibilitam a formação de mitocôndrias gigantes (Bakeeva et al. 1993). O exercício físico também gera adaptações estruturais e metabólicas na mitocôndria (Lumini-Oliveira et al. 2011; Lumini-Oliveira et al. 2009) e assim, a fototerapia pode ser realizada antes, durante ou após o exercício físico para potencializar os efeitos terapêuticos, com consequente redução da fadiga (Paolillo et al. 2011b), aumento do desempenho de atletas (Leal Junior et al., 2009c), menor tempo de recuperação pós-exercício (Paolillo et al. 2012a; Leal Junior et al. 2010) e acelerada reparação de lesões musculares (Sussai et al. 2009).

Ainda, segundo Sussai et al. (2009), o exercício pode gerar lesões musculares, dor tardia após o exercício, fadiga, processo inflamatório e apoptose celular. Assim, o estresse metabólico induzido pelo exercício favorece a ação da fototerapia, pois a resposta tende a ser melhor quando o estado redox da célula é alterado. Seus dados mostraram que a fototerapia (660 nm, 100 mW e 133.3 J/cm²) aplicada após o exercício físico na água em ratos resultou em alteração metabólica, com redução dos níveis de creatina quinase e prevenção de apoptose celular.

Camargo et al. (2012) investigou os efeitos da LEDterapia com infravermelho (940 nm, 160 mW, 9.5 mW/cm² e 4 J/cm²) aplicada após o exercício físico na água (100 minutos) e comparou com os efeitos da crioterapia (10 °C por 10 minutos) realizada após o exercício físico na água (100 minutos). Seus resultados mostram menor área lesada, menor infiltrado inflamatório e menor nível de creatina quinase, o que demonstra que a fototerapia é mais eficiente na prevenção da lesão muscular e inflamação local.

Assim, diversos estudos mostram que no período pós-exercício houve redução dos níveis séricos dos marcadores bioquímicos de lesão muscular, como a creatina quinase e a proteína C-reativa, quando a fototerapia foi aplicada antes (Leal Jr et al. 2009c; Leal Jr et al. 2010) ou após (Sussai et al. 2010; Camargo et al. 2012) o exercício físico, indicando acelerada recuperação pós-exercício.

No atual estudo, foi utilizado o laser infravermelho (780 nm) com 15 mW durante 10 segundos, com energia de 0,152 J e dose de 3,8 J/cm² em único ponto no TAD de ratos antes do exercício na esteira. O comprimento de onda infravermelho foi escolhido porque seu espectro mostra melhor penetração através da pele comparada ao intervalo vermelho (Enwemeka 2009). Em estudo similar, Vieira et al. (2006) também aplicou o laser infravermelho (780 nm, 15 mW e 3,8 J/cm²) após o exercício na esteira em ratos e constatou melhor resposta adaptativa com otimização da via oxidativa, verificada pela inibição da enzima lactato desidrogenase (LDH - enzima terminal da glicólise anaeróbia).

Ferraresi et al. (2011b) aplicou a laserterapia imediatamente após o treinamento de força em jovens e constatou acelerada recuperação de microlesões musculares pós-exercício com aumento da expressão de genes relacionados a biogênese mitocondrial (PPARGC1- α), síntese protéica (mTOR) e angiogênese tecidual (VEGF), bem como redução da expressão de genes relacionados a degradação protéica (MuRF1) e inflamação (IL-1 β).

A fototerapia também tem ação anti-inflamatória (Castano et al. 2007) com analgesia e vasodilatação (Whelan et al. 2001) que pode aliviar a dor nos músculos para que o exercício físico seja realizado sem dificuldade e com efeito de proteção durante a realização do treinamento físico (Paolillo et al. 2011b).

Liu e colaboradores (2009) aplicaram a laserterapia com diferentes potências (4 mW, 9 mW e 14 mW) e diferentes intensidades (20 mW/cm², 46 mW/cm² e 71 mW/cm²) durante 10 minutos após a indução de lesão muscular em ratos através do exercício excêntrico em esteira ergométrica e constataram pouco infiltrado inflamatório, menos fibras necróticas, bem como, redução dos níveis de creatina quinase, aumento da atividade do superóxido dismutase e redução do malondialdeído comparado ao grupo sem fototerapia. Este aumento da atividade antioxidante e a redução da reação inflamatória são importantes para aumentar a função muscular e acelerar o processo de reabilitação.

O aumento da função muscular com maior potência e reduzida fadiga do quadríceps (Paolillo et al. 2011b), bem como, o aumento da capacidade aeróbia com acelerada recuperação dos parâmetros cardiovasculares no período pós-exercício (Paolillo et al. 2012b) foram observados quando a LEDterapia (850 nm, 100 mW e 108 J/cm²) foi aplicada durante o exercício físico na esteira ergométrica em mulheres de meia-idade. Resultados similares na função muscular foram obtidos por Vieira et al.

(2011) que aplicou a laserterapia (808 nm, 60 mW e 18 J) em mulheres jovens após o exercício na bicicleta ergométrica e constatou o aumento da resistência à fadiga. As hipóteses citadas pelos autores sugerem que a fototerapia induz a formação de mitocôndria gigante; integração entre a via aeróbia e anaeróbia para produção de ATP com maior re-síntese de fosfocreatina; remoção e oxidação de ácido láctico pela via aeróbia e; o aumento na expressão de genes mitocondriais ou outros envolvidos no metabolismo energético (Vieira et al. 2011).

No estudo de DeMarchi et al. (2012) constatou-se resultados imediatos da fototerapia aplicada antes do teste ergométrico na esteira, como maior tempo de realização de exercício, maior $VO_2\text{max}$ e menor estresse oxidativo comparado ao grupo placebo, devido a modulação do sistema redox que previne as lesões musculares, aumenta a força muscular e a resistência à fadiga (Paolillo et al. 2012b; Baroni et al. 2010a e Baroni et al. 2010b). Ainda, em outros estudos em que a fototerapia (Leal Jr et al. 2008 e Leal Jr et al. 2009d) foi aplicada antes do exercício físico foram identificados o aumento do número de contrações musculares e menores níveis de lactato sanguíneo em jovens comparado ao grupo placebo, o que também indica aumento da resistência à fadiga.

É importante enfatizar que a análise morfométrica do presente estudo mostrou padrões regenerativos diferentes na área lesada do músculo TA dos ratos dos diferentes grupos avaliados, principalmente em relação ao número de vasos sanguíneos. Neste contexto, a angiogênese é importante para o processo de regeneração tecidual, pois propicia o suprimento sanguíneo adequado para permitir maior aporte de oxigênio e nutrientes, além de favorecer a migração de células satélites para o local da lesão (GERMANI et al. 2003). Vários estudos mostram que a fototerapia aumenta a angiogênese e a microcirculação (MAKIHARA E MASUMI, 2008; CORAZZA et al. 2007; MOHAMMED IHSAN, 2005).

A fototerapia (LASER CO_2 , modo contínuo, 1 W, $7.64 J/cm^2$) foi aplicada à 10 cm de distância da pele em padrão elíptico na face direita jovens e foi constatado o aumento da temperatura da face (Makihara et al. 2005). Este efeito térmico (Paolillo et al. 2011a) ocorreu devido ao aumento do fluxo e volume sanguíneo, bem como do diâmetro dos vasos sanguíneos, o que pode explicar um dos mecanismos do tratamento da dor.

Outros mecanismos envolvidos no tratamento da dor são a modulação da nocicepção, bem como o aumento da produção de serotonina, betaendorfina e redução de mediadores inflamatórios propiciados pela fototerapia (Paolillo et al. 2012b).

De acordo com Paolillo et al (2012b), a luz terapêutica tem contribuído para a diminuição de citocinas inflamatórias do tipo IL-1, IL-6 e TNF- α e conseqüentemente de todo o processo inflamatório. É reconhecido que o aumento de fatores anabólicos auxilie na recuperação pós-lesão por meio do aumento do fator de crescimento semelhante à insulina do tipo 1 (IGF-1) para estimular a reparação dos tecidos devido a sinalização anabólica para a síntese protéica no músculo. Neste sentido, a fototerapia tem demonstrado resultados positivos para o aumento na produção de IGF-1 e fator de crescimento fibroblástico (FGF) que contribuem para o aumento da massa muscular, além do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (Saygun et al. 2008); (Mozzati et al. 2011) que tem importante ação na angiogênese (Corazza et al. 2007). Deste modo, a fototerapia é um importante agente físico não-invasivo que complementa o processo de reabilitação para maior eficiência terapêutica no processo de reparação tecidual.

Assim, a ação anti-inflamatória e analgésica propiciada pela fototerapia também pode auxiliar na redução da dor.

Entretanto, futuros estudos são necessários para maior exploração dos mecanismos de ação da laserterapia associada ao exercício físico aeróbio sobre o processo de regeneração muscular,

6.CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que tanto o laser quanto o exercício físico aeróbio foram eficazes para o tratamento da lesão muscular. Porém quando utilizados simultaneamente denotaram insignes resultados.

Portanto, a laserterapia associada ao exercício físico aeróbio acelerou o processo de regeneração muscular, evidenciado pela análise quantitativa que mostrou aumento do número de vasos sanguíneos e redução da área de lesão muscular e também pela análise qualitativa que indicou núcleos periféricos, menor quantidade de infiltrado inflamatório, menor presença de tecido conjuntivo e maior organização fascicular comparado aos outros grupos.

Diante dos resultados obtidos, este protocolo pode ser potencialmente utilizado no processo de reabilitação das lesões musculares em seres humanos. Entretanto, é essencial o desenvolvimento de novos equipamentos fotônicos voltados para seres humanos que possibilitam a irradiação corpórea de maneira anatômica e investigações sobre a adequação dos parâmetros de irradiação laser e diferentes protocolos de exercício físico.

7. BIBLIOGRAFIA

AHTIKOSKI, A. M.; KOSKINEN, S. O.; VIRTANEN, P.; KOVANEN, V.; RISTELI, J.; TAKALA, T. E. Synthesis and degradation of type IV collagen in rat skeletal muscle during immobilization in shortened and lengthened positions. *Acta Physiol Scand*, 177: 474 – 481. 2003.

AMARAL, A. C.; PARIZOTTO, N. A.; SALVINI, T. F. Dose-dependency of low-energy HeNe laser effect in regeneration of skeletal muscle in mice. *Lasers Surg Med*, v. 16, p. 44 – 51, 2001.

AMAT A, RIGAU J,WAYNANT RW, ILEV IK, TOMAS J, ANDERS JJ (2005) Modification of the intrinsic fluorescence and the biochemical behavior of ATP after irradiation with visible and near-infrared laser light. *J Photochem Photobiol B* 81:26–32.

AVNI, D. et al. Protection of Skeletal Muscles from Ischemic Injury: Low-Level Laser Therapy Increases Antioxidant Activity. *Photomedicine and Laser Surgery* 23 (3): 273–277, 2005.

BAKEEVA LE, MANTEIFEL VM, RODICHEV EB, KARU TI (1993) Formation of gigantic Mitochondria in human blood lymphocytes under the effect of an He-Ne laser. *Mol Biol (Mosk)* 27:608–617.

BAKEEVA, L.E., MANTEIFEL, V.M., RODICHEV, E.B., KARU, T.I. (1993). Formation of Gigantic Mitochondria in Human Blood Lymphocytes under the Effect of a He-Ne Laser. *Mol Biol (Mosk)*. 27, 608-617.

BARONI BM, LEAL JUNIOR ECP, DE MARCHI T, LOPES AL, SALVADOR M, VAZ MA. Low Level Laser Therapy Before Eccentric Exercise Reduces Muscle Damage Markers in Humans. *Eur J Appl Physiol*, 110:789-796, 2010.

BARONI BM, LEAL JUNIOR ECP, GEREMIA JM, DIEFENTHAELER F, VAZ FM. Effect of Light-Emitting Diodes Therapy (LEDT) on Knee Extensor Muscle Fatigue. *Photomedicine and Laser Surgery*, 28:653-658, 2010.

BASSOLI, D.A. Avaliação dos efeitos do ultra som pulsado de baixa intensidade na regeneração de músculos esqueléticos com vista à aplicabilidade em clínica fisioterapêutica. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Universidade de São Paulo. 93 p. São Carlos, 2001.

BODINE - FOWLER, S. Skeletal muscle regeneration after injury: overview. **Journal of Voice**, Saint Louis, v.8, n.1, p.53-62. 1994.

BONETTI, L.V. Análise morfofuncional do músculo sóleo e nervo ciático de ratos submetidos ao treinamento de equilíbrio e coordenação após lesão por esmagamento do nervo ciático. 2008. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Neurociências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

BORATO, E.; OLIVEIRA, J.J.J.; CIENA, A.P. Avaliação imediata da dor e edema da lesão induzida por formalina e tratada com laser de baixa intensidade, 808 nm. *Rev. Bras. Med. Esporte.* v. 14, p. 446 – 449. Niterói, Rio de Janeiro, 2008.

BUCCI, M.; VINAGRE, E.C.; CAMPOS, G.E.R.; CURI, R.; PITHON-CURI, T.C. Efeitos do treinamento concomitante de hipertrofia e endurance no músculo esquelético. *Rev. Bras. Ci e Mov.* vol. 13. n.1. pag.17 – 28. 2008.

CAMARGO MZ, SIQUEIRA CPCM, PETRI MCP et al. Effects of light emitting diode (LED) therapy and cold water immersion therapy on exercise-induced muscle damage in rats. *Lasers Med Sci* (2012) 27:1051–1058.

CARMELI, E.; MOAS, M.; REZNICK, A.Z.; COLEMAN, R. Matrix metalloproteinases and skeletal muscle: a brief review. *Muscle Nerve*, 29: 191 – 197, 2004.

CARMELI, E.; MOAS, M.; LENNON, S.; POWERS, S.K. High intensity exercise increases expression of matrix metalloproteinases in fast skeletal muscle fibres. **Exp. Physiol**, 90: 613 – 619, 2005.

CARVALHO, R. A. Análise do mecanismo de ação de lasers de baixa intensidade, na região do visível vermelho, em inflamação aguda induzida por carragenina. Tese (Doutorado apresentado ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Biomédica do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba) – Universidade do Vale do Paraíba. São José dos Campos, 2006.

CASTANO, A.P. DAI, T., YAROSLAVSKY, I., et al. (2007). Low-Level Laser Therapy for Zymosan-Induced Arthritis in Rats: Importance of Illumination Time. *Lasers in Surgery and Medicine.* 39, 543-550.

COELHO, V. H. M. Fluorescência óptica no diagnóstico de lesões teciduais. 61 f. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós Graduação em Bioengenharia – Interunidades – Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos) – Universidade de São Paulo. São Carlos, 2005.

CORAZZA AV, JORGE J, KURACHI C, BAGNATO VS. Photobiomodulation on the Angiogenesis of Skin Wounds in Rats Using Different Light Sources. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2007; 25(2):102-106.

COSTARDI, C. H. Z.; TAMACHIRO, I. E. J.; GOMES, A. C. Efeito do Laser de Baixa Intensidade (670 nm) Após Contusão Muscular em Ratos. *Fisioter. Mov.* v. 2, p. 21 – 30, 2008.

CRISCO, J. et al. A muscle contusion injury model. **The American Journal of Sports Medicine**, Columbus, v.22, n.5, p.702-710, Sept. 1994.

DE MARCHI T, LEAL JUNIOR ECP, BORTOLI C, TOMAZONI SS, LOPES-MARTINS RAB, SALVADOR M. Low-level laser therapy (LLLT) in human progressive-intensity running: effects on exercise performance, skeletal muscle status, and oxidative stress. *Lasers Med Sci. Online First™*, 08 July 2011. DOI 10.1007/s10103-011-0955-5.

ENWEMEKA, C.S. (2009). Intricacies of Dose in Laser Phototherapy for Tissue Repair and Pain Relief. *Photomedicine and Laser Surgery*. 27, 387-393.

FEHR, H.G.; LOTZERICH, H.; MICHNA, H.; Human macrophage function and physical exercise: phagocytic and histochemical studies. *Eur J Appl Physiol*, n. 58, p. 613- 617. 1989.

FERRARI, J.R.; PICCHI, L.D.; BOTELHO, A.P.; MINAMOTO, V. processo de regeneração na lesão muscular: uma revisão. **Fisioterapia em Movimento**, Curitiba. v.8, n. 2, p. 63 – 71, abr/jun. 2005.

FERREIRA, M. A. Efeitos do Laser de Baixa Intensidade no Processo de Cicatrização em Ratos Jovens e Idosos: Estudo Morfométrico e Morfológico. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós graduação em Ciências da Saúde) – Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS. Alfenas, 2006.

FERRARESI C, OLIVEIRA TB, ZAFALON LO et al (2011a) Effects of low level laser therapy (808 nm) on physical strength training in humans. *Lasers Med Sci* 26:349–358.

FERRARESI, C. ; REIFF, R.B.M. ; BAGNATO, V.S. ; PANEPUCCI, R.A. ; MATHEUCCI JÚNIOR, E. ; PARIZOTTO, NA . Low Intensity LASER Therapy Modulates Gene Expression And Increases Human Muscle Performance in Exercise. In: 16h International WCPT Congress, 2011, Amsterdam. World Confederation for Physical Therapy 2011b - Amsterdam Holland, 2011. v. 97.

FILLIPIN, L.I., MAURIZ, J.L., VEDOVELLI, K., et al. (2005). Low-Level Laser Therapy (LLLT) Prevents Oxidative Stress and Reduces Fibrosis in Rat Traumatized Achilles Tendon. *Lasers in Surgery and Medicine*. 37, 293-300.

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

FOSCHINI, R.M.S.A.; RAMALHO, F.S.; BICAS, H.E.A. Células satélites musculares. *Arquivo Brasileiro de Oftalmologia*. v. 4, n. 67, p. 681 – 687, 2004.

FOSS, M. L.; KETAYIAN, S. J. Bases Fisiológicas da Educação Física e dos Desportos. 6ª Edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000.

GAMBIRAZI, L.M. Laser de Baixa Potência na Prevenção de Mucosite em Pacientes submetidos à Quimioterapia com Fluorouracil e ácido Folínico. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. 108p. São Paulo, 2007.

GARTNER, P.L.; HIATT, J. L. Histologia. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1999.

GERMANI A, DI CARLO A, MANGONI A, STRAINO S, GIACINTI C, TURRINI P, BIGLIOLI P, CAPOGROSSI MC. Vascular endothelial growth factor modulates skeletal myoblast function. *American Journal of Pathology*, Vol. 163, No. 4, 1417-1428, 2003.

GLADDEN, L. B. Muscle as a consumer of lactate. *Med. Sci. Sport. Exerc.*, v. 32, n. 34, p. 764 – 771, 2000.

GOUVÊA, C.M.C.P.; VIEIRA, P.M.N.V.; AMARAL, A.C. Efeito do Ultra – Som na recuperação de Músculo Tibial Anterior de Rato Lesado. Rev. Un. Alfenas, Alfenas, v. 4, p. 165 – 173. 1998. Disponível em: http://www.unifenas.br/PESQUISA/revistas/download/ArtigosRev2_98/pag165-173.pdf. Acesso em 21 de outubro de 2011.

GREGORY, T.M.; HECKMENN, R.A.; FRANCIS, R.S. The effect of exercise on the presence of leukocytes, erythrocytes and collagen fibers in skeletal muscle after contusion. *J. Manipulative Physiol Ther.*, v. 18, n. 2, p. 72 – 78. 1995.

GRONDS, M.D. Towards understanding skeletal muscle regeneration. **Pathology, Research and Practice**, Stuttgart, v.187, p.1-22. 1991.

HERRERA,E; SANDOVAL,L.C.M.;CAMARGO,D.M.; SALVINI, T.F. Effect of walking and resting after three cryotherapy modalities on the recovery of sensory and motor nerve conduction velocity in healthy subjects. **Rev. Bras. Fisioterapia**. São Carlos, v.15, n.3, p. 233 – 40. 2011.

HOPKINS, J. T.; McLODA, T. A.; SEEGMILLER, J. G.; BAXTER, G. D. Low-level laser therapy facilitates superficial wound healing in humans: a triple-blind, sham-controlled study. *Journal Athletic Training*, v. 39, p. 223 – 229. 2004.

IRRCHER I, ADHIHETTY PJ, JOSEPH AM, LJUBICIC V, HOOD DA (2003) Regulation of mitochondrial biogenesis in muscle by endurance exercise. *Sports Med* 33:783–793.

JARVINEN, M.J.; LEHTO, M.Y.K. The effect of early mobilization and immobilization on the healing process following muscles injuries. *Sports Med.*, v. 15, p. 78 – 89, 1993.

JARVINEN, T.A.H.; JARVINEN, T.L.N.; KAARIAINEN, M.; KALIMO, H.; JARVINEN, M. Muscle injuries: Biology and Treatment. **The American Journal of Sports Medicine**. V.33, n.5, p. 745-763, 2005.

JUNQUEIRA, J.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Ed. Guanabara Koogan. p. 159-178: Tecido muscular. Rio de Janeiro, 1999.

KARU, T.I.; Photobiological fundamentals of low power laser therapy. *IEEE J Quant elect QE* 1987; 23 (10): 1703-17.

KARU, T. I. Photobiology of low laser effects. *Health Phys*. v. 56, p. 691 – 704, 1998

KARU TI, PIATYBRAT LV, AFANASYEVA NI (2004) A novel mitochondrial signaling pathway activated by visible-to-near infrared radiation. *Photochem Photobiol* 80:366–372.

KERIF, S.; LAFUMA, C.; DEHAUPAS, M.; LACHKAR, S.; FOURNIER, J.G.; VERDIERE-SAHUQUE, M.; FARDEAU, M.; ALAMEDDINE, H.S. Expression of matrix extraproteinases 2 and 9 in regenerating skeletal muscle: a study in experimentally injured and mdx muscles. *Dev. Biol*, 205: 158 – 170, 1999.

KOSKINEN, S.O.; WANG, W.; AHTIKOSKI, A.M.; KOMULAINEN, J.; HESSELINK, M.K.; DROST, M.R.; TAKALA, T.E. Short-term effects of forced contractions on collagen synthesis and degradation in rat skeletal muscle. *Pflugers Arch*, n. 444, p. 59 – 72, 2002.

LAPOINTE, B.M.; FRÉMONT, P.; CÔTÉ, C.H. Influence of nonsteroidal anti-inflammatory drug treatment duration and time of onset on recovery from exercise-induced muscle damage in rats. *Arch Phys Med Rehabil.*, v. 84, p. 651 – 655. 2003.

LEAL, E.C.A.L.; NASSAR, F.R.; TOMAZONI, S.S.; BJORDAL, J.M.; LOPES-MARTINS, R.A.B. Low-level lasertherapy enhances muscular performances as measured by isokinetic dynamometry in humans. *Fisioterapia e Pesquisa*. São Paulo, v.17, n.4, p. 317 – 21.2010.

LEAL JUNIOR ECP, LOPES-MARTINS RAB, ROSSI RP, DE MARCHI T, BARONI BM, DE GODOI V et al. Effect of Cluster Multi-Diode Light Emitting Diode Therapy (LEDT) on Exercise-Induced Skeletal Muscle Fatigue and Skeletal Muscle Recovery in Humans. *Lasers in Surgery and Medicine* 2009; 41:572-577.

LEAL JUNIOR, E.C.P., LOPES-MARTINS, R.A.B., DALAN, F., et al. (2008). Effect of 655 nm Low-level Laser Therapy on Exercise-Induced Skeletal Muscle fatigue in Humans. *Photomedicine and Laser Surgery*. 26, 419-424.

LEAL JUNIOR, E.C.P., LOPES-MARTINS, R.A.B., ROSSI, R.P., et al. (2009c). Effect of Cluster Multi-Diode Light Emitting Diode Therapy (LEDT) on Exercise-Induced Skeletal Muscle Fatigue and Skeletal Muscle Recovery in Humans. *Lasers in Surgery and Medicine*. 41, 572-577.

LEAL JUNIOR, E.C.P., LOPES-MARTINS, R.A.B., VANIN, A.A., et al. (2009d). Effect of 830 nm Low-Level Laser Therapy in Exercise-Induced Skeletal Muscle Fatigue in Humans. *Lasers Med. Sci.* 24, 425-431.

LEAL, E.C.P., JR., LOPES-MARTINS, R.A.B., ALMEIDA, P., RAMOS, L., IVERSEN, V.V., AND BJORDAL, J.M. (2010). Effect of low-level laser therapy (GaAs 904 nm) in skeletal muscle fatigue and biochemical markers of muscle damage in rats. *Eur. J. Appl. Physiol.* 108, 1083–1088.

LIMA-CABELLO E, CUEVAS MJ, GARATACHEA N, BALDINI M, ALMAR M, GONZÁLEZ-GALLEGO J (2010) Eccentric Exercise Induces Nitric Oxide Synthase Expression through Nuclear Factor-B Modulation in Rat Skeletal Muscle. *J Appl Physiol.* 108, 575-583.

LIU, X.G., ZHOU, Y.J., T.C.Y., YUAN, J.Q. (2009). Effects of Low-Level Laser Irradiation on Rat Skeletal Muscle Injury after Eccentric Exercise. *Photomedicine and Laser Surgery.* 27(6):863-869.

LUMINI-OLIVEIRA J, MAGALHÃES J, PEREIRA CV, ALEIXO I, OLIVEIRA PJ, ASCENSÃO A (2009) Endurance training improves gastrocnemius mitochondrial function despite increased susceptibility to permeability transition. *Mitochondrion* 9:454–462.

LUMINI-OLIVEIRA, J., MAGALHÃES, J., PEREIRA, C.V., ALEIXO, I., OLIVEIRA, P.J., ASCENSÃO, A. (2009). Endurance Training Improves Gastrocnemius Mitochondrial Function Despite Increased Susceptibility to Permeability Transition. *Mitochondrion.* 9, 454-462.

LUMINI-OLIVEIRA, J., MAGALHÃES, J., PEREIRA, C.V., MOREIRA, A.C., OLIVEIRA, P.J., ASCENSÃO, A. (2011) Endurance Training Reverts Heart Mitochondrial Dysfunction, Permeability Transition and Apoptotic Signaling in Long-Term Severe Hyperglycemia. *Mitochondrion.* 11, 54-63.

LEHTO,M.U.K.; JARVINEN,M.J. Muscles injuries, their healing process nad treatment. *Ann Chir Gynaecol.*, v. 80, n. 2, p. 102 – 108, 1991.

MAKIHARA E, MAKIHARA M, MASUMI SI, SAKAMOTO E. Evaluation of Facial Thermographic Changes Before and After Low-Level Laser Irradiation. *Photomedicine and Laser Surgery.* 2005; 23(2):191-195.

MAKIHARA, E., MASUMI, S.I. Blood flow changes of a superficial temporal artery before and after low-level laser irradiation applied to the temporomandibular joint area. *J Jpn Prosthodont Soc.* 52:167-170, 2008.

MALAGUTI M, ANGELONI C, GARATACHEA N, BALDINI M, LEONCINI E, COLLADO PS, TETI G, FALCONI M, GONZÁLEZ-GALLEGO J, HRELIA S (2009) Sulforaphane Treatment Protects Skeletal Muscle Against Damage Induced by Exhaustive Exercise in Rats. *J Appl Physiol.* 107, 1028-1036.

MATHEUS, J.P.C.; MILANI, J.G.P.O.; GOMIDE, L.B.; VOLPON, J.B.; SHIMANO, A.C. Análise biomecânica dos efeitos da crioterapia no tratamento da lesão muscular aguda. *Rev. Brasileira de Medicina do Esporte, Niterói, v.4, n.4, Agosto, 2008.* Disponível em:<http://dx.doi.org/10.1590/S1517-86922008000400010>. Acesso em 23 de Outubro de 2011.

MINAMOTO, V.B. **Um modelo de contusão no músculo soleus de rato: lesão e regeneração após trauma recorrente único e recorrente.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1997.

MINAMOTO, V.B.; BOTELHO, A.P.; FACIO, F.A. Regeneração do Músculo Tibial Anterior em Diferentes Períodos Após a Lesão por Estimulação Elétrica. *Rev. Brasileira de Fisioterapia, São Carlos, v. 11, n. 2, p. 99-104, mar./abr. 2007.* Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/rbfis/v11n2/a03v11n2.pdf>. Acesso em 23 de Outubro de 2011.

MIYABARA E.H, MARTIN J.L., GIFFIN T.M., MORISCOT A.S., MESTRIL R. Overexpression of inducible 70-kDa heat shock protein in mouse attenuates skeletal muscle damage induced by cryolesioning. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;290(4): C1128-38.

MIYOSHI, T.; PETT, A. Lower limb joint moment during walking in water. *Disabil. Rehabil., v.25, n.1, p. 1219 – 23. 2003.*

MOHAMMED I.H., SAN F.R. Low-Level Laser Therapy Accelerates Collateral Circulation and Enhances Microcirculation. *Photomedicine and Laser Surgery Volume 23, Number 3, 2005 Pp. 289–294, 2005.*

MOREIRA, O.S.M. Efeito do laser de baixa intensidade sobre a regeneração do músculo esquelético em camundongos através da análise de expressão gênica com branched de DNA (bdNA). 2008. 104f. Tese (Doutorado em Fisioterapia) – Universidade Federal de São Carlos. São Carlos. 2008.

MOZZATI M., MARTINASSO G., COCERO N., POL R., MAGGIORA M., MUZIO G., CANUTO R.A. Superpulsed laser therapy on healing process after tooth extraction in patients waiting for liver transplantation. *Lasers in Surgery and Medicine*. Online First™, 29 Jan 2011.

NAGASE, H.; WOESSNER, J. F. Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*. 274: pag 21491 – 21494. 1999.

NIEMAN, D.C.; Influence of carbohydrate on the immune response to intensive prolonged exercise. *Exerc. Immunol*. v. 4, p. 64-76. 1998.

OLIVEIRA NML; PARIZOTTO N.A. E SALVINI TF. GaAs (904-Nm). *Laser Radiation Does Not Affect Muscle Regeneration in Mouse Skeletal Muscle*. *Lasers in Surgery and Medicine* 25:13–21 (1999).

PAOLILLO FR, BORGHI-SILVA A, PARIZOTTO NA, KURACHI C, BAGNATO VS. New Treatment of Cellulite with Infrared-Led Illumination Applied During High-Intensity Treadmill Training. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*. 2011a; 13:166-171.

PAOLILLO FR, CORAZZA AV, BORGHI-SILVA, A. et al. Infrared-LED applied during high-intensity treadmill training improved maximal exercise tolerance in postmenopausal women: a 6-months longitudinal study. 2012a. *Lasers Med. Sci*. Online First™, 6 February 2012. DOI 10.1007/s10103-012-1062-y

PAOLILLO FR, MILAN JC, ANICETO IV, BARRETO SG, REBELATTO JR, BORGHI-SILVA A, PARIZOTTO NA, KURACHI C, BAGNATO VS (2011b) Effects of infrared-LED illumination applied during high-intensity treadmill training in postmenopausal women. *Photomed Laser Surg* 29 (9):639–645.

PAOLILLO, F. R. ; CORAZZA, A. V. ; FERRARESI, C. ; AQUINO JUNIOR, A. E. ; BAGNATO, V. S. . *Phototherapy Applied to Orofacial and Body Motricity: New Perspectives*. *Implant News*, v. 9, p. 62-67, 2012b.

PAVESI, V.C.S. Efeito da criolesão no remodelamento da matriz extracelular em músculo esquelético de rato. 2008. 78f. *Dissertação (Mestrado em Ciências da Reabilitação) – Universidade Nove de Julho, São Paulo*. 2008.

PEPLOW, P.V., CHUNG, T.Y., BAXTER, G.D. Laser Photobiomodulation of Wound Healing: A Review of Experimental Studies in Mouse and Rat Animal Models. *Photomedicine and Laser Surgery*. 28, 291-325, 2010.

POWERS,S.K.; HOWLEY,E.T. Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho. Manole, 2000.

PRENTICE, W. E. Modalidades terapêuticas em medicina esportiva. Editora Manole, São Paulo, 2002.

PUGLIESE, L. S.; MEDRADO, A. P.; REIS, S. R. A. ; ANDRADE, Z. A. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Pesqui Odontol Bras.*, v. 17, n. 4, p. 307 – 313. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1517-74912003000400003>. Acesso em 18 de outubro de 2011.

RANTENEN, J.; HURME, T.; LUKKA, R. HEINO, J.; KALIMO, H. Satellite cell proliferation and the expression of miogenin and desmin in regenerating skeletal muscle: evidence for two different populations of satellite cells. *Lab Invest.* v. 3, n. 72, p. 341 – 347. 1995.

RANTENEN, J.; LUKKA, R. HEINO. Effects of therapeutic ultrasound on the regeneration of skeletal myobiber after experimental muscle injury. In: *J. Sports Med.* v. 27, n.1, p. 54 – 59. 2000.

RESENDE, M. A., PEREIRA, L. S. M., CASTRO, M. S. A. Proposta de um modelo teórico de intervenção fisioterapêutica no controle da dor e inflamação. *Fisioterapia Brasil.* v. 6, p. 268 – 71. 2005.

RIBEIRO, M. S. **Curso clínico de laser em odontologia.** Apostila de curso FUNDECTO. São Paulo; Universidade de São Paulo, 2001.

RIZZI, C.F., MAURIZ, J.L., CORRÊIA, D.S.F., et al. Effects of Low-Level Laser Therapy (LLLT) on the Nuclear Factor (NF)-kB Signaling Pathway in Traumatized Muscle. *Lasers in Surgery and Medicine.* 38, 704-713. 2006.

ROCHA JUNIOR, A. M.; et al. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 81, n. 2, 2006.

RODRIGUES, N. C. Ação da laserterapia de baixa intensidade na regeneração muscular de ratos idosos. 2009. 53f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2009.

SAYGUN I., KARACAY S., SERDAR M., URAL A.U., SENCIMEN M., KURTIS B. Effects of laser irradiation on the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin like growth factor-1 (IGF-1), and receptor of IGF-1 (IGFBP3) from gingival fibroblasts. *Lasers in Surgery and Medicine* . 23:211-215, 2008.

SHEFER, G.; PARTRIDGE, T. A., HESLOP, L., GROSS, J. G.; ORON, U.; HALEVY, S. Low-energy laser irradiation promotes the survival and cells cycle entry os skeletal muscle satellite cells. *J. Cell Sci.* v. 115, p. 1461 – 1469, 2002.

SILVA, D. A. S.; MELO, L. A.; OLIVEIRA, A. C. C. Efeito do treinamento físico na massa corporal de ratos. *Motriz Rio Claro*, v. 13, p. 43 – 50. 2007.

SIMÕES, L. P. Alterações das fibras musculares esqueléticas com o exercício aeróbio. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) – Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Coimbra, 2009.

SOUZA, M. V. S. Influência do laser de baixa intensidade na velocidade de movimentação ortodôntica. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ortodontia) – Faculdade de Odontologia da Universidade Metodista de São Paulo, São Bernardo do Campo. 2008.

STAMENKOVIC, I. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *Semin. Cancer Biol*, vol. 10. Pag. 415 – 433, 2000.

SUSSAI, D.A., CARVALHO, P.T.C., DOURADO, P.M., BELCHIOR, A.C.G., REIS, F.A., and PEREIRA, D.M. Low-level laser therapy attenuates creatine kinase levels and apoptosis during forced swimming in rats. *Lasers Med. Sci.* 25, 115–120, 2010.

TATARUNAS, A. C.; MATERA, J. M.; DAGLI, M. L. Z. Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização cutânea no gato doméstico. Utilização do laser de baixa potência GaAs (904 nm). *Acta Cir. Bras.* v. 13, n. 2. São Paulo, 1998.

TEIXEIRA, M.J.; MARCON, R.M.; FIGUEIRÓ, J.A. B. Dor, Epidemiologia, Fisiopatologia, Avaliação, Síndromes Dolorosas e Tratamento. Editora Moreira Jr. São Paulo, 2001.

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

VIEIRA, W. H. B. Efeitos do laser de baixa intensidade em 780 nm sobre a performance muscular aeróbia de ratos em treinamento físico em esteira. 131 f. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós Graduação em Fisioterapia) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

VIEIRA, W.H.B.; GOES, R.; COSTA, F.C.; PARTIZOTTO, N.A.; PEREZ, S.E.A.; BALDISSERA, V.; MUNIN, F.S.; SCHWANTES, M.L.B. adaptação enzimática da LDH em ratos submetidos a treinamento aeróbio em esteira e laser de baixa intensidade. **Rev. Bras. Fisioterapia**. V. 10, n. 2, p. 205 – 211. 2006.

VIEIRA W.H.B, FERRARESI C, PEREZ S.E.A, BALDISSERA V., PARIZOTTO N.A. Effects of Low-Level Laser Therapy (808 Nm) on Isokinetic Muscle Performance of Young Women Submitted to Endurance Training: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Lasers Med Sci. Online First™*, 26 August 2011. DOI 10.1007/s10103-011-0984-0

VLADIMIROV, Y.A., OSIPOV, A.N., KLEBANOV, G.I. Photobiological Principles of Therapeutic Applications of Laser Radiation. *Biochemistry (Moscow)*. 69, 81-90, 2004.

VENOJARVI, M. Recovery from immobilization: responses of fast-twitch muscle fiber to spontaneous and intense exercise in rat calf muscles. *Pathophys*. V.11, p. 17 – 22. 2004.

WERNICK, A.; GOLDSPINK, G. Muscle satellite (stem) cell activation during local tissue injury and repair. **Journal of the Anatomy**. n. 203, p. 89 – 99. 2003.

WHELAN, H.T., SMITS JR., R.L., BUCHMAN, E.V., et al. Effect of NASA Light-Emitting Diode Irradiation on Wound Healing. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*. 19, 305-314, 2001.

WILKIN, L.D. influence of therapeutic ultrasound on skeletal muscle regeneration following blunt contusion. In: *J Sports Med*. v. 25, n.1, p. 73 – 77. 2004.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. *Fisiologia do Esporte e do Exercício*. 2ª edição. Editora Manole, São Paulo, 2001.

WOODS, J.A.; DAVIS, J.M.; MAYER, E.P.; GHAFAR, A.; PATE, R.R. Exercise increases inflammatory macrophage anti-tumor cytotoxicity. *J Appl Physiol*; n. 75, p. 879-86. 1983

Anexo 1

Aprovação pelo “Comitê de Ética em Experimentação Animal”



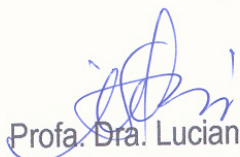
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
Comissão de Ética no Uso de Animais
Via Washington Luís, km. 235 - Caixa Postal 676
Fones: (016) 3351.8025 / 3351.9679
Fax: (016) 3351.8025
CEP 13560-970 - São Carlos - SP - Brasil
ceua@ufscar.br - www.propq.ufscar.br

Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais n° 035/2012

Protocolo n°. 031/2012

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos - CEUA/UFSCar **APROVOU** o projeto de pesquisa intitulado “Efeitos da Fototerapia associados ao estresse mecânico sobre a regeneração muscular e dor em animais”, submetido pela pesquisadora *Fernanda Rossi Paolilo*.

São Carlos, 31 de maio de 2012.


Prof. Dra. Luciana Thie Seki Dias
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais