

# O EFEITO DA LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA EM ASPECTOS HISTOLÓGICOS EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE LESÃO MUSCULAR POR ESTIRAMENTO CONTROLADO EM RATOS

*The effect of low-level laser therapy in histological aspects in a model of experimental muscle injury in rat controlled muscle strain*

Rodrigo Leal de Paiva Carvalho<sup>1</sup>

Eduardo Aguilar Arca<sup>1</sup>

Geraldo Marco Rosa Júnior<sup>1</sup>

Luis Henrique Simionato<sup>2</sup>

Carlos Henrique Fachin Bortoluci<sup>2</sup>

Alexandre Fiorelli<sup>2</sup>

Ligiane Souza dos Santos<sup>3</sup>

Jéssica de Souza Ribeiro<sup>3</sup>

Rodrigo Álvaro Brandão Lopes-Martins<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Curso de Fisioterapia, Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia, Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração (USC), Bauru - SP.

<sup>2</sup> Professor Mestre do Curso de Fisioterapia e do Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração (USC), Bauru - SP.

<sup>3</sup> Graduanda em Fisioterapia Universidade do Sagrado Coração (USC) - Bauru - SP

<sup>4</sup> Professor Livre Docente Laboratório de Farmacologia e Terapêutica Experimental, Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo - SP.

Recebido em: 08/09/2015

Aceito em: 23/11/2015

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

## RESUMO

**Introdução:** estiramento muscular e outras desordens musculoesqueléticas são as principais causas que desabilitam atletas e praticantes de atividades físicas. Seu tratamento inclui AINES que de-

sencadeiam vários efeitos adversos. **Objetivo:** o objetivo do estudo foi avaliar o efeito dos tratamentos com Laserterapia de Baixa Potência e do anti-inflamatório diclofenaco, tanto individualmente quanto combinados (laser + aplicação por vias tópica ou intramuscular de diclofenaco) em aspectos histológicos no modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em ratos. **Materiais e Métodos:** a lesão por estiramento foi induzida, por sobrecarga, no músculo tibial anterior de ratos (n=6). O grupo controle não recebeu tratamento, grupos lesados receberam um único tratamento com diclofenaco através das vias tópica ou intramuscular, irradiação com laser (3 J, 830 nm, 100 mW) ou os dois tratamentos conjuntamente, laser e diclofenaco, totalizando seis grupos experimentais. Os tratamentos foram realizados 1 hora após a lesão. O músculo tibial foi removido para análise histológica, três horas após a indução da lesão e também seis horas após indução. **Resultados e discussão:** a avaliação histológica demonstrou uma melhor organização estrutural do tecido muscular, células bem delineadas e menor quantidade de fibras fragmentadas e menor descontinuidade de acidofilia nos grupos tratados com laser e diclofenaco, nas duas vias de aplicação, tanto no período de 3 horas quanto no de 6 horas após a lesão. **Conclusão:** a irradiação do laser de baixa potência conjuntamente ao diclofenaco tópico e intramuscular melhorou aspectos histológicos do tecido muscular, após lesão por estiramento, na fase aguda quando comparado com os demais tratamentos.

**Palavras-chave:** Exercícios de Alongamento Muscular. Músculo Esquelético. Terapia a Laser de Baixa Potência. Diclofenaco.

## ABSTRACT

**Introduction:** *muscle stretch and other musculoskeletal disorders are the main causes that disable athletes and fitness enthusiasts. His treatment includes NAIDs that trigger various adverse effects.* **Objective:** *the objective of the study the effect of treatments with Low Power Laser (LPL) Therapy and the anti-inflammatory diclofenac, both individually and combined (LPL + intramuscular or topical application of diclofenac pathways) in histological aspects in an experimental model was to evaluate muscle injury in rats controlled stretch.* **Materials and Methods:** *the injury was induced by muscle stretch, overload, the tibialis anterior muscle of rats (n = 6). The control group received no treatment, injured groups received a single treatment with diclofenac through the anti-inflammatory topical or intramuscular (AT and AIM), irradiation with LPL (3 J 830 nm,*

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

100 mW), or the two treatments together, LPL and diclofenac (LPL/LPL or AT/AIM), totaling six experimental groups. All treatments were performed 1 hour after the injury. The right anterior tibial muscle was removed for histological analysis, within 3 hours after induction of the lesion and also 12 hours after induction. **Results and discussion:** histological evaluation in this study showed a better structural organization of muscle tissue, cells and less well defined amount of fragmented fibers in the group treated with LPL and LPL AT + 3J 3J + AIM in both the 3-hour period and in 6 hours following injury. **Conclusion:** treatment with LPL jointly to the topic and intramuscular diclofenac improved the histological aspects of muscle tissue after stretch injury in the acute phase compared with the other treatments.

**Keywords:** Muscle Stretching Exercises. Eskeletal muscle. LLLT. Diclofenac.

## INTRODUÇÃO

O processo inflamatório é um mecanismo fisiopatológico útil, em resposta a diversos tipos de doenças ou lesões, envolvendo interações complexas entre células do sistema imunológico (circulantes e residentes) e tecido vascular (células endoteliais e do músculo liso; TEDGUI e MALLAT, 2001), com objetivo de eliminar do organismo a causa inicial da lesão e suas consequências (MEADOR *et al.*, 2009). O processo inflamatório agudo refere-se à resposta que começa de maneira abrupta e precoce, sendo caracterizada por três eventos principais, mediados por moléculas solúveis ou por células do sistema imune: a) vasodilatação e diminuição da velocidade do fluxo sanguíneo local, sinalizando calor e rubor; b) permeabilidade vascular aumentada, ambos os eventos, conduzindo ao extravasamento de proteínas, assim como o recrutamento de leucócitos para o espaço extravascular e, subsequente, formação de edema (ou tumor) e, c) liberação de uma variedade de agentes pró-inflamatórios também capazes de produzir dor ou hiperalgesia (AL-NAEMI e BALDWIN, 1999; TROWBRIDGE e EMLING, 1996; WEBSTER e GALLEY, 2003; WOOLF, 2011; YOSHIKAI, 2001).

As lesões musculares respondem por cerca de 30% das lesões esportivas e dessas, mais de 90% são causadas por força ou estiramentos excessivos do músculo. (WRIGHT-CARPENTER, 2004). Existem na literatura diversas evidências quanto a métodos indiretos de mensuração da lesão muscular quando utilizados protocolos

experimentais com animais, as análises envolvem métodos diretos, onde o músculo é retirado para realização de análises histológica, bioquímica, entre outros. O alongamento passivo ultrapassando a plasticidade muscular e a amplitude articular provoca microlesões nas fibras musculares, induzindo a dor após o treinamento. Essas microlesões, além da dor, provocam edema e aumento da síntese de proteínas e uma conseqüente sensação de aumento no tamanho do músculo, causado pelo início do processo inflamatório (WARREN, 1993; LAROCHE e CONNOLLY, 2007; LIU *et al.*, 2010).

As mudanças histoquímicas e morfológicas nas fibras musculares ocasionadas devido a esse tipo de exercício podem afetar o bom funcionamento do músculo (PHILIPPOU *et al.*, 2009). Portanto, as principais alterações morfológicas que ocorrem em nível estrutural e ultra-estrutural nas fibras musculares estriadas esqueléticas após o alongamento passivo intenso, são identificadas por desarranjos e rompimento de miofilamentos, de linhas Z, de sarcômeros, rompimento da arquitetura e desorganização das organelas, rompimento do sarcolema, atividade lisossomal acentuada, presença de células inflamatórias e/ou células satélites, basofilia, onde ocorre o aumento da atividade ribossômica, núcleos centralizados com nucléolos proeminentes, caracterizando síntese protéica e hipercontração dos miofilamentos, que indica acúmulo de cálcio (GARRETT JÚNIOR, 1996, GOMES *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2007).

Diferentes tipos de terapias, farmacológicas e não farmacológicas, têm sido utilizados com o objetivo de prevenir ou ao menos amenizar os resultados deletérios deste tipo de esforço.

O diclofenaco faz parte da categoria de anti-inflamatórios não esteroidais e é um ácido orgânico fraco (pKa= 4.00). Sabe-se que a sua principal ação é a capacidade em diminuir a atividade das isoformas da enzima ciclooxigenase (COX-1 e COX-2), e conseqüente inibição da síntese de prostaglandinas (BANNING, 2008; RODRÍGUEZ, 2007).

Quando usado por via oral, o diclofenaco apresenta importantes efeitos adversos como: sangramento gastrointestinal, úlcera gástrica, complicações renais e cardíacas, entre outros (BANNING, 2008; McCOMACK e SCOTT, 2008). Já, em formulações tópicas esses efeitos adversos praticamente não são encontrados e sua eficácia é tão boa quanto por via oral ou intramuscular (IM) (BANNING, 2008; MIYATAKE, 2008).

A Laserterapia de Baixa Potência (LBP) representa uma alternativa para o tratamento de lesões musculoesqueléticas, os objetivos clínicos da utilização da LBP em situações de lesão muscular visam a redução de efeitos adversos do uso de drogas anti-inflamatórias, a diminuição do tempo de imobilização, e ainda, a inibição ou até

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

mesmo a resolução do processo inflamatório e a reparação do tecido muscular, restabelecendo as características funcionais do tecido (CARVALHO *et al.*, 2013; RAMOS *et al.*, 2012).

Segundo Samoilova *et al.* (2008) estudos realizados em humanos confirmaram que a irradiação com LPB foi capaz de aumentar em 32% após 2 minutos de irradiação, e em 45% após 20 minutos, o fluxo sanguíneo na microcirculação cutânea. Diversos outros artigos também relatam esse aumento na microcirculação local e também apresentando uma vasodilatação no tecido irradiado (MAEGAWA, 2000; MIRÓ, 1989; SCHINDL, 2002; IHSAN, 2005). Experimentos *in vivo* em laboratórios demonstraram indução significativa de iNOS, após irradiação laser em artéria ilíaca de coelhos (MOITRA, 2007), e de acordo com resultados encontrados, se a irradiação laser eleva os níveis de GMP<sub>c</sub>, possivelmente estaria ocorrendo uma importante vasodilatação local, facilitando assim, o transporte de nutrientes para região irradiada como também a remoção de metabólicos que prejudicasse a contração muscular, resultados que nos levam a crer que o tratamento com LBP pode acelerar o processo de reparo tecidual.

Tendo em vista os efeitos anti-inflamatórios, no repato tecidual do Laser de Baixa Potência associados a seus efeitos vasodilatadores sobre a microcirculação, entendemos que o tratamento com o LBP pode influenciar ou mesmo potencializar a absorção do diclofenaco aplicado topicamente. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da irradiação com Laser de baixa potência combinado com o diclofenaco, em aspectos morfológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em ratos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Modelo de Lesão Muscular por estiramento Passivo

Foram utilizados 78 ratos Wistar machos pesando em torno de 200g provenientes do biotério do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo – USP. Os animais foram mantidos em condições padrão de temperatura (22-24°C), umidade relativa (40-60%), ciclo de 12 horas claro-escuro com água e ração *ad libitum*. Os ratos foram randomizados e divididos em grupos de seis animais. Nossos protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação animal do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB\_USP) nº 30 fls. 87 livro 02.

Para o protocolo de estiramento do músculo tibial anterior, foi adaptado o protocolo de Nikolaou *et al.* (1987). No protocolo original

de Nikolaou *et al.* (1987), o estiramento foi realizado diretamente no tendão distal do músculo tibial anterior, neste momento foi realizada uma avulsão, a fim de separar o músculo tibial do tecido subcutâneo juntamente com a pele, para tal procedimento adentrou-se no pequeno corte já realizado com uma tesoura fechada sobre o músculo, retornando no sentido caudal com a tesoura aberta, expondo todo o músculo do animal. Em seguida, com o auxílio de um bisturi, o tendão foi separado de sua inserção.

Ao término do estiramento, a incisão foi fechada e o animal recebeu uma única dose de antibiótico. Em nosso protocolo, foi decidido pelo estiramento sem exposição cirúrgica do músculo, para evitar recrutamento de células inflamatórias e outras alterações histopatológicas, segundo Nikolaou *et al.* (1987), com a diferença de o nosso estudo ser de caráter agudo.

Neste trabalho o protocolo de estiramento do músculo tibial anterior foi realizado, conforme descrito a seguir:

Os animais foram anestesiados com uma mistura de ketamina:xilazina (80:16 mg/Kg; König, Avellaneda, Argentina), por via intraperitoneal (i.p), antes de serem submetidos ao protocolo de alongamento passivo do músculo tibial anterior.

Após pesagem do animal, este foi posicionado, em decúbito dorsal, sobre cortiça acoplada ao sistema de estiramento. O membro posterior direito foi firmemente preso com linha, que passou por uma roldana e se prendeu a uma pisseta com volume de água que correspondeu a 150% do corporal do animal. Esta linha foi fixada sobre o dorso da pata do animal, realizando uma flexão plantar, alongando o músculo tibial anterior da pata posterior direita do animal. O protocolo foi realizado uma única vez sendo que o animal recebeu a tração durante 20 minutos, descansando por 3 minutos e novamente mais uma tração durante 20 minutos.

A irradiação com Laser foi realizada no modo de contato, em apenas um ponto na região média do músculo tibial anterior dos ratos, após a indução da lesão muscular.

Foi utilizado um laser de baixa potência do tipo Thera-lase (DMC®), operando no comprimento de onda de 830 nm em modo contínuo, na dose de energia de 3 Joules (107.14 J cm<sup>2</sup>), diâmetro do feixe de 0,028 cm<sup>2</sup>, tempo de irradiação de 30s.

## Grupos Experimentais

**Grupo 1** - Hígido

**Grupo 2** - Lesão – 40 min de alongamento passivo

**Grupo 3** - Lesão + Diclofenado Tópico (1 mg/kg) - 40 min de alongamento passivo (LES+DICLO)

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

**Grupo 4** - Lesão + Diclofenaco IM (1 mg/kg) - 40 min de alongamento passivo (LES+IM)

**Grupo 5** - Laser - 40 min de alongamento passivo + Laser 3J (3J)

**Grupo 6** - Laser + Diclofenaco Tópico (1 mg/kg) - 40 min de alongamento passivo (Laser+DT)

**Grupo 7** - Laser + Diclofenaco IM (1 mg/kg) - 40 min de alongamento passivo (Laser+D IM)

Os tratamentos foram realizados 1 hora após a indução da lesão. Nos grupos tratados com Laser mais o diclofenaco, a droga foi aplicada 5 minutos após a irradiação com Laser.

## Análise Histológica

### Microscopia de luz (óptica)

As amostras do tecido foram fixadas em formol 10% por um período de 72 horas. Posteriormente, as amostras foram desidratadas e submetidas a uma série gradativa de banhos de álcool, começando com 50% e progredindo até o álcool absoluto 100% (SYNTH). Em seguida os músculos foram diafanizados com Xilol por 4 horas (SYNTH) para impregnação (embebição) e inclusão em Paraplast® das amostras. Em seguida, estas foram colocadas em recipientes de alumínio adequados, com Paraplast® fundido por 4 horas. Após a impregnação, as amostras foram colocadas em um pequeno recipiente coberto com parafina fundida e deixadas para endurecer, formando um bloco contendo o tecido. Para a microtomia foram realizados cortes com 5 µm de espessura em micrótomo LEICA RM 2125 RT, lavados e colocados em banho-maria. Uma vez precedido o preparo das amostras os cortes foram colocados em lâminas para serem corados, com o corante Hematoxilina-Eosina (H.E.). Após a coloração os cortes foram montados em lâminas permanentes para posterior análise ao microscópio óptico e fotografados através de sistema de microfotografia (Olympus System Microscope Model CX 41 – Olympus PM10SP Automatic Photomicrographic System). Este protocolo foi realizado para os grupos 3hs e 6hs.

## RESULTADOS

Análise histológica, após lesão e tratamentos com Diclofenaco (tópico e IM) e Laserterapia de Baixa Potência.

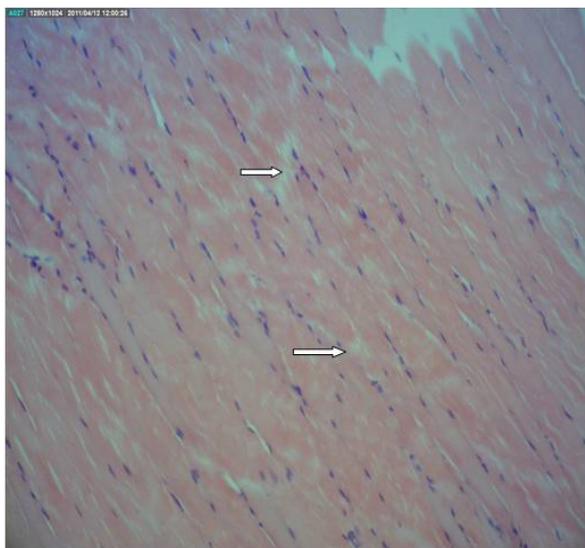
Na figura 1, pode ser observada a organização das fibras musculares ilesas, com os núcleos agrupados na periferia da célula (seta branca), acidofilia uniforme na região central das fibras (seta amarela) e discreto endomísio entre as fibras (seta preta).



\*Aumento original 100X.

Figura 1 - Fotomicrografia do Grupo Hígido.

Observa-se na figura 2, grande desorganização nas fibras musculares, as linhas de interrupção da acidofilia citoplasmática são bastante evidentes (seta branca).



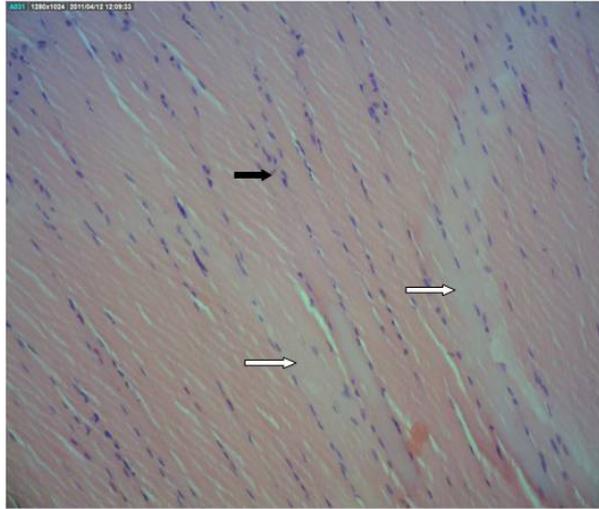
\*Aumento original 100X.

Figura 2 - Fotomicrografia do Grupo Lesão 3h.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

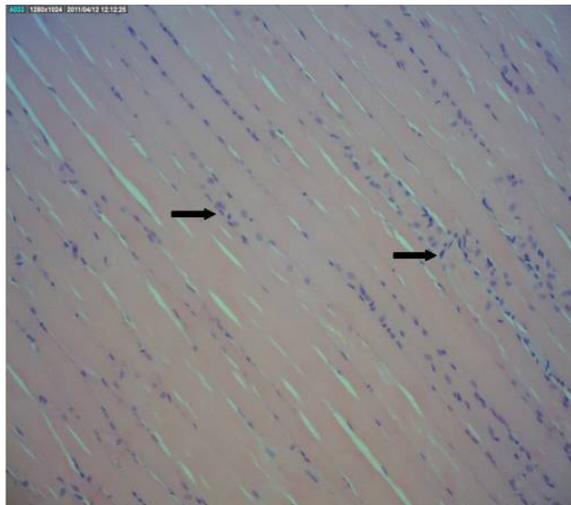
Na figura 3, observou-se que partes dos núcleos celulares se encontram deslocadas para a região central da célula (seta preta) e as áreas de perda da acidofilia ocupam grande extensão (seta branca).



\*Aumento original 100X.

Figura 3 - Fotomicrografia do Grupo tratado com Diclofenaco Tópico 3h.

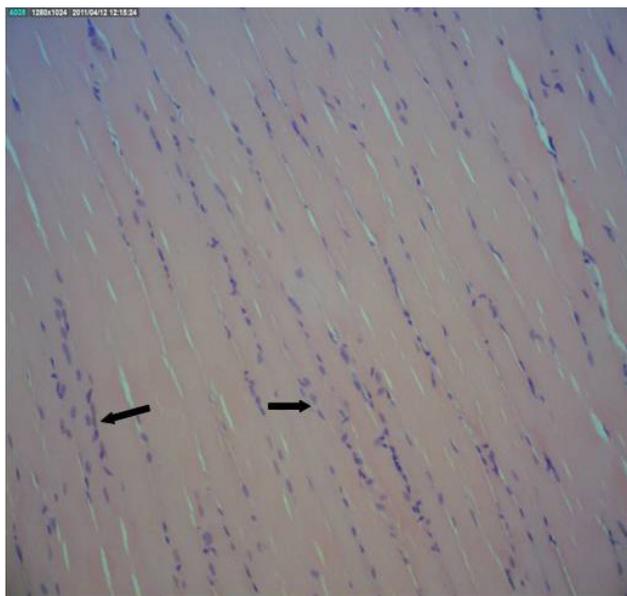
Pode ser visualizado, na figura 4, os núcleos celulares deslocados para a região central das células bastante evidentes (seta preta).



\*Aumento original 100X.

Figura 4 - Fotomicrografia do Grupo Laser + Diclofenaco Tópico 3h

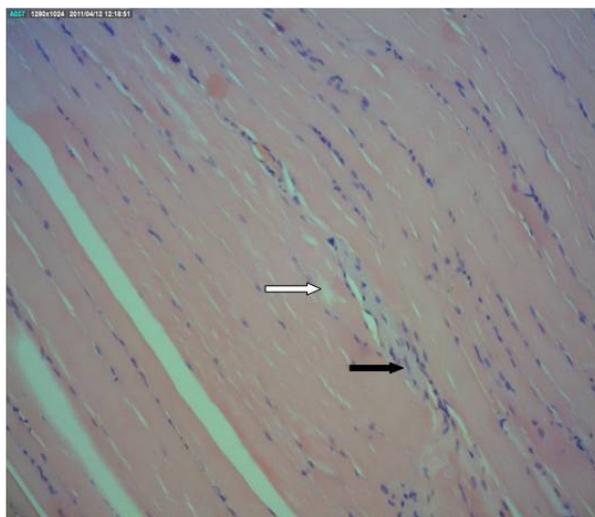
Pode ser observado, na figura 5, os núcleos celulares deslocados para a região central das células bastante evidentes (seta preta).



\*Aumento original 100X.

Figura 5 - Fotomicrografia do Grupo Diclofenaco IM 3h.

Pode ser observado, na figura 6, núcleos celulares deslocados para a região central das células bastante evidentes (seta preta) e discreta descontinuidade da acidofilia (seta branca).



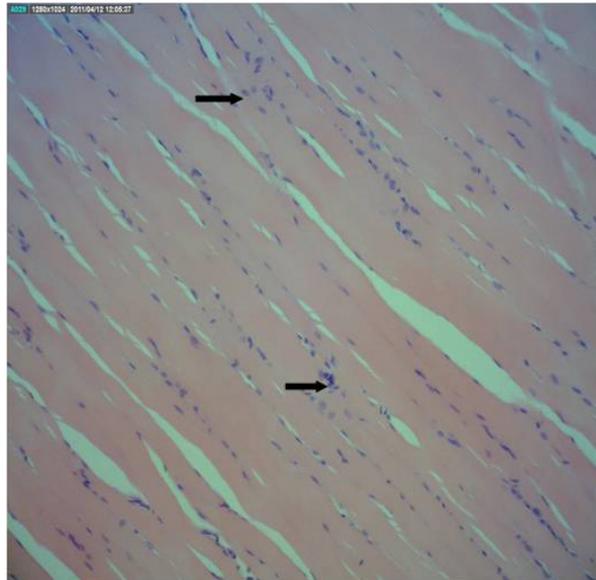
\*Aumento original 100X.

Figura 6 - Fotomicrografia do Grupo Laser + Diclofenaco IM 3h.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

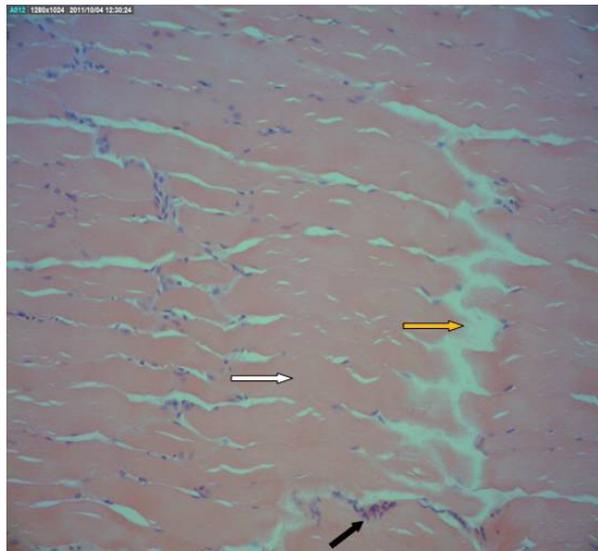
Na figura 7, podem ser visualizados os núcleos celulares deslocados para a região central das células bastante evidentes (seta preta).



\*Aumento original 100X.

Figura 7 - Fotomicrografia do Grupo Laser 3h.

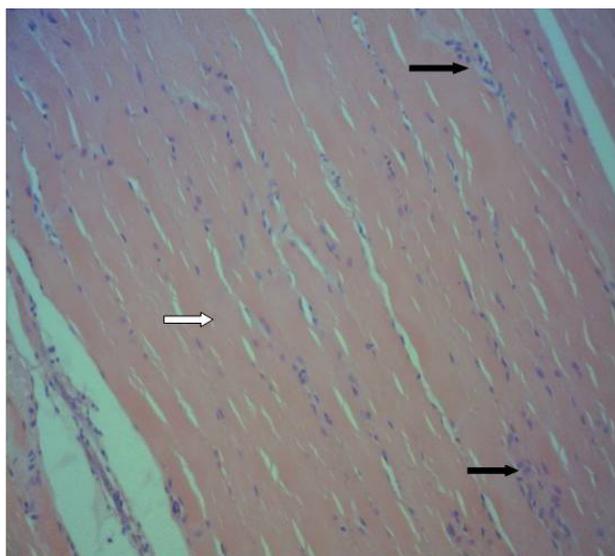
Pode ser observado, na figura 8, rompimento de fibra muscular (seta amarela), discreta descontinuidade da acidofilia (seta branca) e congestão vascular do endomísio (seta preta).



\*Aumento original 100X

Figura 8 - Fotomicrografia do Grupo Lesão 6h.

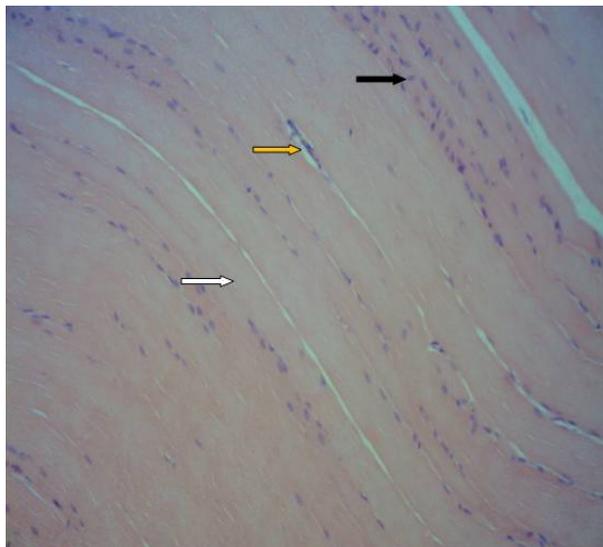
Na figura 9 podem ser observados os núcleos celulares deslocados para a região central das células (seta preta) e discreta descontinuidade da acidofilia (seta branca).



\*Aumento original 100X.

Figura 9 - Fotomicrografia do Grupo Diclofenaco Tópico 6h.

Na figura 10, podem ser observados os núcleos celulares deslocados para a região central das células (seta preta), descontinuidade da acidofilia (seta branca) e congestão vascular do endomísio (seta amarela).



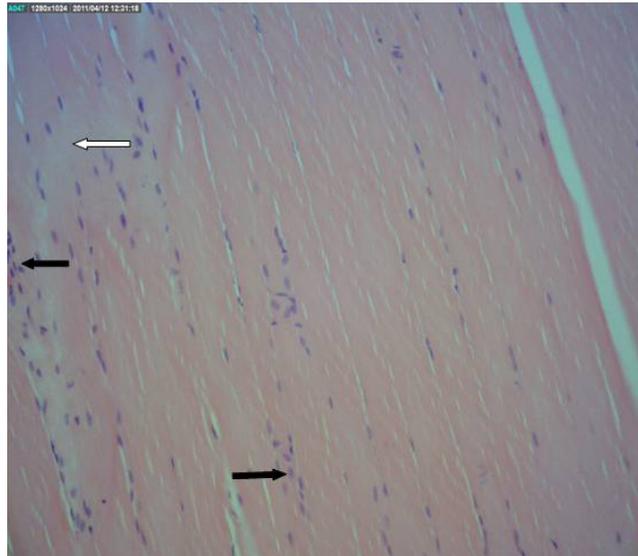
\*Aumento original 100X.

Figura 10 - Fotomicrografia do Grupo Laser + Diclofenaco Tópico 6h.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

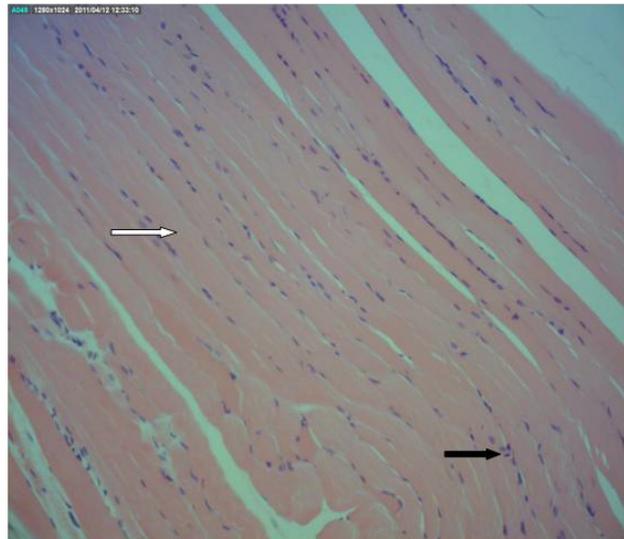
Podem ser visualizados os núcleos celulares deslocados para a região central das células (seta preta) e discreta descontinuidade da acidofilia (seta branca).



\*Aumento original 100X.

Figura 11 - Fotomicrografia do Grupo Diclofenaco IM 6h.

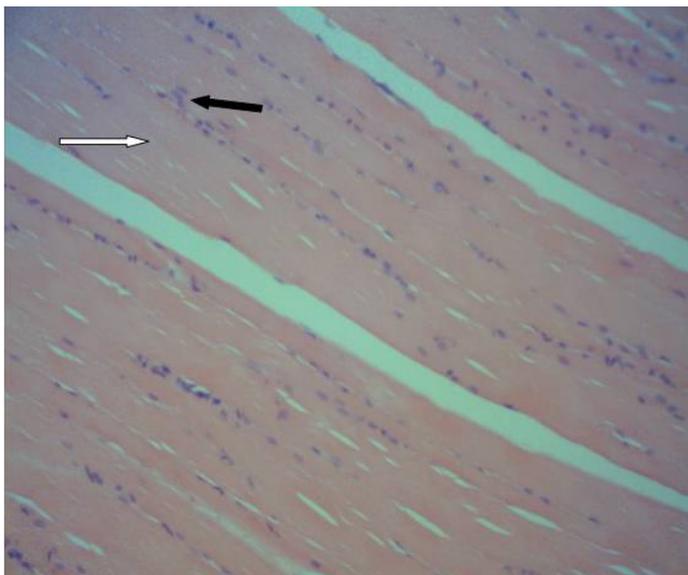
Podem ser observados na figura 12, discreto deslocamento de núcleos celulares para a região central das células (seta preta) e discreta descontinuidade da acidofilia (seta branca).



\*Aumento original 100X.

Figura 12 - Fotomicrografia do Grupo Laser + Diclofenaco IM 6h.

Podem ser observados na figura 13, núcleos celulares deslocados para a região central das células (seta preta) e discreta descontinuidade da acidofilia (seta branca).



\*Aumento original 100X.

Figura 13 - Fotomicrografia do Grupo Laser 6h.

## DISCUSSÃO

Neste trabalho foram estudados os efeitos da Laserterapia de Baixa Potência (LBP) atuando separadamente e em conjunto com o anti-inflamatório não esteroideal diclofenaco, sobre os aspectos histológicos do músculo esquelético, utilizando para isto, o modelo de lesão muscular por estiramento controlado em músculo tibial de ratos.

O músculo, entre os tecidos biológicos, é o que apresenta maior plasticidade biológica, ou seja, com a maior capacidade de remodelamento frente a estímulos como atividade física, eletroestimulação, imobilização e condições hormonais. Além disso, é também o mais afetado por traumas decorrentes da prática esportiva e atividades da vida diária (SLIVKA, 2008).

As lesões musculares muitas vezes levam a um longo tempo de imobilização e com isso, os anti-inflamatórios são largamente utilizados, podendo provocar o aumento nos números de fibras colágenas bem como a diminuição da quantidade de fibras musculares, contribuindo para alterações nas propriedades biomecânicas do músculo (JARVINEN, 2002).

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

Pode ser observado nas imagens histológicas, em todos os grupos onde a lesão por estiramento foi induzida, em análises realizadas três horas após essa indução, que os tecidos musculares apresentaram sinais histológicos e as fases características decorrentes de uma lesão muscular típica, como descontinuidade de acidofilia, rompimento de fibras, pequenas áreas de hemorragia e desorganização celular.

O tratamento através dos AINES, após lesão muscular, pode acarretar efeitos adversos importantes como sangramento gastrointestinal, úlcera gástrica, complicações renais e cardíacas, entre outros. Com isso, vêm se mostrando como uma interessante alternativa a utilização desses AINES por via tópica que, através de diversos trabalhos, demonstraram uma boa eficácia quando comparados com os AINES utilizados por vias IM e oral, com a vantagem de apresentar poucos efeitos adversos (BANNING, 2008; CAARVALHO *et al.* 2013; MIYATAKE 2008; RAMOS *et al.* 2012).

Diferentemente dos AINES, a LBP não apresenta efeitos adversos e tem como algumas de suas características o aumento da microcirculação local, a vasodilatação e o recrutamento da vascularização colateral. Essas características são amplamente aceitas e demonstradas em estudos com tecidos musculares, cicatrização, retalhos cutâneos, entre outros (MIRÓ, 1989; MAEGAWA, 2000; SCHINDL, 2002; IHSAN, 2005 e IVANDIC, 2008), o que poderia ajudar ainda mais na função de absorção de drogas ou outras substâncias.

A LBP representa uma alternativa para o tratamento de lesões do músculo esquelético, podendo apresentar efeitos inibitórios ou estimulatórios, dependendo dos parâmetros utilizados neste tratamento. Neste sentido, é comum a utilização do termo biomodulador para citar seus efeitos sobre tecidos biológicos. Os objetivos clínicos da utilização da LBP em situações de lesão muscular visam à redução de efeitos adversos do uso de drogas anti-inflamatórias, a diminuição do tempo de imobilização, e ainda, a inibição ou até mesmo a redução/aceleração da resolução do processo inflamatório bem como a reparação do tecido muscular, reestabelecendo as características funcionais e histológicas do tecido (CARVALHO *et al.* 2013; RAMOS *et al.* 2012).

De acordo com Amaral *et al.* (2001), a irradiação direta do Laser, utilizado nos primeiros dias após a excisão parcial do músculo gastrocnêmio de rato, promoveu o processo regenerativo e a maturação muscular da região lesionada. Em sua pesquisa utilizou diferentes doses, demonstrando que apenas a dose de 2,6J do laser He-Ne promoveu mudanças significativas, como o aumento da área da fibra muscular e aumento da densidade mitocondrial, sugerindo assim, que doses baixas de irradiação seriam mais efetivas na promoção dos efeitos bioestimulatórios.

Segundo Martin (2003), células e tecidos comprometidos respondem melhor em relação às células e tecidos saudáveis à irradiação com LBP, pela transferência de energia que ocorre entre os fótons emitidos pelo laser e os fotorreceptores que são encontrados em várias células e organelas. Tecidos e células que estão isquêmicos e, portanto, pouco perfundidos, como resultado de um processo inflamatório, edema e lesão têm mostrado ter uma resposta significativamente aumentada após a irradiação com a LBP em relação aos tecidos com estruturas normais.

Foi observado neste estudo que as lâminas histológicas dos músculos tratados com a LBP na energia de 3J e que também receberam o tratamento com diclofenaco, através das vias tópica e IM, em análises realizadas seis horas após a indução da lesão por estiramento, apresentaram maior quantidade de células com seus núcleos na periferia em relação aos demais grupos tratados.

Segundo Falkener *et al.* (1993), a presença de núcleos localizados na periferia da célula é um indicativo de fibra muscular madura. Com o preenchimento da região de regeneração da fibra com proteínas contráteis, os núcleos musculares vão sendo empurrados para a periferia, adquirindo a aparência de uma fibra madura.

Independente do tipo da lesão (mecânica, térmica, isquêmica ou por substâncias tóxicas) o processo de cicatrização muscular segue uma série de eventos já estabelecidos, dando início a esta sequência: necrose das células satélites lesadas, seguido de infiltração inflamatória, fagocitose das células lesadas, ativação das células satélites e por último a diferenciação das células precursoras (MOHAUPT *et al.* 2009; MERRICK, 2002).

O músculo esquelético tem uma considerável capacidade de regeneração da fibra muscular, sendo esta, limitada pela população de células satélites, revascularização e reinervação local. Todo este processo é lento e geralmente incompleto, com grande formação de tecido cicatricial, de consistência fibrosa e pouco elástica, podendo alterar a força e extensibilidade muscular (RAMOS *et al.* 2012).

A avaliação histológica deste estudo demonstrou que a ação da LBP não chegou a evitar o surgimento dos sinais típicos de lesão muscular normalmente observado (descontinuidade de acidofilia, rompimento de fibras e desorganização celular). Contudo, nos grupos tratados com LBP e diclofenaco (tanto na aplicação tópica quanto na IM), analisados histologicamente seis horas após a indução da lesão por estiramento, ficou aparente uma redução das áreas e sinais dessas alterações teciduais, como células melhor delineadas e menor quantidade de fibras fragmentadas. Pode ser observada também, uma redução na descontinuidade de acidofilia, na região central das

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

fibras, assim como uma melhor organização estrutural do tecido muscular, principalmente nos dois grupos irradiados com o laser de baixa potência anteriormente ao tratamento com diclofenaco (tanto na aplicação tópica quanto na IM).

Portanto, os resultados obtidos neste trabalho, após análise histológica nos levam a concluir que os músculos tibiais de ratos, irradiados com a LBP pré-tratamento com diclofenaco por vias tópica e IM, apresentaram uma melhora qualitativa, assim como uma melhor organização do tecido muscular. Nossos resultados evidenciam o efeito sinérgico entre a LBP e o diclofenaco aplicado através das vias tópica e IM, neste modelo experimental de lesão muscular induzida por estiramento em ratos.

É possível considerar também que o tratamento em conjunto das duas terapias possui algumas vantagens com relação ao tratamento apenas com a terapia farmacológica como, por exemplo, a diminuição dos efeitos adversos relacionados ao uso da droga, já que a atuação sinérgica dos tratamentos poderia diminuir a quantidade de droga usada, e conseqüente redução dos custos com o tratamento da lesão além de um menor gasto com tratamento destes efeitos adversos.

## REFERÊNCIAS

- AL-NAEMI, H; BALDWIN A. L. Nitric oxide: role in venular permeability recovery after histamine challenge. **American Journal of Physiology**, Bethesda; v. 46, p. 2010-2016, 1999.
- 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 in Medical Science**, Philadelphia: v.16, p. 44-51, 2001.
- BANNING, M. Topical diclofenac: clinical effectiveness and current uses in osteoarthritis of the knee and soft tissue injuries. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, Londres: v. 9, n. 16, p. 2921-2929, 2008.
- CARVALHO, R. L. P.; LEAL-JUNIOR, E. C. P.; PETRELLIS, M. C.; MARCOS, R. L.; CARVALHO, M. H. C.; DE NUCCI, G.; LOPES-MARTINS, R. A. B. Effects of Low-Level Laser Therapy (LLLT) and Diclofenac (Topical and Intramuscular) as Single and Combined Therapy in Experimental Model of Controlled Muscle Strain in Rats. **Photochemistry and Photobiology**, McLean: v. 89, p. 508–512. 2013.
- GARRETT JÚNIOR, W. E. Muscle strain injuries. **The American Journal of Sports Medicine**, Rosemont: v.24, n.6, p. 2-8, 1996.
- GOMES, A. R. S.; CORNACHIONE, A.; SALVINI, T. F.; MATTIELLO-SVERZUT, A. C. M. Morphological effects of two protocols of passive stretch over the immobilized rat soleus muscle. **Journal of Anatomy**, Rockville Pike: v. 210, n. 3, p.328-335, 2007.
- IHSAN, F. R. Low-level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. **Photomedicine and Laser Surgery**, Nova Iorque: v. 23, n.3, p. 289-294, 2005.
- IVANDIC, B. T., IVANDIC, T. Low-level laser therapy improves vision in patients with age-related macular degeneration. **Photomedicine and Laser Surgery**, Nova Iorque: v. 26, n. 3, p.241-245, 2008.
- JÄRVINEN, T. A., JÓZSA, L.; KANNUS, P.; JÄRVINEN, T. L.; JÄRVINEN, M. Organization and distribution of intramuscular connective tissue in normal and immobilized skeletal muscles. An immunohistochemical, polarization and scanning electron microscopic study. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, Londres: v. 23, n. 3, p. 245-254, 2002.
- KIM, J. W.; KWON, O. Y.; KIM, M. H. Differentially expressed genes and morphological changes during lengthened immobiliza-
- CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. **SALUSVITA**. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

tion in rat soleus muscle. **Differentiation**, Higgannum: v.75, p. 147-157, 2007.

LAROCHE, D. P.; CONNOLLY, D. A. J. Effects of stretching on passive tension and response to eccentric exercise. **The American Journal of Sports Medicine**, Rosemont: v. 34, n. 6, p.1000-1007, 2007.

LIU, C.; ZHI, Z.; TUCHIN, V. V.; LUO, Q.; ZHU, D. Enhancement of skin optical clearing efficacy using photo-irradiation. **Lasers in Medical Science**, Philadelphia: v. 42, n. 2, p.132-140, 2010.

MAEGAWA Y., ITOH T., HOSOKAWA T., YAEGASHI K., NISHI M. Effects of near-infrared low-level laser irradiation on microcirculation. **Lasers in Medical Science**, Philadelphia: v. 27, n. 5, p. 427-437, 2000.

MARTIN, R. Laser-accelerated inflammation/pain reduction and Healing. **Practical Pain Management**, Montclair: v. 3, n. 6, p. 20-25, 2003.

McCORMACK, P. L.; SCOTT, L. J. Diclofenac sodium injection (Dyloject): in postoperative pain. **Drugs**, Heidelberg: v. 68, n. 1, p.123-130, 2008.

MEADOR, B. M.; HUEY, K. A. Glutamine preserves skeletal muscle force during an inflammatory insult. **Muscle Nerve**, Malden: v. 40, n. 6, p. 1000-1007, 2009.

MERRICK, M. A. Secondary injury after musculoskeletal trauma: a review and update. **Journal of Athletic Training**, Columbus: v.2, n. 37, p. 209-217, 2002.

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

MIRO, A. M.; SHIVARAM, U.; FINCH, P. J. Noncardiogenic pulmonary edema following laser therapy of a tracheal neoplasm. **Chest**, Glenview: v. 96, n. 6, p. 1430-1431, 1989.

MIYATAKE, S. Randomized clinical comparisons of diclofenac concentration in the soft tissues and blood plasma between topical and oral applications. **British Journal of Clinical**, Oxford: v. 67, n. 1, p. 125-129, 2008.

MOHAUPT, M. G.; KARAS, R. H.; BABIYCHUK, E. B.; SANCHEZ-FREIRE V.; MONASTYRSKAYA K.; IYER L.; HOPPELLER H.; BREIL F.; DRAEGER A. Association between statin-as-

sociated myopathy and skeletal muscle damage. **CMAJ**, Ottawa: v. 181, n. 1-2, p. E11-8, 2009.

MOITRA, J.; SAMMANI, S.; GARCIA, J. G. Re-evaluation of Evans Blue dye as a marker of albumin clearance in murine models of acute lung injury. **Translational Research**, Philadelphia: v. 150, n. 4, p. 253-65, 2007.

NIKOLAOU, P. K.; MACDONALD, B. L.; GLISSON, R. R.; SEABER, A. V.; GARRETT, W. E. Biomechanical and histological evaluation of muscle after controlled strain injury. **The American Journal of Sports Medicine**, Rosemont: v.15, n.1, p. 9-14, 1987.

PHILIPPOU, A.; MARIDAKI, M.; BOGDANIS, G.; HALAPAS, A.; KOUTSILIERIS, M. Changes in the mechanical properties of human quadriceps muscle after eccentric exercise. **In Vivo**, Highlands: v. 23, n. 5, p. 859-865, 2009.

RAMOS, L.; LEAL JUNIOR, E. C.; PALLOTTA, R. C.; FRIGO, L.; MARCOS, R. L.; DE CARVALHO, M. H.; BJORDAL, J. M.; LOPES-MARTINS R. Infrared (810 nm) low-level laser therapy in experimental model of strain-induced skeletal muscle injury in rats: effects on functional outcomes. **Photochemistry and Photobiology**, McLean: v. 88, p. 154-160, 2012.

RODRIGUES, L. A.; FRACASSO, J. F.; SIQUEIRA, C. E. Diclofenaco. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara: v. 28, p. 45-49, 2007.

SAMOILOVA, K. A.; ZHEVAGO, N. A.; PETRISHCHEV, N. N.; ZIMIN A. A. Role of nitric oxide in the visible light-induced rapid increase of human skin microcirculation at the local and systemic levels: II. healthy volunteers. **Photomedicine and Laser Surgery**, Nova Iorque: v. 26, n. 5, p.443-9, 2008.

SCHINDL, A.; HEINZE, G.; SCHINDL, M.; PERNERSTORFER-SCHÖN, H.; SCHINDL, L. Systemic effects of low-intensity laser irradiation on skin microcirculation in patients with diabetic microangiopathy. **Microvascular Research**, Boston: v. 64, n. 2, p. 240-246, 2002.

SLIVKA D., RAUE U., HOLLON C., MINCHEV K., TRAPPE S. Single muscle fiber adaptations to resistance training in old (>80 yr) men: evidence for limited skeletal muscle plasticity. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative**, Rockville Pike: v. 295, n. 1, p. 273-280, 2008.

TEDGUI, A.; MALLAT, Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. **Circulation Research**, Dallas: v. 8, p. 877-887, 2001.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. **SALUSVITA**. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

CARVALHO, Rodrigo Leal de Paiva *et al.* O efeito da laserterapia de baixa potência em aspectos histológicos em um modelo experimental de lesão muscular por estiramento controlado em rato. *SALUSVITA*. Bauru, v. 34, n. 3, p. 505-525, 2015.

TROWBRIDGE, H. O.; EMLING, R. C. **Inflamação**. Uma revisão do processo. 4ed. São Paulo: Quintessence, 1996.

WARREN, G. L.; HAYES, D. A.; LOWE, D. A.; ARMSTRONG, R. B. Mechanical factors in the initiation of eccentric contraction-induced injury in rat soleus muscle. **The Journal of Physiology**, Malden: v. 464, p. 457-475, 1993.

WEBSTER, N. R.; GALLEY, H. F. Inflammation and immunity. **British Journal of Anesthesia**, Oxford: v. 3, p. 54-58, 2003.

WOOLF, C. J. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. **Pain**, Washington: n. 152, (3 Suppl), p. 2-15, 2011.

WRIGHT-CARPENTER, T. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: A pilot study on sportsmen with muscle strains. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart: v. 25, p. 588-593, 2004.

YOSHIKAI, Y. Roles of prostaglandins and leukotrienes in acute inflammation caused by bacterial infection. **Current Opinion in Infectious Diseases**, Hampshire: v. 14, p. 257-263, 2001.