

LASERTERAPIA ACELERA O PROCESSO DE REPARAÇÃO DE LESÃO MUSCULAR EM RATOS

M. Adabbo*, F. R. Paolillo*, V. H. Maciel*, V. S. Bagnato*, N. A. Parizotto**

*Instituto de Física de São Carlos (IFSC), Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, Brasil

**Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, Brasil
e-mail: fer.nanda.rp@hotmail.com

Resumo: A lesão muscular ocorre nos esportes, em quedas e no trabalho, incluindo a população de jovens, adultos e idosos. A laserterapia acelera o processo de reparação tecidual, entretanto, seu efeito em conjunto com o exercício físico ainda não foi demonstrado. Este estudo consiste em avaliar os efeitos associados da fototerapia com o treinamento aeróbio sobre a reparação muscular. Vinte ratos Wistar machos e adultos foram submetidos à criolesão no músculo tibial anterior direito, seguido de 3 dias de repouso. Os grupos foram: G1- lesão muscular sem tratamento; G2 - lesão muscular e tratamento com laser; G3 - lesão muscular e tratamento com exercício aeróbio e; G4 - lesão muscular e tratamento com laser e exercício aeróbio. Os parâmetros do laser infravermelho foram: 780 nm, 15 mW, durante 10 segundos, 0.152 J e 3.8 J/cm². Após a aplicação do laser sobre a área lesada, os animais caminharam na esteira por 12 minutos com velocidade de 17 m/min durante 5 dias. Foi avaliado a área de lesão muscular e a quantidade de vasos sanguíneos através de análise histológica. Foi utilizado ANOVA one way com post hoc Tukey para comparação intergrupos. O G4 reduziu significativamente ($p < 0.001$) a área da lesão comparado ao G1 (20%), G2 (17%) e G3 (15%), bem como aumentou significativamente ($p < 0.05$) o número de vasos sanguíneos comparado ao G1 (36%), G2 (19%) e G3 (11%). Portanto, a laserterapia associada ao exercício aeróbio na esteira estimulou a angiogênese e potencializou o processo de reparação muscular.

Palavras-chave: Laserterapia, exercício físico, bioestimulação, reparação muscular.

Abstract: Muscle injuries occur during sports, falls and work in young adults and elderly people. Due to photobiostimulation, Lasertherapy has been presented as an alternative to soft tissue treatment. The aim of this study was to investigate the effects of Lasertherapy associated with physical exercise on the muscle repair process in rats. The animals were randomized into 4 groups: G1- cryolesioned untreated; G2 - cryolesioned treated with laser; G3 - cryolesioned treated with physical exercise e; G4 - cryolesioned treated with laser and physical exercise. The right tibialis anterior (TA) was injured by cryoinjury. After three days of the rest, the treatment was started. Physical exercises with or without Lasertherapy were performed during five days, each session lasting 12 min at a treadmill velocity of 17

m/min. The laser parameters were 780nm, 15 mW, during 10 s, 0.152 J e 3.8 J/cm² applied immediately before physical exercise. After euthanasia, the TA was removed to perform a histological analysis. One-way ANOVA with post-hoc Tukey tests were used for intergroup analysis. The damage area was significantly smaller for the G4 ($p < 0.001$) compared to G1 (20%), G2 (17%) and G3 (15%). In addition, the number of blood vessels were significantly higher for the G4 ($p < 0.05$) compared to the G1 (36%), G2 (19%) and G3 (11%). Therefore, Lasertherapy associated with physical exercise on the treadmill stimulated an angiogenesis and accelerated the process of muscle repair.

Keywords: Lasertherapy, physical exercise, biostimulation, muscle repair.

Introdução

A lesão muscular ocorre com frequência nos esportes, em quedas e no trabalho, incluindo a população de jovens, adultos e idosos.

Os exercícios físicos realizados regularmente são capazes de promover uma aceleração dos processos de reparo tecidual e inflamatório no músculo [1]. Ainda, o exercício físico aumenta a função metabólica, cardiovascular e óssea [2]. Estes benefícios do exercício físico para a saúde em geral já são bem conhecidos.

Entretanto, recentemente, estudos têm mostrado que a fototerapia aplicada antes [3], durante [4] e após o exercício físico [5] pode aumentar o desempenho muscular. Isto ocorre, pois 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.

Muitos estudos demonstraram efeitos positivos da fototerapia no processo de reparação do tecido muscular.

Rizzi et al. [6] mostrou que o laser infravermelho acelerou o processo de recuperação da lesão muscular em ratos 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-κB).

No estudo de Avni et al. [7] foi constatado que o laser infravermelho aplicado 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.

Neste contexto, a laserterapia acelera o processo de reparação tecidual, entretanto, seu efeito em conjunto com o exercício físico ainda não foi demonstrado.

Então, o objetivo deste estudo consistiu em avaliar os efeitos associados da fototerapia com o treinamento aeróbio sobre a reparação muscular em ratos.

Materiais e métodos

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

Vinte ratos Wistar machos e adultos (cinco meses e 500 g) foram submetidos à criolesão no músculo tibial anterior direito, seguido de 3 dias de repouso.

Os grupos foram:

G1 - lesão muscular sem tratamento (n = 5);

G2 - lesão muscular e tratamento com laser (n = 5);

G3 - lesão muscular e tratamento com exercício aeróbio (n = 5) e;

G4 - lesão muscular e tratamento com laser e exercício aeróbio (n = 5).

Protocolos de tratamento– Os parâmetros do laser (MM Optics, São Carlos, SP, Brasil) foram: 780 nm, 15 mW, durante 10 segundos, 0.152 J e 3.8 J/cm². Após a aplicação do laser sobre a área lesada, os animais caminharam na esteira por 12 minutos com velocidade de 17 m/min durante 5 dias. Foram avaliadas a quantidade de vasos sanguíneos e a área de lesão muscular através de análise histológica.

Análise Estatística– 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) one way com post hoc Tukey para comparação intergrupos. O software utilizado foi o Statistica for Windows Release 7 (Statsoft Inc., Tulsa, Ok, USA). O nível de significância estatística foi de 5% (p<0.05).

Resultados

Os resultados obtidos da análise histológica para os diferentes grupos revelaram que o G4 reduziu significativamente (p<0.001) a área da lesão comparado ao G1 (20%), G2 (17%) e G3 (15%), bem como aumentou significativamente (p<0.05) o número de vasos sanguíneos comparado ao G1 (36%), G2 (19%) e G3 (11%).

A Figura 1 mostra a média e o desvio padrão do número de vasos sanguíneos (A) e da área de lesão obtidas nos diferentes grupos experimentais.

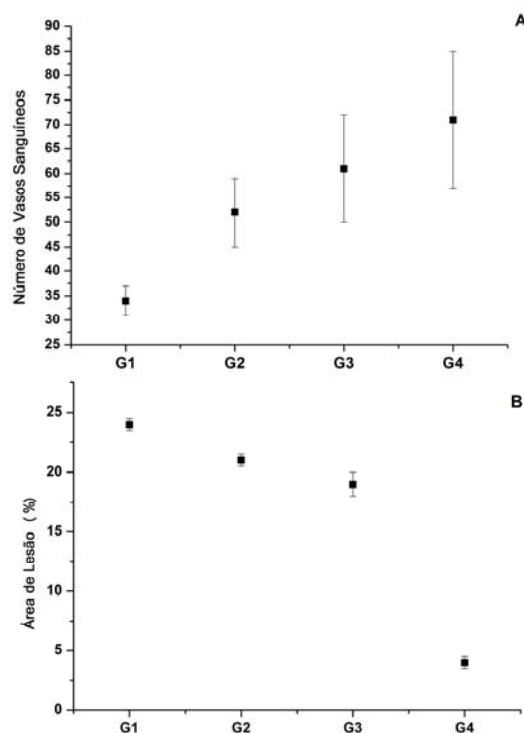


Figura 1: Média e desvio padrão do número de vasos sanguíneos e área de lesão no músculo tibial anterior nos grupos estudados.

Discussão

Neste estudo o grupo que fez Laserterapia antes do exercício aeróbio na esteira mostrou acelerado processo de reparação muscular comparado aos grupos que realizaram apenas a Laserterapia ou apenas o exercício aeróbio.

Estudos *in vitro* e *in vivo* animais e humanos mostram que a Laserterapia acelera o processo de reparação muscular.

Em estudo *in vitro* sobre os efeitos da Laserterapia (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. Isto indica sobrevivência de fibras e de células adjacentes, como as miogênicas, que geralmente sofreriam apoptose [8].

Em estudos *in vivo* com ratos, a Laserterapia foi aplicada 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 induzida por exercício excêntrico 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 acelerar o processo de reparação muscular e para aumentar a função do músculo [9].

Em estudo clínico, Ferraresi et al. [10] 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).

Neste contexto, a fototerapia é um importante agente físico não-invasivo que complementa o processo de reabilitação para maior eficiência terapêutica no processo de reparação tecidual.

Conclusão

Portanto, a Laserterapia associada ao exercício aeróbico na esteira estimulou a angiogênese e diminuiu a área de lesão no músculo tibial em ratos, o que indica acelerado processo de reparação muscular.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (Processo N°. 573587/2008 e 151008/2012-4) e à FAPESP (Processo N°. 2013/07276-1 e 2013/14001-9).

Referências

- [1] Nieman DC. Influence of carbohydrate on the immune response to intensive prolonged exercise. *Exercise Immunology Review*. v. 4, p. 64-76. 1998.
- [2] Enoksen E, Shalfawi SA, Tønnessen E. The effect of high vs. low-intensity training on aerobic capacity in well-trained male middle-distance runners. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2011; 25: 812-818.
- [3] Leal Junior EC, Lopes-Martins RA, Rossi RP, De Marchi T, Baroni BM, de Godoi V, Marcos RL, Ramos L, Bjordal JM. Effect of cluster multi-diode light emitting diode therapy (LEDT) on exercise-induced skeletal muscle fatigue and skeletal muscle recovery in humans. *Lasers in Medical Science*. 2009; 41:572-577.
- [4] Paolillo FR, Corazza AV, Borghi-Silva A, Parizotto NA, Kurachi C, Bagnato VS. Infrared-LED applied during high-intensity treadmill training improved maximal exercise tolerance in postmenopausal women: a 6-month longitudinal study. *Lasers in Medical Science*. 2013; 28:415-422.
- [5] Ferraresi C, De Brito Oliveira T, De Oliveira Zafalon L, De Menezes Reiff RB, Baldissera V, De Andrade Perez SE, Junior EM, Parizotto NA. Effects of low level laser therapy (808 nm) on physical strength training in humans. *Lasers in Medical Science*. 2011; 26(3):349-358.
- [6] Rizzi CF, Mauriz JL, Corrêa DSF, Moreira AJ, Zettler CG, Filippin LI, Marroni NP, González-Gallego J. Effects of Low-Level Laser Therapy (LLLT) on the Nuclear Factor (NF)- κ B Signaling

- Pathway in Traumatized Muscle. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2006; 38:704-713.
- [7] Avni D, Levkovitz S, Maltz L, Oron U. Protection of Skeletal Muscles from Ischemic Injury: Low-Level Laser Therapy Increases Antioxidant Activity. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2005; 23(3):273-277.
- [8] Shefer G, Partridge TA, Heslop L, Gross JG, Oron, U, Halevy S. Low-energy laser irradiation promotes the survival and cells cycle entry os skeletal muscle satellite cells. *Journal of Cell Science*. 2002; 115:1461-1469.
- [9] Liu XG, Zhou YJ, Liu TC, Yuan JQ. Effects of Low-Level Laser Irradiation on Rat Skeletal Muscle Injury after Eccentric Exercise. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2009; 27(6):863-869.
- [10] Ferraresi C, Panepucci R, Reiff R, et al. Molecular effects of low-level laser therapy (808nm) on human muscle performance. *Physical Therapy in Sport*. 2012;13[abstract]:e5.