



**LIGA DE ENSINO DO RIO GRANDE DO NORTE
FACULDADE NATALENSE PARA O DESENVOLVIMENTO DO RIO
GRANDE DO NORTE
BACHARELADO EM FISIOTERAPIA**

José Moreira Alves Junior
Leônidas de Oliveira Neto

**EFEITOS DA MICROCORRENTE SOBRE O PROCESSO DE REPARO TECIDUAL
PÓS LESÃO MUSCULAR**

Natal/RN
2011

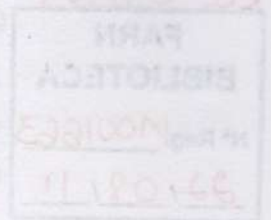
JOSÉ MOREIRA ALVES JUNIOR
LEÔNIDAS DE OLIVEIRA NETO

EFEITOS DA MICROCORRENTE SOBRE O PROCESSO DE REPARO TECIDUAL
PÓS-LESÃO MUSCULAR

EFEITOS DA MICROCORRENTE SOBRE O PROCESSO DE REPARO TECIDUAL
PÓS-LESÃO MUSCULAR

Grande do Norte - FARN, como parte dos requisitos para obtenção do
Bacharel em Fisioterapia.

Aprovado em:



BANCA EXAMINADORA

Monografia apresentada à Faculdade Natalense
para o Desenvolvimento do rio Grande do Norte -
FARN, como parte dos requisitos para obtenção do
título de Bacharel em Fisioterapia.

Orientador (a): Profª. Dra. Patrícia Froes Meyer
Co-orientador: Mndo. Rodrigo Marcel Valentim da
Silva

Natal/RN
2011

RB 34907 M
 615.84
 A49e
 2011
 ex 01

FARN
BIBLIOTECA
Nº Reg. <u>M001663</u>
<u>22/08/11</u>

Catálogo na Publicação – Biblioteca da FARN
 Setor de Processos Técnicos

Alves Junior, José Moreira

Efeitos da microcorrente sobre o processo de reparo tecidual em lesão muscular / José Moreira Alves Júnior. Leônidas de Oliveira Neto. – Natal: FARN, 2011.

71f.

Orientador: Patrícia Froes Meyer (Dra.)

Monografia (Bacharelado em Fisioterapia) – Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte.

1. Fisioterapia – Monografia. 2. Lesão Muscular – Monografia. 3. Análise Histológica – Monografia. 4. Reparo Tecidual – Monografia. I. Título.

RN/FARN/BC

CDU 615.8

JOSÉ MOREIRA ALVES JUNIOR
LEÔNIDAS DE OLIVEIRA NETO

AGRADECIMENTOS

**EFEITOS DA MICROCORRENTE SOBRE O PROCESSO DE REPARO TECIDUAL
PÓS-LESÃO MUSCULAR**

Monografia apresentada à Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte - FARN, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Fisioterapia.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Patrícia Froes Meyer
Orientador(a)

Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte – UnP

Mndo. Rodrigo Marcel Valentim da Silva
Co-orientador
Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN

Prof^o Dr. Jamilson Simões Brasileiro
Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN

Natal/RN
2011

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a concretização deste trabalho primeiramente a Deus que nos ajudou a vencer, nos dando forças, sabedoria e ânimo todos os dias para alcançarmos nossos sonhos e concretizar todos os nossos projetos de vida.

Agradecemos aos nossos irmãos e aos nossos pais José Moreira Alves e Selma de Macêdo Alves, Paulo de Oliveira e Soraia Cristina da Silva, pelo amor e apoio incondicionais ao longo dos anos. Agradecemos a todos demais familiares, noiva (Ana Luísa Coutinho Gomes e toda sua família), esposa (Anna Camila Sanches da Costa e toda sua família), filho (Miguel Lucas Sanches de Oliveira), amigos e mestres que, pela presença, compreensão, palavra e apoio, de forma direta ou indireta nos ajudaram a concluir mais uma etapa, no caminho em busca de nossos ideais.

Gostaríamos de enfatizar ainda aqueles que neste processo de formação acadêmico muito contribuíram tanto com sua sabedoria quando com sua compreensão em buscar formar da forma mais completa nosso egresso acadêmico, tantos os professores, em especial vossa autarquia da fisioterapia mundial Dr^a. Patrícia Froes Meyer e futura autarquia Rodrigo Marvel Valentim da Silva, aos funcionários, em especial ao Sr. Flávio e a toda a comunidade acadêmico-científica da Xurupita, são eles, Topeira, Chico, Trombadilson, Léo *et. al.*, 2007.1.

Agradecemos também a todos aqueles traídos pelas nossas memórias mas que direta ou indiretamente sempre estiveram ao nosso lado e tornaram-se importante para o nosso processo de formação não só acadêmica mas também pessoal.

LISTA DE ABREVIATURAS

AM	Alongamento máximo
ANOVA	Análise de Variância
ATP	Adenosina trifosfato
CM	Carga máxima
cm	Centímetros
CTGás	Centro de Tecnologias do Gás
CO ²	Gás Carbônico
g	Gramma
G-1	Grupo Controle negativo: Sem lesão e sem tratamento
G-2	Grupo Controle positivo: Com lesão e sem tratamento
G-3	Grupo Experimental tratado por microcorrente
HE	Hemotoxilina e Eosina
Hz	Hertz
IL-1	InterLeucina-1
IL-6	InterLeucina-6
Kg	Kilograma
Kgf	Kilograma força
mA	miliamperes
mg	Miligramas
ml	Mililitros
mm	Milímetro
mm/Min	Milímetros minuto
min	Minutos
mV	MiliVoltz
N	Newton
N/m	Newton metro
N ₂	Nitrogênio Liquido
RIG	Rigidez
s	Segundos

TMC	Terapia por Microcorrente
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral - α
UNPA	Unidade de Pesquisa Aplicada e Transferência de Tecnologia
μ A	microamperes
$^{\circ}$ C	Graus Celsius

Tabela 1 - Grupo amostral utilizado durante o experimento	29
Tabela 2 - Análise descritiva da histologia do G-1	35
Tabela 3 - Análise descritiva da histologia do G-2	36
Tabela 4 - Análise descritiva da histologia do G-3	37
Tabela 5 - Média e desvio padrão dos parâmetros biomecânicos analisados por grupo	40
Tabela 6 - Comparação das médias da Carga Máxima (N) entre os grupos	41
Tabela 7 - Comparação pontual entre as médias de Alongamento Médio (100° m) de cada grupo	42
Tabela 8 - Comparação pontual entre as médias de Rigidez (N/m) de cada grupo	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Grupo amostral utilizado durante o experimento.....	29
Tabela 2 – Análise descritiva da histologia do G-1	35
Tabela 3 – Análise descritiva da histologia do G-2	36
Tabela 4 – Análise descritiva da histologia do G-3	37
Tabela 5 – Média e desvio padrão das variáveis biomecânicas analisadas por grupo.	40
Tabela 6 - Comparação das médias da Carga Máxima (N) entre os grupos	41
Tabela 7 - Comparação pontual entre as médias de Alongamento Máximo ($\times 10^{-3}$ m) de cada grupo	42
Tabela 8 – Comparação pontual entre as médias de Rigidez (N/m) de cada grupo.....	43

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Comparação gráfica dos os valores de carga máxima (y) e alongamento máximo (x), entre os grupos G-1, G-2 e G-3 respectivamente.....41

Figura 2 - Dispositivo para fixação de músculos e máquina universal de ensaio mecânico.....32

Figura 3 - (HE 100X): Lâmina do G-1: Demonstra o tecido muscular íntegro, com estriações transversais e epimísio normal (fino).....37

Figura 4 - (HE 40X): Lâmina histológica do G-2: Tecido apresenta grande área de degeneração de fibras musculares e moderada regeneração de tecido conjuntivo.....37

Figura 5 (HE 40X): Transição do tecido conjuntivo para muscular, em que a fibra muscular não regenera o espaço preenchido no G-3.....38

Figura 6 (HE 100X): Transição do tecido conjuntivo para muscular, em que a fibra muscular não regenera o espaço preenchido no G-3.....38

Figura 7 (HE 40X): Lâmina do grupo G-2 apresenta em seu tecido, grande área de degeneração de fibras musculares e moderada regeneração de tecido conjuntivo.....39

Figura 8 (HE 40X): Lâmina do grupo G-3 apresenta em tecido grande área de regeneração e degeneração atenuada.....39

Figura 9 (HE 100X): Lâmina do G-3 apresenta tecido com extensa área rodeada do epimísio apresentando regeneração ao redor das fibras e (bexar) ao redor do endomísio.....40

Figura 10 (HE 100X): Lâmina do G-2 apresenta em seu tecido, área rodeada do epimísio apresentando regeneração ao redor das fibras, porém são observadas alterações no endomísio.....40

RESUMO

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Divisão cronológica do reparo tecidual, adaptado de JARVINEN <i>et al.</i> , 2007; Retirado de JARVINEN <i>et al.</i> , 2005.....	21
Figura 2 – Dispositivo para fixação do músculo a máquina universal de ensaio mecânico	32
Figura 3 – (HE 100X): Lâmina do G-1: Demonstra o tecido muscular íntegro, com estriações transversais e epimísio normal (fino)	37
Figura 4 – (HE 40X): Lâmina histológica do G-2: Tecido apresenta grande área de degeneração de fibras musculares e moderada regeneração de tecido conjuntivo.....	37
Figura 5 (HE 40X): Transição do tecido conjuntivo para muscular, em que a fibra muscular não regenera o espaço preenchido no G-3	38
Figura 6 (HE 100X): Transição do tecido conjuntivo para muscular, em que a fibra muscular não regenera o espaço preenchido no G-3	38
Figura 7 (HE 40X): Lâmina do grupo G-2 apresenta em seu tecido, grande área de degeneração de fibras musculares e moderada regeneração de tecido conjuntivo.....	39
Figura 8 (HE 40X): Lâmina do grupo G-3 apresenta em tecido grande área de regeneração e degeneração acentuada.....	39
Figura 9 (HE 100X): Lâmina do G-3 apresenta tecido com extensa lesão vindo do epimísio apresentando regeneração ao redor das fibras e fibrose ao redor do endomísio.....	40
Figura 10 (HE 100X): Lâminha do G-2 apresenta em seu tecido, lesão vindo do epimísio apresentando regeneração ao redor das fibras, porém não observados alterações no endomísio	40

Palavras-chave: Microcorrente, Reparo Tecidual, Lesão Muscular

RESUMO

Após a lesão muscular ocorre uma sequência de processos biológicos no tecido acometido objetivando limitar a expansão do mecanismo lesional. A fisioterapia atua neste contexto através de recursos terapêuticos que promovam efeitos antiinflamatórios ou pró-inflamatórios, bem como acelerando o processo de regeneração tecidual. Um recurso fisioterápico promissor o qual interage diretamente neste processo é a terapia por microcorrente, no entanto sua interação no tecido muscular ainda é pouco estudada. Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi de verificar os efeitos da microcorrente sobre o processo de regeneração muscular em lesão experimental. Para tanto, foram utilizados 30 ratos, da raça Wistar, divididos em 3 grupos distintos; controle negativo (n=10), onde não foi realizado nenhuma intervenção; controle positivo (n=10), submetido a criolesão muscular no gastrocnêmio direito, porém não recebendo qualquer tratamento, e um grupo experimental (n=10) que após ser submetido ao mesmo protocolo de lesão foi tratado por microcorrente no segmento lesado, com a aplicação de 20 min por aplicação, utilizando-se os parâmetros de 510 μ A de intensidade, frequência de 80 Hz e inversão de polaridade a cada 2.5 segundos, num total de 9 aplicações não consecutivas em um período de 21 dias. Posteriormente os animais foram sacrificados e dissecionados os gastrocnêmios direito para o ensaio mecânico de tração, sendo observadas as propriedades biomecânicas de alongamento máximo, carga máxima e rigidez. As análises estatísticas dos resultados obtidos nos ensaios de tração foram realizadas utilizando o ANOVA *one-way*, e quando constatadas diferenças significativas, os dados foram submetidos ao teste *post-hoc* de *Tukey* para comparação pontual entre as médias dos grupos, sendo adotado nível de significância de $p < 0,05$. As análises da histologia foram realizadas de forma descritiva e qualitativa de forma duplo-cego. Os dados dos ensaios de tração demonstraram diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle negativo com os demais grupos, no entanto comparando-se os grupos controle positivo e experimental, não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), entre as propriedades biomecânicas de carga máxima e alongamento máximo, porém com relação a rigidez todos os grupos apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Nas análises histológicas observou-se que o grupo experimental obteve maior regeneração tecidual, com deposição de tecido colágeno em substituição ao tecido lesionado, porém obteve vários focos de degeneração, em comparação aos grupos controles. O presente estudo sugere que em modelo experimental de lesão muscular induzida por criolesão, o tratamento por microcorrente foi capaz de atingir tecido profundo, modulando respostas inflamatórias em tecido muscular, acelerando o processo de remodelagem tecidual, porém apesar dos bons resultados no ensaio de tração, sua aplicação no parâmetro pré-estabelecido não foi suficientemente eficaz para demonstrar efeitos satisfatórios com relação a qualidade do reparo tecidual verificado na histologia.

Palavras-chave: Microcorrente. Reparo Tecidual. Lesão Muscular.

ABSTRACT

After the muscle injury is a result of biological processes in the affected tissue aiming to limit the expansion of injury mechanism. Physical therapy works in this context through therapeutic resources that promote anti-inflammatory or pro-inflammatory as well as accelerating the process of tissue regeneration. A promising feature physiotherapy which interacts directly in this process is microcurrent therapy, but their interaction in the muscle tissue is still poorly studied. In this light the objective of this study was to evaluate the effects of microcurrent on the process of muscle regeneration in experimental injury. Thus, we used 30 rats Wistar were divided into three distinct groups; negative control (n = 10), where there has been no intervention, positive control (n = 10) underwent freezing injury gastrocnemius muscle in the right, but receiving no treatment, and an experimental group (n = 10) that after being subjected to the same protocol of injury was treated by microcurrent on the injured segment, with the application of 20 minutes per application, using the parameters of 510 μ A intensity a frequency of 80 Hz and polarity reversal every 2.5 seconds, a total of 9 applications in a non-consecutive period of 21 days. Later the animals were sacrificed and the gastrocnemius sectioned law for mechanical tests, and we studied the biomechanical properties of elongation, maximum load and stiffness. Statistical analysis of results obtained in tensile tests were performed using SPSS v18, that when given the data parameters, we performed a one-way ANOVA and when significant differences, data were submitted to post-hoc test hoc Tukey test to compare means between groups, with the level of $p < 0.05$, analysis of histology was performed as a descriptive and qualitative in a double-blind study. Data from tensile tests showed a statistically significant difference between the negative control group with other groups, however, comparing the experimental and positive control groups showed no statistically significant difference ($p < 0.05$) between the biomechanical properties maximum load and elongation, but as for the stiffness all groups showed statistically significant ($p > 0.05$), compared with the histological analysis we can see that the experimental group had greater regenreação tissue with deposition of collagen tissue in place the injured tissue, but had several foci of degeneration compared to control groups. The present study suggests that in an experimental model of muscle injury induced freezing injury, microcurrent treatment was able to reach deep tissue, modulating inflammatory responses in muscle tissue, accelerating the tissue remodeling, but despite the good results from tensile tests, its application in parameter pre-set was not sufficiently effective to demonstrate satisfactory effects on quality of tissue repair observed in histology.

Keywords: Microcurrent. Tissue Repair. Muscle Injury.

3.4.2 Protocolo de aplicação da Terapia por Microcorrente (TMC)	29
3.4.3 Protocolo de sacrifício e remoção dos materiais para análise	30
3.4.4 ENSAIO DE TRACÃO	31
3.4.5 ANÁLISE HISTOLÓGICA	33
3.5 ANÁLISE DE DADOS	34
3.5.1 ANÁLISE DO ENSAIO MECÂNICO DE TRACÃO	34
3.5.2 ANÁLISE HISTOLÓGICA	34

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	SUMÁRIO	38
----------------------------	---------	----

5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES		45
-------------------------------	--	----

REFERÊNCIAS		47
-------------	--	----

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA E SUA IMPORTÂNCIA	15
1.2 OBJETIVOS	16
1.2.1 Objetivo Geral	17
1.2.2 Objetivo Específico	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 TECIDO MUSCULAR	18
2.2 LESÃO MUSCULAR	18
2.3 REPARO TECIDUAL	19
2.4 CORRENTES ENDÓGENAS	21
2.5 TERAPIA POR MICROCORRENTE (TMC)	22
2.6 UTILIZAÇÃO DA TERAPIA DE MICROCORRENTE (TMC) NO REPARO TECIDUAL	23
2.7 UTILIZAÇÃO DA TERAPIA DE MICROCORRENTE (TMC) NO TECIDO MUSCULAR	24
2.8 ENSAIO DE TRAÇÃO	25
2.9 ANÁLISE HISTOLÓGICA	26
3. METODOLOGIA	28
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA PESQUISA	28
3.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA	28
3.3 INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS	28
3.4 PROCEDIMENTOS	29
3.4.1 Protocolo de Indução da Lesão	29
3.4.2 Protocolo de aplicação da Terapia por Microcorrente (TMC)	30
3.4.3 Protocolo de sacrifício e remoção dos materiais para análise	30
3.4.4 ENSAIO DE TRAÇÃO	31
3.4.5 ANÁLISE HISTOLÓGICA	33
3.5 ANÁLISE DE DADOS	34
3.5.1 ANÁLISE DO ENSAIO MECÂNICO DE TRAÇÃO	34
3.5.2 ANÁLISE HISTOLÓGICA	34

1 INTRODUÇÃO

As lesões musculares são cada vez mais comuns na prática esportiva ou recreativa, proporcionando lesões de várias amplitudes, afastando atletas de sua rotina de treinamentos, competições ou de atividades de vida diária, sendo estas causadas, principalmente, por contusões e excessivas forças musculares (PETERSON, 2002).

Desta maneira, diversos estudos têm analisado os diferentes tipos de lesões musculares que tem sido um fator de grande relevância no que se diz respeito ao aumento proporcional de estudos relacionados, não somente com o processo de regeneração muscular como objeto de estudo principal, mas também com as diversas modalidades de tratamentos de lesões que acometem o sistema musculoesquelético. No entanto, em todos os estudos as lesões musculares apareceram com uma grande incidência (YOON *et al*, 2006).

Existem várias classificações para estabelecer o nível das lesões musculares, sendo estas classificadas de acordo com o mecanismo e o nível de gravidade. Levando em consideração o grau de comprometimento das fibras musculares e a etiologia de maneira multifatorial, as lesões podem classificar-se de acordo com a gravidade e extensão em três categorias distintas. Uma lesão de grau leve ou lesão de grau I, quando esta apresenta poucas fibras lesadas, quando sofrem apenas distensão ou um leve estiramento sem que haja rompimento, classifica-se de lesão moderada ou lesão de grau II quando esta envolve o rompimento parcial de fibras musculares, porém não totalmente, e classifica-se uma lesão grave ou lesão de grau III quando é muito severa de maneira que há comprometimento total das fibras musculares (JARVINEN *et al*, 2000).

O processo de reparo tecidual constitui uma reação tecidual dinâmica, a qual compreende diferentes fenômenos, tais como: inflamação, proliferação celular e síntese de elementos constituintes da matriz extracelular, incluindo as fibras colágenas, elásticas e reticulares (PUGLIESE *et al*, 2003).

Os processos de cicatrização e reparo ocorrem após trauma ou doença. É comum e fisiológico que após a lesão do tecido muscular esquelético, o organismo tente de alguma maneira se livrar dos danos. A resposta inflamatória consiste na primeira linha de defesa do organismo contra um agente agressor, a área é invadida por células inflamatórias tais como células mononucleares, neutrófilos, macrófagos, associado à secreção de fatores de crescimento, citocinas que promove o aumento do fluxo sanguíneo e o aumento da resposta inflamatória objetivando eliminar e remover tecidos degenerados, preparando a região afetada para o reparo (GUIRRO; GUIRRO, 2004).

A fase de reparação muscular ocorre logo após é caracterizado pela síntese de proteína, fibras de colágenos e fibroblastos produzindo tecido conectivo e tecido cicatricial (MANDELBAUM, 2003).

Observa-se ainda que o músculo esquelético é capaz de sofrer regeneração completa devido à ativação de células-tronco que residem no músculo esquelético, células estas denominadas células satélites (CHARGÉ; RUDNICKI, 2004).

As células satélites são células precursoras no processo de regeneração, que compreende em pequenas células miogênicas, em estado quiescente, localizadas entre o sarcolema e a lâmina basal. Na maior parte do tempo as células satélites se mantêm em estado quiescente, porém, certos estímulos, como o miotrauma, induzem sua ativação e, assim, passam a exprimir diversos marcadores miogênicos. Esses fatores modificam a atividade celular, fazendo com que se diferenciem, se multipliquem e migrem, contribuindo para a regeneração ou crescimento do tecido muscular (HILL; GOLDSPINK, 2003; MAGAUDDA *et al.*, 2004).

Seguido à regeneração tecidual ocorre à fase de remodelagem, na qual ocorre a adaptação do músculo regenerado às atividades contráteis e a reorganização do tecido cicatricial (MATHEUS, *et al.*, 2008; DUTTON, 2006).

Devido aos incômodos e a repercussão clínica ocasionada pela exacerbação do processo inflamatório, a fisioterapia atua na redução desses sinais clínicos através de recursos terapêuticos que promovam efeitos antiinflamatórios (redução da intensidade da inflamação) ou pró-inflamatórios (acelerando o processo

inflamatório para que a mesma ocorra de maneira mais rápida) bem como acelerando o processo de regeneração e remodelagem dos tecidos. Entre os recursos terapêuticos utilizados na prática atual, esta a microcorrente que consiste em uma corrente quadrada, bipolarizada, bifásica, simétrica e aleatória, que utiliza baixíssima amperagem, com saída de corrente constante, acelerando em até 500% a produção de adenosina trifosfato (ATP), sendo essa molécula a grande responsável pela síntese proteica e regeneração tecidual devido a sua participação em todos os processos energéticos da célula. Em teoria, o tecido saudável é o resultado do fluxo direto de correntes elétricas pelo organismo (GONZALES, 2004;).

A microcorrente é um recurso bastante utilizado na cicatrização de feridas, porém ainda pouco elucidado e utilizado no que se diz respeito aos resultados de lesões muscular. No âmbito terapêutico a microcorrente atua em baixíssima amperagem, com capacidade de acelerar a produção de energia, sendo essa molécula a grande responsável pela síntese proteica e regeneração tecidual devido a sua participação em todos os processos energéticos da célula. Em teoria, o tecido saudável é o resultado do fluxo direto de correntes elétricas pelo organismo. Quando o tecido sofre lesão, esse fluxo é alterado no local, portanto neste caso a corrente elétrica pode estimular a reparação tecidual. O uso da terapia com microcorrentes, sobre lesões cutâneas tem o objetivo de normalizar o fluxo de correntes, objetivando o reparo e minimizando a dor (ALCAIDE *et al.*, 2001).

1.1 CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA E SUA IMPORTÂNCIA

Atualmente verifica-se um grande número de pesquisas voltadas para conhecimento e melhora do tratamento de feridas, ou seja, no processo de reparação tecidual. Dentre elas se destacam as pesquisas nas áreas de microcorrentes, este é um recurso fisioterapêutico que atua diretamente no processo cicatricial, no entanto, sua ação no tecido muscular ainda é pouco estudada (MEYER, 2008; MAYON, 2008).

De acordo com Oliveira *et al* (2006), a utilização de terapia de microcorrentes possui um efeito limitado para a diminuição da inflamação e aceleração do processo de reparação tecidual, conforme experimento de 15 ratos com lesão induzida cirurgicamente utilizando o aparelho de microcorrentes com intensidade de 160 microamperes.

No entanto, Silva (2006), afirma que a terapia por microcorrentes possui eficácia na aceleração do processo cicatricial utilizando intensidade de 30 a 160 microamperes e frequência de 0,3Hz a 0,8Hz, conforme resultado da aplicação da terapêutica em 21 ratos, sendo induzida uma lesão cirurgicamente e realizado o tratamento de reparo de pele com a microcorrentes. Obteve-se como resultados a formação de novos vasos sanguíneos, proliferação fibroblástica, incremento da reepitelização, bem como diminuição da fase inflamatória.

Acredita-se que as microcorrentes induzem através de corrente de baixa amperagem, alterando a polaridade das membranas das células, a atividade dos fibroblastos na síntese de colágeno, bem como o reparo de diferentes tecidos do corpo (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Apesar de diversos estudos demonstrarem a eficácia da microcorrentes no reparo tecidual, a literatura ainda é muito escassa para demonstrar os efeitos biológicos sobre o tecido muscular. Este é um recurso promissor, cuja fundamentação científica tem-se demonstrado relevante para a síntese de colágeno em feridas, no entanto a literatura também não disponibiliza informações a respeito dos parâmetros para a aplicação da técnica no reparo muscular.

O presente estudo visa oferecer subsídios para a comunidade científica, promovendo a fundamentação para o uso do recurso eletroterapêutico da microcorrentes aplicado a fisioterapia. Pretende-se buscar embasamento científico que comprove a ação da microcorrente no reparo muscular e também, por meio de experimentos, verificar a eficácia deste recurso em lesões destas estruturas, propondo um maior esclarecimento sobre os efeitos das microcorrentes nas diferentes fases do processo inflamatório e na regeneração, na busca de promover um retorno as atividades funcionais e laborativas em menor tempo após diferentes traumas.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Investigar o efeito da microcorrentes no processo de regeneração do tecido muscular.

1.2. Objetivo Específico

- Avaliar histologicamente o tecido muscular após a indução da lesão em ratos tratados com terapia por microcorrente e compará-los aos respectivos grupos controle.
- Verificar os efeitos da microcorrente na variação das propriedades biomecânicas do tecido muscular pós-lesão.
- Observar na análise histológica a resposta da microcorrente no processo de regeneração da lesão muscular, quanto à necrose de fibras musculares, edema e a proliferação de fibroblastos, fibras colágenas e neoangiogênese;
- Co-relacionar as variáveis biomecânicas e histológicas e entre os grupos controles e experimental.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. TECIDO MUSCULAR

Os tecidos biológicos, entre eles o tecido muscular, são constituídos por células especializadas na realização de funções corporais e apresentam propriedades adequadas às suas demandas funcionais (MUELLER; MALUF, 2002). Basicamente existem quatro tipos de tecidos divididos de acordo com as características relacionadas à estrutura e função: epitelial, nervoso, conectivo e muscular (ENGLES, 2001).

Os tecidos muscular e conectivo constituem a maioria dos tecidos acometidos durante a realização de atividades esportivas ou recreativas (WOODS *et al.*, 2002), sendo responsável pela contratilidade celular e sua composição pode ser compreendida a partir de dois componentes básicos como o sarcômero, que é um dos componentes básicos do músculo estriado que permite a contração muscular e os envoltórios de tecido conectivo denominado endomísio caracterizado por uma camada muito fina constituída pela lâmina basal, perimísio que envolve cada feixe de fibras musculares e epimísio no qual partem septos muito finos. O sarcômero é composto por filamentos proteicos de actina e miosina na região central e filamentos elásticos e inelásticos, sendo considerado o componente ativo do tecido muscular (LORENZ; CAMPELLO, 2001).

A maior parte do interior da fibra muscular está ocupada por miofibrilas de 1 a 2µm de diâmetro. Cada fibra pode conter, desde várias centenas, até muitos milhares de miofibrilas. Por sua vez, cada miofibrila apresenta cerca de 1500 filamentos de miosina e 3000 de actina, dispostos lado a lado. Em cortes longitudinais pode ser observada a estriação transversal tão característica das miofibrilas. Esta estriação é devida à presença de actina e miosina, as duas principais proteínas contrácteis do músculo (BROOKS, 2000).

2.1. LESÃO MUSCULAR

Dentre todas as ocorrências de lesões no esporte, a lesão muscular é a mais comum, compreendendo cerca de 10-55% de todos os casos, seja ela causada por contusão, distensão ou laceração (JARVINEN, 2005; BEST, 2000; MENETREY *et al.* 2007; HUARD *et al.* 2002).

Em decorrência da extensão do dano ao tecido lesionado e a partir dos sintomas relatados pelo indivíduo que sofreu tal lesão, podemos estratificá-la em quatro níveis diferentes em que estas interferem no processo de reparo tecidual posterior ao acometimento lesional, sendo considerado lesão grau 1, àquela que acomete poucas fibras musculares de forma que ocasione pouco edema e dor apenas a atividade; grau 2 acomete um número moderado de fibras musculares, gerando edema e dor moderada inclusive à palpação; grau 3 acomete um grande número de fibras musculares além de ocasionar ruptura parcial da fascia, desencadeando uma resposta bastante dolorosa tanto à atividade quanto a palpação; e por último lesão grau 4, em que pode-se observar ruptura completa das fibras musculares e fáscia, além da presença de dor intensa ao repouso, palpação e atividade, associado a equimose abaixo da área da lesão (MISCHRA *et al.*, 2009).

2.2. REPARO TECIDUAL

Atualmente, a terminologia lesão tem sido definida como qualquer ruptura na integridade de um tecido ou órgão, isto significa que pode haver comprometimento de diferentes tecidos, desde a camada mais externa da pele (epiderme), até estruturas mais profundas como o tecido muscular (JORGE; DANTAS, 2003). Os mecanismos de lesão são diversos, desde fatores extrínsecos, como um trauma, cirurgia, até fatores intrínsecos, tais como um problema arterial ou venoso.

O processo de reparo tecidual é uma resposta natural do organismo de etiologia multifatorial podendo ocorrer após trauma ou doença (SHAL; SCARS, 1994). Após a lesão muscular ocorre uma manutenção da musculatura esquelética desempenhada pela sua capacidade de regeneração, um conjunto de repostos celulares é ativado resultando na regeneração desta estrutura (CHARGÉ; RUDNICKI *et. al.*, 2004)

O processo de reparo pode ser caracterizado pelas transformações que ocorrem no tecido de cicatrização, sendo um processo dinâmico que envolve células sanguíneas, mediadores celulares, matriz extracelular, e células parenquimatosas, de maneira que sua reestruturação constituem mecanismo complexo, em que vários fatores contribuem para a criação de diversos tipos de cicatrização, como hipertrofia, atrofia ou normotrofia, da área lesionada. Esses processos compreendem três fases: inflamação, granulação e formação de matriz extracelular, de maneira que a compreensão dessas fases permite a identificação de uma cicatrização normal da pele o reconhecimento de quando uma intervenção é necessária, e a coerência quanto à aplicação de uma terapia adjuvante (ROCHA *et. al.*, 2007; GONÇALVES, 2007).

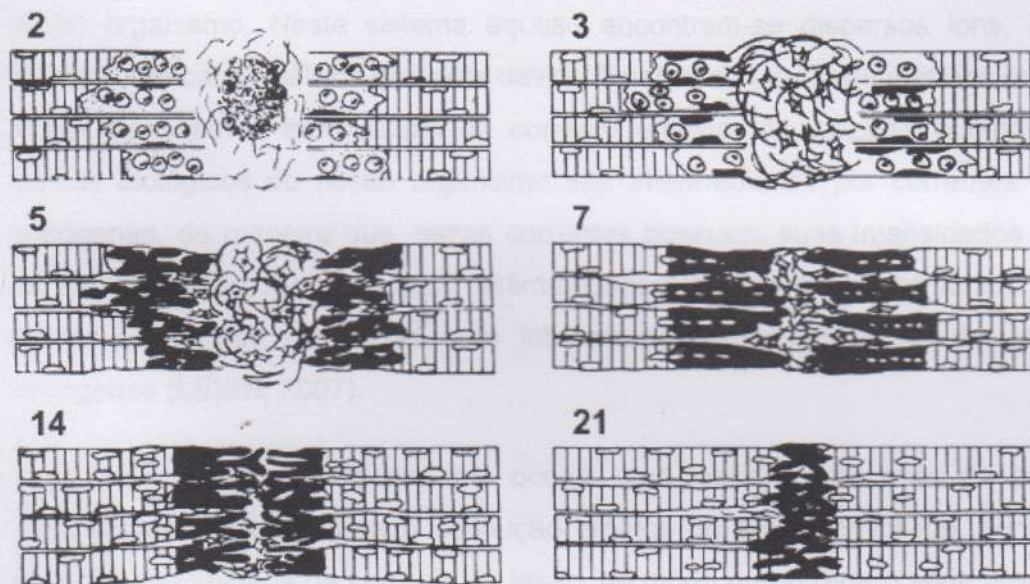
No processo de cicatrização, após o início do estágio de granulação, ocorre uma sutil predominância de células fagocitárias e o aumento do número de fibroblastos com formação de nova matriz extracelular, deste modo ocorrendo a remodelação desses tecidos com a contração do tecido de granulação. Na fase de formação da matriz, os fibroblastos produzem quantidades abundantes de matriz extracelular. A síntese de colágeno ocorre no 21º dia posterior à lesão, e o retorno da pele ao aspecto normal, no 26º dia (COLLINS, 2000).

De forma esquemática Jarvinen *et al.*, (2005) subdivide as etapas do reparo tecidual da seguinte forma:

- Dia 2: As peças necrosadas do tecido muscular seccionado estão sendo retiradas pelos macrófagos, enquanto que paralelamente ocorre a formação do tecido cicatricial conjuntivo por ação dos fibroblastos na zona central (ZC) da lesão.

- Dia 3: As células-satélite se tornaram ativadas dentro dos cilindros da lâmina basal na zona de regeneração (ZR).
- Dia 5: Mioblastos se fundiram em miotubos na ZR e o tecido conjuntivo na ZC torna-se mais denso.
- Dia 7: As células do músculo regeneração ampliar do velho cilindros lâmina basal na ZC e começar a perfurar a cicatriz.
- Dia 14: A cicatriz da ZC ainda mais condensado e em tamanho reduzido, enquanto a regeneração de miofibras fechar a lacuna ZC.
- Dia 21: O entrelaçamento miofibras são praticamente fundidos com pouca intervenção do tecido conjuntivo (cicatriz) entre eles.

Figura 1 - Adaptado de Jarvinen et al., 2007



Fonte: Retirado de Jarvinen et al., 2005

2.3. CORRENTES ENDÓGENAS

Os estudos sobre a existência de correntes endógenas e campos elétricos em organismos vivos e sua importância é, simultaneamente, um tema relativamente velho e novo na literatura. Luigi Galvani (1737-1798) foi pioneiro na investigação deste fenômeno de "eletricidade animal". As suas experiências com preparações de pernas de rãs demonstraram, pela primeira vez, que a contração muscular era dependente de condução elétrica e que os próprios tecidos eram capazes de gerar eletricidade, desde que danificados, porém, só mais tarde foi conhecida a explicação física para a bioeletricidade (MCCAIG, 2005).

Os campos elétricos endógenos e outros sinais bioelétricos influenciam uma grande variedade de comportamentos celulares. Tendo em conta que todos esses comportamentos foram já implicados no processo regenerativo, é natural que também já tenha sido demonstrado o envolvimento de sinais bioelétricos na regeneração. A água é a substância que se encontra em maior quantidade em nosso organismo. Neste sistema aquoso encontram-se dispersos íons, que são átomos com carga elétrica presente devido à perda ou ganho de elétrons orbitantes, e que permitem a transmissão da corrente elétrica. As funções fisiológicas dos tecidos biológicos do nosso organismo são intermediadas por correntes elétricas endógenas, de maneira que, essas correntes possuem suas intensidades na faixa de microampéres. Sendo assim, estimulações elétricas exógenas teriam maiores efeitos se fossem realizadas com intensidades semelhantes às das correntes endógenas (LEVIN, 2007).

No momento em que ocorre uma lesão, o processo da perda de continuidade tecidual altera a condução elétrica do tecido envolvido, sendo essa situação denominada de corrente de lesão, de modo que o reparo seria proveniente de uma estimulação elétrica na área lesionada resultando em aumento da velocidade de reparo do dano, acelerando o tempo de cicatrização (SILVA, 2006)

Esse aumento da diferença de potencial dificulta a passagem da corrente elétrica que é fundamental para desencadear o processo de cicatrização, necessitando-se do acréscimo de uma corrente exógena que ativa o processo cicatricial. Essa corrente exógena ativadora do processo de reparo é a

microcorrentes, que restaura o fluxo de energia e reativa a funcionalidade das células (BORGES, 2006).

As microcorrente promove um aumento do acúmulo de cargas positivas na membrana externa da mitocôndria, como conseguinte gerando um gradiente de prótons que acelera o metabolismo celular com aumento da produção de ATP's e conseqüentemente da energia celular. Acredita-se que o incremento da produção de ATP esteja na faixa de 300% a 500%, desde modo com maior disponibilidade de energia a um aumento da atividade de transporte ativo, conduzindo uma quantidade cada vez superior de aminoácidos para dentro das células favorecendo a síntese de proteínas. Como o aumento da produção de proteínas ocorre também à aceleração do processo de reparo tecidual (AGNE, 2009)

2.4.TERAPIA COM MICROCORRENTE (TMC)

Diversas terapias de estimulação elétrica exógena tem demonstrado um efeito potencial para melhorar a cicatrização de feridas tanto em seres humanos quanto em modelo animal (SANTOS, 2009, ALVES; CORRÊA; LIEBANO, 2009, BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005). Dentre estas correntes podemos destacar a Terapia por microcorrentes (TMC), que caracteriza-se por uma estimulação elétrica não invasiva que consiste na aplicação de uma onda elétrica com capacidade de modular o fluxo do campo eletromagnético corporal utilizando-se correntes positivas e negativas para tal (DRIBAN, 2004).

A terapia por microcorrentes consiste em uma modalidade terapêutica que utiliza corrente elétrica de baixa intensidade (microampéres / baixa frequência), as quais não atingem o limiar de sensibilidade dos nervos periféricos, deste modo os indivíduos não sentem a sensação da passagem de corrente (BORGES, 2006; SILVA, 2006; MERCOLA; KIRSCH, 1995).

Geralmente as aplicações de microcorrente utilizam uma baixa freqüências, em torno de 0.3Hz, 3 Hz, 10Hz, 30Hz, e 300 Hz (MANLEY, 1994; ALLEN *et. al.*, 1994). Starkey (2001) por sua vez relata valores entre 0,5 Hz e 100Hz, não sendo determinado ainda valores específicos para a utilização da microcorrentes.

As correntes elétricas que variam de 10 mA para 1000 mA são suficientes para ocasionar aumento nas concentrações de ATP no tecido, e estimular o transporte de aminoácidos na de pele de ratos, sendo potencializada com intensidade entre 100 mA e 750 mA. Os efeitos na produção de ATP podem ser explicados por movimentos de prótons, de forma que as microcorrentes geram um aumento do acúmulo de cargas positivas na membrana externa da mitocôndria, gerando um gradiente de prótons que acelera o metabolismo celular com aumento da produção de ATP's e conseqüentemente da energia celular. Acredita-se que o incremento da produção de ATP esteja na faixa de 300% a 500%, enquanto as funções de transporte de aminoácidos são controladas por modificações dos gradientes elétricos através das membranas em que com maior disponibilidade de energia há um aumento da atividade de transporte ativo, conduzindo uma quantidade cada vez superior de aminoácidos para dentro das células favorecendo a síntese de proteínas, de forma que tais efeitos contribuem para a aceleração do processo de reparo tecidual (CHENG *et. al.*, 1982).

2.5. UTILIZAÇÃO DA TERAPIA DE MICRO CORRENTE (TMC) NO REPARO TECIDUAL

Alguns estudos vem demonstrando a utilização de terapia de microcorrentes na aceleração do processo de reparação tecidual em feridas (MENDONÇA *et. al.* 2009; KOTH 2005,), apesar de que os parâmetros para utilização da microcorrentes ainda não são bem delimitados. Em estudo desenvolvido por Leffmann *et. al.* (1994), para tratamento de ferida em ratos foi utilizado 100 mA de intensidade e 0,3 Hz de frequência 2 horas por dia durante 14 dias, resultados similares foram observados em estudos realizados por Baiyat *et. al.* (2006) em que foram utilizados para

tratamento de feridas de coelhos os parâmetros de 200mA e 0,5 Hz, 2 horas por dia, durante 15 dias, em que encontraram efeitos benéficos de reparo tecidual com a utilização desta terapia.

2.6. UTILIZAÇÃO DA TERAPIA DE MICRO CORRENTES (TMC) NO TECIDO MUSCULAR

Estudos entre a interação da TMC com o tecido muscular ainda é pouco estabelecida, porem vem-se evidenciando na literatura cada vez mais que a TMC não atua somente em camadas superficiais, mas também em camadas mais profundas, dentre estas o músculo (ALCAIDE *et al.*, 2001).

Estudos referentes à aplicação de correntes de microamperagens no musculo vem demonstrando eficácia com relação a dor muscular de inicio tardio (CURTIS *et al.* 2010), lombalgia (MCKIN, 2004), fibromialgia (MCKIN *et al.* 2005), a medida em que neste ultimo estudo o efeito analgésico da TMC obteve relação com os níveis elevados de B-endorfina, onde ainda é sugerido um efeito antiinflamatório desta terapia devido a reduções na concentração plasmática de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, substância P, TNF- α). Tais achados sugerem um efeito anti-inflamatório modulado pela TMC, visto que a supressão destes marcadores biológicos vêm sendo evidenciados na literatura como moduladores da atividade antiinflamatória (AKIRO *et al.*, 1990, SANZ *et al.*, 2008).

Em contrapartida resultados insatisfatórios foram observados em humanos, onde a utilização da microcorrente não se mostrou eficaz na redução da dor e aumento da função muscular em modelo protocolado de exercícios excêntricos (BONACCI; HIGBIE, 1997). Estudos em equinos promovidos por Yi-Lo Lin. *et al.* (2006), objetivando determinar o potencial efeito cicatricial da mesma terapia em tendão de equinos não foram suficientes para demonstrar eficacia, visto que efeitos benéficos e maléficos poderam ser observados quando alterado a frequência e principalmente o tempo e número de aplicações, ao qual apesar de microcorrente

ser capaz de aumentar o metabolismo celular e, portanto, promover a regeneração tecidual. Os resultados deste estudo estão longe de serem conclusivos com relação à adequação do uso de microcorrentes para promover a cicatrização do tendão de eqüinos.

2.7. ENSAIO DE TRAÇÃO

Endomísio, perimísio e epimísio são estruturas que envolvem as fibras musculares e são denominados elementos elásticos em paralelo, pois contribuem para gerar tensão passiva, funcionando com uma rede de transmissão de forças, em que tal funcionalidade depende do comprimento muscular e da arquitetura de suas fibras (ENGLES, 2001; LORENZ; CAMPELLO, 2001).

Recobrando o tecido muscular, podemos observar a presença de tecidos conectivos, com destaque para o colágeno, que funcionalmente irá conferir força tênsil as estruturas que ele recobre, de acordo com sua quantidade e organização (ENGLES, 2001; SILVER; FREEMAN; SEEHRA, 2002; NORDIN; LORENZ; CAMPELLO, 2001). As diferenças relativas à organização das fibras de colágeno contribuem para que cada estrutura exerça seu papel mecânico de forma adequada (SILVER; FREEMAN; SEEHRA, 2002), em que o seu alinhamento promove maior força tênsil de sustentação (NORDIN; LORENZ; CAMPELLO, 2001), conferindo ao musculo as propriedades mecânicas de elasticidade, viscoelasticidade e plasticidade (ENGLES, 2001).

Uma forma de observarmos as propriedades mecânicas do tecido muscular é através do ensaio mecânico de tração, que é representado através de um gráfico em que é plotada a magnitude da força aplicada sobre o material em relação ao deslocamento apresentado (ENGLES, 2001; CURWIN, 1996), capaz ainda de demonstrar informações relativas à elasticidade, plasticidade, rigidez, ponto de falha e energia que um tecido é capaz de absorver antes da sua ruptura (AKESON et al, 1984; BINKLEY, 1989; NORKIN; LEVANGIE, 1992).

A resistência mecânica intrínseca do tecido posto a prova, neste caso o tecido muscular, está vinculada intimamente com a qualidade e segurança do tecido regenerado, pois a quebra da integridade estrutural repercute diretamente no resultado do tratamento proposto, influenciando no comportamento do tecido biológico submetido (FAGUNDES, 1990; NIERI, 1999).

Caracteristicamente, os modelos de avaliação por ensaio de tração analisam um ou dois atributos no momento crítico de ruptura e apesar de serem extremamente utilizados, os resultados obtidos por meio desses testes biomecânicos representam parcialmente o comportamento do tecido biológico sob imposição de uma força externa e variável com o tempo (HENDRICKS *et al.*, 1990).

2.8. ANÁLISE HISTOLÓGICA

O campo da análise histológica é um método bastante utilizado no âmbito laboratorial e de grande valia considerando-se a sua contribuição na descoberta das alterações morfológicas. A microscopia fotográfica associada à computação gráfica por imagens tem sido de grande utilidade por grande número de especialistas, um fator preponderante, dadas as suas possibilidades reais de aplicação nas descobertas científicas. Envolve todo e qualquer tipo de tratamento de imagens, desde simples gráficos até imagens complexas de projetos científicos.

O avanço da tecnologia junto a análise histológica com o benefício do aumento da definição de imagens de computação gráfica surge como um conjunto de métodos e técnicas não só para conversão de dados, mas também para auxílio de fins de diagnóstico (FAUCITANO *et al.*, 2005).

Os métodos de análise qualitativa e quantitativa em histopatologia por imagem têm-se mostrado eficientes e rápidos na análise de variáveis conhecidas e bem definidas. Entretanto, a quantificação de estruturas de contorno e textura imprecisos de variáveis histopatológicas são itens de avaliação de maneira que, o grande desafio deste método é originar um novo enfoque na interpretação dos

achados microscópicos, classificando-se em padrões bem definidos e ilimitados (CASTILLERO, 2005).

O método de análise de variáveis histométricas por processamento de imagens mostra-se ser eficiente e poderoso na quantificação das principais variáveis teciduais envolvidas em processos inflamatórios e reparativos. Foram passíveis de quantificação variáveis até então não processáveis e definidas como o contorno limite deixado pela subtração das estruturas convencionais, tais como células, núcleos e vasos. Permite-se, dessa forma, quantificar em microscopia óptica áreas ocupadas por líquido de edema, fibras colágenas e musculares, bem como substâncias intersticiais amorfas (NOVELLI *et al*, 1997).

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com animais CEP, da Universidade Paulista – UnP e está de acordo com a Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, EJA, 1963; American Council).

3.2. POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população desta pesquisa é composta por ratos da raça Wistar. Ratos Norwígecos, variação albina, com pesos de forma aleatória com peso entre 260 e 350g, pesados em balança digital com capacidade máxima de 30kg e mínima de 2g (Balmak ELF-010000), e pertencentes a 20 animais leve origem no Laboratório Ciopatologia Natavim, que foram mantidos por um período de adaptação por 5 dias, no qual foram mantidos sob os protocolos experimentais no mesmo ambiente, a uma temperatura entre 22 e 27°C, iluminação controlada e o mínimo de ruído possível, com acesso a água e com fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro. Os animais foram mantidos com alimentação ambiente, ambiente climatizado, onde receberam água (GBC-00000000000000000000) *ad libitum*.

3. METODOLOGIA

3.1. CARACTERIZAÇÃO DA PESQUISA

Esta pesquisa é caracterizada como ensaio clínico experimental, que teve por objetivo analisar a interferência da terapia por microcorrentes nas etapas do processo regeneração muscular de animais submetidos a lesões musculares. Segundo Cervo e Bervian (2000), a pesquisa experimental caracteriza-se por manipular diretamente as variáveis relacionadas ao objetivo de estudo. Neste tipo de pesquisa a manipulação das variáveis proporciona o estudo da relação entre as causas e os efeitos de um determinado fenômeno.

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com animais- CEP, da Universidade Potiguar – UnP e está de acordo com o Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório (*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, EUA, National Research Council*).

3.2. POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população desta pesquisa foi composta por ratos da raça *Wistar*, *Rattos Norvegicos*, variação albina, selecionados de forma aleatória com peso entre 200 e 350g, pesados em balança de precisão com capacidade máxima de 30kg e mínima de 2g (Balmak ELP 6/15/30). A amostra de 30 animais teve origem no Laboratório Citopatologia Natal/RN. e os mesmos passaram por um período de ambientação por 5 dias, no qual foram mantidos durante os protocolos experimentais ao mesmo ambiente, a uma temperatura entre 22^o a 27^oC, iluminação controlada e o mínimo de ruído possível, com mesmo ciclo biológico com fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, em gaiolas individuais forradas com serragem, ambiente climatizado, onde receberam água e ração (FRELAB) *ad libitum*.

Os 30 ratos foram divididos em 3 grupos (Tabela 1), sendo todos os animais sacrificados após 21 dias, onde o primeiro grupo (G-1) foi o grupo-controle, o qual não sofreu lesão nem aplicação do tratamento. O segundo grupo (G-2) foi induzido a lesão experimental com criolesão, porém não sendo realizado posteriormente tratamento com microcorrentes, já no terceiro grupo (G-3) foi induzido o mesmo protocolo de lesão, sendo realizado tratamento por microcorrentes durante 9 dias não consecutivos, sendo todos os ratos sacrificados ao final de 21 dias para análise histológica e biomecânica do músculo gastrocnêmio.

TABELA 1 – Grupo amostral utilizado durante o experimento

Grupos	Amostra	Tratamento	Sacrifício
G-1	10 animais	Controle negativo: Sem lesão e sem tratamento	Após 21 dias
G-2	10 animais	Controle positivo: Com lesão e sem tratamento	Após 21 dias
G-3	10 animais	Experimental: 510 μ A de intensidade 80 Hz de frequência	Após 21 dias

Fonte – Criação independente

3.3. INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

Como forma de verificar as propriedades biomecânicas e histológicas do grupo muscular gastrocnêmio foi realizado ensaio de tração do gastrocnêmio direito e para análise histológica foi utilizado o gastrocnêmio esquerdo de cada animal.

3.4. PROCEDIMENTOS

3.4.1. PROTOCOLO DE INDUÇÃO DA LESÃO

Para a realização do processo de lesão muscular os animais foram previamente sedados com anestésico dissociativo Zoletil 50[®] (Virbac[®]) com 0,2ml por 100g via intramuscular (um animal de cada vez), aplicado com seringa de 1ml e agulha 13x4,5 (Plascalp). Em seguida após a anestesia ter sido estabelecida, foi realizada a depilação bilateral das patas, realizada manualmente e protegida com luvas de procedimento, seguida de assepsia do local com Digluconato de Clorhexidina à 2% (laboratório FGM), para ser realizada a incisão de 1 cm sobre a pele com lâmina de bisturi número 15 em aço carbono (Solidor), no local correspondente ao ventre muscular dos músculos gastrocnêmios direito e esquerdo do animal, fazendo o afastamento das fáscias para exposição dos músculos com material cirúrgico esterilizado em Autoclave e esterilizado entre animais com detergente enzimático (Deivin).

Para a realização da lesão experimental, foram tomadas precauções quanto à assepsia do local a ser lesionado, com a substituição das luvas de procedimento por luvas estéreis, gaze estéril e Digluconato de Clorhexidina à 2% para que agentes externos não exerçam qualquer ação e desta forma evitar possíveis infecções cruzadas.

Foi então realizado uma incisão transversal de aproximadamente 1 cm com o afastamento das fáscias para exposição da região do ventre muscular do músculo gastrocnêmio direito e esquerdo de cada animal. A lesão tecidual foi induzida por congelamento (criolesão), para isso foi utilizado um bastão de ferro com 6mm de largura e 30mm de comprimento, previamente imerso em nitrogênio líquido (N₂), sendo pressionado perpendicularmente contra o ventre do músculo por 10s, seguida de um intervalo de 15s para novo resfriamento do bastão para então nova aplicação de mais 10s do bastão contra o ventre muscular. Após pequeno descongelamento,

a pele que recobre a lesão foi suturada com fio de seda odontológico 3-0, com agulha triangular cortante MT 17 - 1,7cm (Somerville).

Após o ato cirúrgico os animais receberam analgésico do tipo Dipirona Sódica gotas 500mg/ml (Medley[®]) dissolvido na água.

3.4.2. PROTOCOLO DE APLICAÇÃO DA TARAPIA POR MICROCORRENTE (TMC)

3.4.2.1. ENSAIO MECÂNICO DE TRAÇÃO

No decorrer de 24h foi iniciado aplicação da microcorrentes nos segmentos acometidos, com eletrodos posicionados ao redor de todo o segmento lesionado, com a aplicação de 20 min por dia; utilizando-se os parâmetros estabelecidos para a microcorrente de: 510 μ A de intensidade, frequência de 80 Hz e inversão de polaridade a cada 2,5 segundos (corrente pulsada).

3.4.3. PROTOCOLO DE SACRIFÍCIO E REMOÇÃO DOS MATERIAIS PARA ANÁLISE

Seguido ao período de tratamento os animais foram sacrificados em uma câmara de gás de dióxido de carbono. Depois do sacrifício, foi realizada a dissecação dos músculos Gastrocnêmio direito e esquerdo dos ratos, utilizando as patas direitas para realização de um ensaio mecânico de tração, e as patas esquerdas utilizadas para análise histológica.

O músculo gastrocnêmio do membro posterior direito de cada animal foi retirado, através da remoção da pele e de algumas partes moles, seguida da desarticulação do tornozelo e quadril, sendo tomada a precaução de manter a integridade do músculo, preservando sua origem no terço distal do fêmur e inserção no calcâneo, para facilitar a fixação da peça à máquina de ensaio. Após a

dissecação, as peças foram colocadas em solução de lactato de Ringer, durante 30 minutos, em temperatura ambiente, até o momento da realização dos ensaios.

O músculo gastrocnêmio do membro posterior esquerdo foi armazenado em formol a 10% e encaminhado ao laboratório de Histologia da UnP (encaminhadas ao laboratório de patologia para processamento histológico de rotina), onde permaneceu por 24h para ser iniciado o processo de análise histológica.

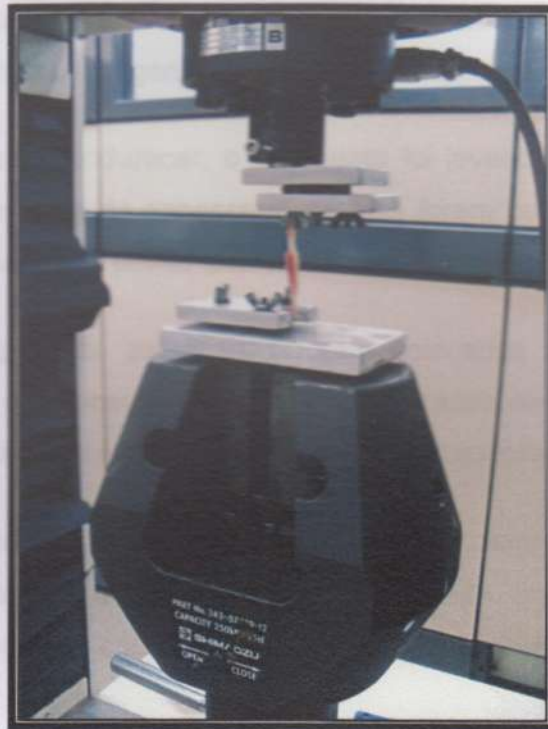
3.4.4. ENSAIO MECÂNICO DE TRAÇÃO

Para o ensaio mecânico de tração do músculo gastrocnêmio direito, foi utilizada a máquina universal de ensaios (SHIMITZU® modelo DL10000, EMIC) da Unidade de Pesquisa Aplicada e Transferência de Tecnologia (UNPA), do Centro de Tecnologias do Gás (CTGás), equipada com célula de carga de capacidade de 50kgf. A máquina utilizada possui interface direta a um microcomputador contendo o software TESC capaz de gerar um gráfico: carga versus alongamento para cada ensaio dos músculos.

Dois acessórios apropriados para a fixação da peça a ser testada, sendo um para fixação do fêmur e outro para fixação do calcâneo, mantendo o joelho e tornozelo com 90° de angulação. No momento do ensaio, o músculo será acoplado à máquina e, conforme metodologia estabelecida pelo laboratório será aplicada uma pré-carga de 200g durante o tempo de acomodação de 30 segundos, com o intuito de promover a acomodação do sistema. Toda a metodologia para realização dos ensaios mecânicos já foram validadas em artigo prévio, de acordo com, Matheus *et al.*, (2008). Após a pré-carga, o ensaio prosseguirá por 8 minutos, com velocidade pré-estabelecida para o ensaio de 10mm/minuto. A carga aplicada foi registrada pelo software em intervalos regulares de alongamento até o momento em que o músculo sofrerá a ruptura.

3.4.5. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Figura 2: Dispositivo para fixação do músculo a máquina universal de ensaio mecânico.



Fonte – Produção Independente, CT-Gás-RN

A partir do gráfico, carga *versus* alongamento, de cada ensaio, foram obtidas e analisadas as seguintes propriedades mecânicas:

- Alongamento máximo (AM): é o valor do alongamento no ponto inicial até o ponto de ruptura. É representado em metros ($\times 10^{-3}$ m);
- Carga Máxima (CM): é o valor máximo de carga registrada durante o ensaio. É representado em Newtons (N);
- Rigidez: é uma propriedade biofísica inerente ao músculo e outros materiais que corresponde à resistência elástica perante uma força aplicada. Obtida pela tangente do ângulo (0) e representada em Newtons /metro (N/m).

3.4.5. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Para este procedimento, a peça sofreu desidratação através de 3 passagens pelo álcool com duração de 1 hora cada, sendo em seguida realizada a fase de diafanização através de 3 passagens pelo Xilol durante 10 minutos cada. Então, foi iniciado o processo de inclusão, através da imersão do tecido biológico na parafina aquecida a 65°C em 3 passagens de 1 hora cada fragmento.

Após a parafina endurecer, o fragmento foi levado ao Micrótomo e cortado em fitas de 3 a 5 micras de espessura. As fitas foram colocadas em banho-maria com água a 35°C para que possa fixar na lâmina.

Depois de prontas, as lâminas foram colocadas na estufa a 65°C para secagem, seguido do processo de bateria de coloração com Hemotoxilina e Eosina (HE) para realizar análise através de um estudo histopatológico.

Após confecção das lâminas, as mesmas foram examinadas por um patologista de maneira duplo-cega, em microscópio óptico Olympus, onde foi realizada microfotografias com câmera digital acoplada ao microscópio.

3.5. ANÁLISE DE DADOS

3.5.1. Análise do Ensaio Mecânico de Tração

Para análise de dados dos resultados obtidos no ensaio mecânico de tração foi utilizado o programa estatístico SPSS v.18.0, em que inicialmente para os parâmetros ordinais (quantitativos) foram calculadas: a média (M), desvio padrão (DP), erro padrão da media (EPM), valor máximo (MAX), valor mínimo (MIN) e número de dados (N) e posteriormente verificados a parametria dos dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, sendo então utilizada a análise de variância (ANOVA) para dados paramétricos, pois quando constatadas diferenças estatisticamente significantes, foi-se utilizado o teste post-hoc de Tukey para comparação múltipla das médias dos grupos, sendo adotado o nível de significância de $p < 0,05$.

3.5.2. Análise Histológica

A análise histológica foi realizada por uma patologista de forma duplo-cega, de forma que foi verificado a presença de estriações musculares; níveis de degeneração e regeneração; fase da lesão (crônica ou aguda); presença de necrose tecidual, tecido de granulação, tecido fibrótico, além da extensão da lesão em epimísio, perimísio e endomísio.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O músculo gastrocnêmio foi utilizado no experimento devido sua localização e função, onde este se caracteriza por permanecer em condições de atividade física extenuante, tendo um maior risco de lesão ou ruptura, ao qual ainda podemos observar que esta ocorre à medida que os músculos são mais solicitados a esforços de tração. Associando estes fatores ao fato de que a localização das inserções proximais e distal do gastrocnêmio facilita a fixação do músculo no aparelho de tração e consequentemente à realização do experimento, a utilização do ensaio mecânico de tração se justifica pertinente (JÄRVINEN, 1992).

O alto grau de semelhança morfológica dos tecidos musculo-esqueléticos entre os mamíferos possibilita uma avaliação qualitativa dos sinais de lesão e reparo muscular fidedigna, contribuindo para a elucidação dos principais aspectos do processo regenerativo muscular, quando utilizados modelos animais, tornando pertinente a utilização de análise histológica neste modelo de lesão experimental (TIDBALL, 1995).

Desta forma o presente estudo buscou avaliar os efeitos da microcorrente no reparo tecidual muscular, em que podemos observar na tabela a seguir uma análise descritiva dos achados histológico do G-1.

Tabela 2 - Análise descritiva da histologia do G-1 (grupo controle sem lesão)

FIBRAS MUSCULARES			INFLAMAÇÃO *				
G-1	Integra (Presença de Estriações Transversais)	Degeneração/ Regeneração	Crônica/ Aguda	Necrose	Tecido Granulação	Fibrose	Epimísio + Perimísio
1	+++	-	-	-	-	-	-
2	+++	-	-	-	-	-	-
3	+++	-	-	-	-	-	-
4	+++	-	-	-	-	-	-
5	+++	-	-	-	-	-	-
6	+++	-	-	-	-	-	-

7	+++	-	-	-	-	-	-
8	+++	-	-	-	-	-	-
9	+++	-	-	-	-	-	-

Quando observamos as características gerais das análises histológicas do G-1 (Tabela 2) podemos observar que este grupo, não apresenta qualquer indicio de lesão em sua estrutura.

Conforme já esperado, o grupo G-1 apresentou na análise histológica, um tecido muscular sem características inflamatórias, com fibras musculares dispostas de maneira normal e tecido conjuntivo posicionado de maneira organizada e normal na região do epimísio (Figura 3).

Tabela 3 – Análise descritiva da histologia do G-2 (Grupo controle com lesão)

FF MUSCULARES				INFLAMAÇÃO					
							Formação de neovasos	Colágeno jovem	Tecido conjuntivo
	Integra (Presença de Estriações Transversais)	Degeneração	Regeneração	Crônica	Aguda	Necrose	Tecido Granulação	Fibrose	Epimísio + Perimísio
1	+	+++	+++	++	-	-	++	++	+
2	+	+	+	++ -	-	-	+	+	+
3	+	-	-	+	-	-	-	+	+
4	+	+	+++	+	-	-	++	+	+
5	+	-	-	+	-	-	-	+	+
6	+	+++	-	+	-	-	++	++	+
7	+	-	-	+	-	-	-	+	+
8	+	+++	+++	++	+	-	++	++	+

No entanto, o G-2 apresentou um intenso processo inflamatório, com elevada degeneração de fibras musculares e regeneração de tecido conjuntivo (Figura 4). Esses resultados corroboram com Pavesi (2008), o qual aponta que uma criolesão muscular promove um intenso processo inflamatório caracterizado pelos processos degenerativos, presença de células inflamatórias (neutrófilos e macrófagos). Podemos observar ainda presença de tecido de granulação tardio, tal como a fibrose incipiente ao redor do foco da lesão.

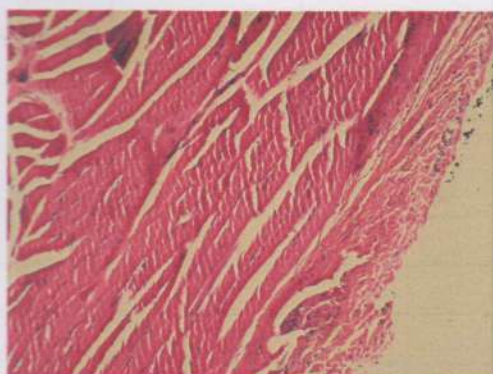


Figura 3 (HE 100X): Lâmina do G-1: Demonstra o tecido muscular íntegro, com estriações transversais e epimísio normal (fino).

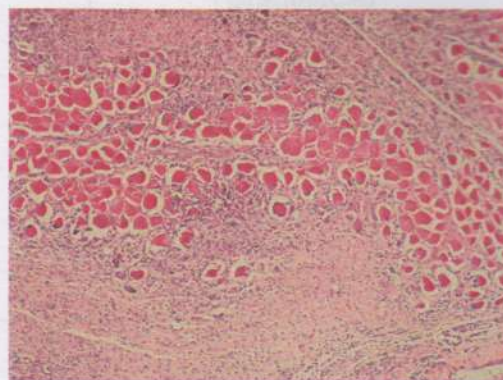


Figura 4 (HE 40X): Lâmina histológica do G-2: Tecido apresenta grande área de degeneração de fibras musculares e moderada regeneração de tecido conjuntivo

A diferenciação entre G-1 e G-2 é esperada, visto que após a lesão tecidual ocorre o processo de reparo tecidual natural ao organismo, em que as fibras musculares degeneradas tendem a ser conformadas por tecido conjuntivo em sua substituição (TIDBALL, 2005).

Tabela 4 – Análise descritiva da histologia do G-3 (Grupo tratado por microcorrente)

FF MUSCULARES							INFLAMAÇÃO		
							Formação de neovasos	Colágeno denso	Tecido con
G-2	Integra (Presença de Estriações Transversais)	Degeneração	Regeneração	Crônica	Aguda	Necrose	Tecido Granulação	Fibrose	Epimísio e F
1									
2	+	+++	+++	++	-	-	++	+	++
3	+	+++	+++	+	-	-	++	++	++
4	+	+++	++	+	-	-	++	+	+
5	+	++	++	+	+++	-	+	+	+
6	+	++	++	+	-	-	+	-	++
7	+	++	++	+	-	-	++	+	+
8	+	++	++	++	+	-	++	++	+
9	+	++	++	++	+	-	+	++	+

Com relação ao G-3, que foi tratado por microcorrentes, após a indução da lesão muscular podemos observar, aspectos distintos, com destaque para a o nível de regeneração e degeneração muscular acentuados, grande deposição de tecido fibrótico (tecido colágeno denso) inclusive em endomísio, que apresenta-se com inflamação crônica, fato não ocorrido nos demais grupos estudados (Tabela 4).

No grupo G-3 foi observado um intenso processo de cicatrização do tecido conjuntivo, evidenciado na região do epimísio, além disso, foi verificado aumento da atividade de regeneração de fibras musculares, com um processo de multinucleação de fibras. Verificou-se uma grande área de tecido em regeneração ao redor das áreas de degeneração das fibras lesionadas. Observou-se também uma grande deposição de tecido conjuntivo e fibras colágenas na região do perimísio. Pode-se

perceber que ocorreu uma grande área de lesão, no qual o tecido muscular não regenerou, sendo substituído por tecido fibrótico.

A formação de tecido conjuntivo evidenciada no G-3 (Figura 5 e Figura 6) corroboram estudos realizados por Esquisatto (2006) em que foi observado aumento da atividade fibroblástica no grupo tratado por microcorrentes. Dunn (1988), também obteve como resultado de seu estudo aumento na produção de fibroblasto associado ao alinhamento do colágeno, após estimulação por microcorrentes do tecido epitelial.

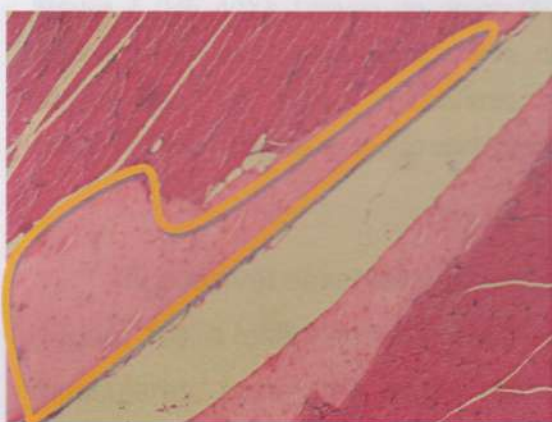


Figura 5 (HE 40X): Transição do tecido conjuntivo para muscular, em que a fibra muscular não regenera o espaço preenchido no G-3

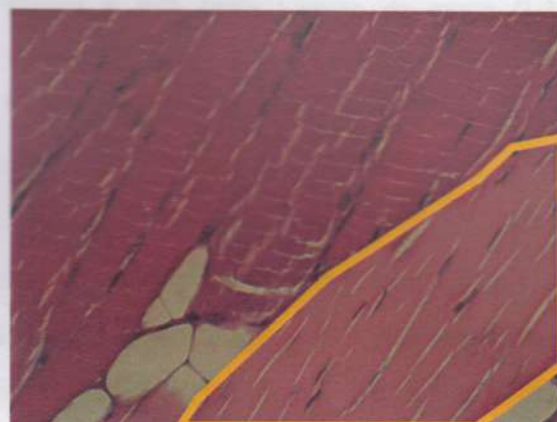


Figura 6 (HE 100X): Transição do tecido conjuntivo para muscular, em que a fibra muscular não regenera o espaço preenchido no G-3

Pode-se observar nas análises histológicas, dos grupos G-2 (Figura 7) e G-3 (Figura 8), que apesar de ambos apresentarem degeneração de fibras musculares e regeneração de tecido conjuntivo, a área de degeneração no grupo tratado por microcorrentes apresenta-se restrita quando comparado ao grupo que não foi tratado e apenas sofreu a lesão. Em contrapartida podemos observar que a quantidade de tecido fibrótico ao redor de lesão apresenta-se mais desenvolvida no grupo tratado por microcorrentes



Figura 7 (HE 40X): Lâmina do grupo G-2 apresenta em seu tecido grande área de degeneração de fibras musculares e moderada regeneração de tecido conjuntivo



Figura 8 (HE 40X): Lâmina do grupo G-3 apresenta em tecido grande área de regeneração e degeneração acentuada.

É possível observar nas análises histológicas dos grupos G-3 (Figura 9) e G-2 (Figura 10), a lesão vinda do epimísio apresentando regeneração ao redor das fibras musculares, porém no grupo tratado por microcorrente podemos observar ainda deposição de tecido fibrótico ao redor do endomísio. Tais achados demonstram a atuação profunda por parte da terapia por microcorrentes, o que não corrobora a inferência da atuação da microcorrentes restrita a tecidos superficiais (SORIANO, 2000).



Figura 9 (HE 100X): Lâmina do G-3 apresenta tecido com extensa lesão vindo do epimísio apresentando regeneração ao redor das fibras e fibrose ao redor do endomísio.

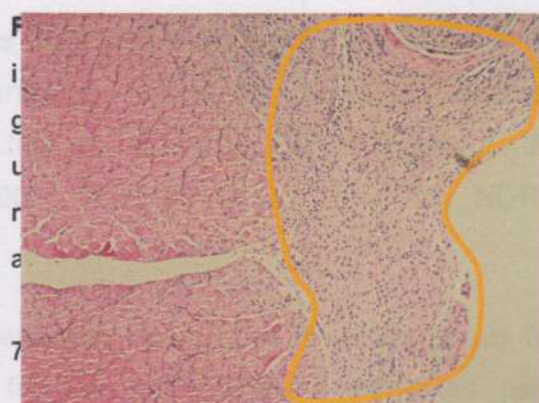


Figura 10 (HE 100X): Lâmina do G-2 apresenta em seu tecido lesão vindo do epimísio apresentando regeneração ao redor das fibras, porém não observados alterações no endomísio.

Na análise de tração, as peças anatômicas do músculo Gastrocnêmio direito dos ratos foram submetidas a um ensaio mecânico e obtidos os resultados relativos das propriedades de alongamento máximo, carga máxima e rigidez (Tabela 5).

Tabela 5 – Média e desvio padrão das variáveis biomecânicas analisadas por grupo.

Grupo	Valência	Média	Desvio Padrão
G-1	Carga Máxima	28,1232	0,8009
G-2		23,0019	1,3440
G-3		30,3984	1,2321
G-1	Alongamento Máximo	44,5436	4,7965
G-2		29,7480	3,5252
G-3		46,7291	3,0807
G-1	Rigidez	0,7039	0,0987
G-2		0,8289	0,0624
G-3		0,6616	0,0272

O ensaio mecânico de tração dos músculos esqueléticos vem sendo amplamente utilizada na literatura como forma de mensuração das propriedades biomecânicas destes grupos musculares, de forma a possibilitar explorar a eficácia de diversas condutas terapêuticas tanto no âmbito da prevenção quanto no tratamento (MATHEUS *et al.*, 2008; LIMA *et al.*, 2007; PIEDADE *et al.*, 2001; MATHEUS *et al.*, 2008b; ASSIS, 2008; POLLIZELO *et al.*, 2008; NORDIN; LORENZ; CAMPELLO, 2001).

A avaliação das propriedades mecânicas dos grupos musculares que foram submetidos a protocolos de lesão, fornece informações importantes para o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos e do processo de reparação após a lesão (SENE, 2005; MATHEUS *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2009).

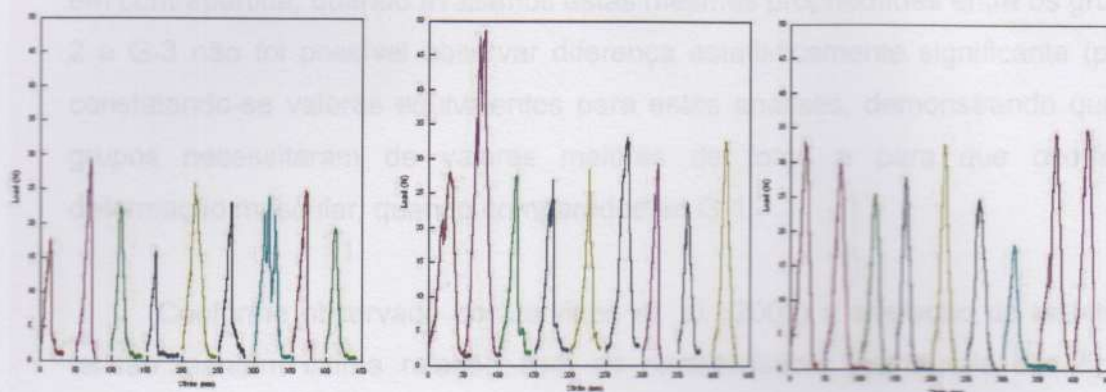


Gráfico 1: Comparação gráfica dos os valores de carga máxima (y) e alongamento máximo (x), entre os grupos G-1, G-2 e G-3 respectivamente

O gráfico 1 representa a curva de cada grupo muscular que se submeteu ao ensaio de tração onde se associa os valores de carga máxima ao de alongamento máximo em um espaço temporal, em que podemos observar uma tendência de diferenciação das curvas do G-1 com relação às de G-2 e G-3, porém estes dois mantêm uma maior correlação entre estas variáveis, sendo relevante estratificar tais variáveis biomecânicas avaliadas e deste forma observar as alterações estruturais de forma pontual, é interessante frisar que não foi observado neste estudo o local da ruptura durante o ensaio de tração.

Tabela 6: Comparação das médias da Carga Máxima (N) entre os grupos

Comparação entre grupos	Diferença	Erro padrão	p Valor
G-1 vs G-2	5,12129	1,62607	p = 0.013*
G-1 vs G-3	-2,27520	1,62607	p = 0.524
G-2 vs G-3	-7,39649*	1,62607	p = 0.00**

*p < 0,05 **p < 0,01

Na avaliação da propriedade carga máxima constatou-se que os valores do grupo G-2 apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparado com os valores dos grupos G-2 ($p < 0,05$) e G-3 ($p < 0,01$), de forma que estes apresentaram uma maior resistência à tensão e uma maior extensibilidade muscular,

em contrapartida, quando avaliamos estas mesmas propriedades entre os grupos G-2 e G-3 não foi possível observar diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$), constatando-se valores equivalentes para estas análises, demonstrando que estes grupos necessitaram de valores maiores de força a para que ocorresse a deformação muscular, quando comparados ao G-1.

Conforme observado por Jarvinen *et. al.* (2002) a alteração da resistência à tensão mantém íntima relação com as características estruturais das fibras de colágeno, como maior quantidade de ligações perpendiculares entre as fibras, fibras mais estreitas, numerosas, em que se pode aludir a microcorrente efeito na melhora da resistência biomecânica.

Tabela 7: Comparação pontual entre as médias de Alongamento Máximo ($\times 10^{-3}\text{m}$) de cada grupo

Comparação entre grupos	Diferença	Erro padrão	p Valor
G-1 vs G-2	14795,667	5472,669	0,037*
G-1 vs G-3	-2185,444	5472,669	1,000
G-2 vs G-3	-14795,667	5472,669	0,037*
* $p < 0,05$			

Tal como ocorrido nos resultados de carga máxima, na avaliação da propriedade alongamento máximo constatou-se que os valores do grupo G-2 apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado aos grupos G-1 e G-3 ($p<0,05$), e que estes não apresentavam diferença significativa ($p>0,05$).

As alterações do grupo com lesão estão diretamente relacionadas à redução na capacidade de deformação, que gera menor capacidade do músculo em se alongar no limite máximo, além de reduzir a rigidez e a resiliência, o que justificaria os achados do G-2 deste e de outros estudos que obtiveram resultados semelhantes (POLIZELLO *et. al.*, 2009).

Tabela 8: Comparação pontual entre as médias de Rigidez ($\times 10^{-3}\text{m}$) de cada grupo

Comparação entre grupos	Diferença	Erro padrão	p Valor
G-1 vs G-2	57,156667	34,797169	0,422
G-1 vs G-3	40,175556	34,797169	0,903
G-2 vs G-3	-16,981111	34,797169	0,223

Segundo Järvinen et al.(1992), a rigidez muscular é uma propriedade biomecânica a ser estudada, considerando que valores reduzidos desta variável indica que o músculo está se alongando mais facilmente na presença de uma carga menor, o que o torna mais suscetível a lesões, de forma que o seu aumento demonstra um resultado favorável ao processo de reparo, visto que uma musculatura lesionada possui menor rigidez. (COSTA *et. al.*, 2010; NONATO; MIRANDA, 2009; BARBOSA; FILHO, 2009; MATHEUS *et. al.*, 2008).

Desta forma no presente estudo pode-se observar que na comparação da rigidez entre os grupos (Tabela 8), não houve diferença estatisticamente significativa entre estes, sendo interessante observar que a média dos grupos G-3 (Tabela 5) apresentou-se menor em comparação aos demais, para esta valência analisada, em que podemos inferir a este uma maior tendência em relação aos demais grupos, de maior suscetibilidade a lesões, apesar de que nas outras análises biomecânicas pudemos observar um melhor resultado do G-3.

De acordo com Bassoli (2001), durante o processo de regeneração muscular, observa-se a multinucleação de células e regeneração de fibras musculares, intensificando ao mecanismo de plasticidade muscular, concordando com os achados histológicos dessa pesquisa que observou um elevado processo de regeneração e multinucleação celular.

Aliado a este processo de regeneração podemos observar ainda grande formação de tecido colágeno nos grupos G-2 e G-3, em que Junqueira & Carneiro (1999) afirmam que o colágeno é sintetizado por osteoblastos, condrócitos e células

musculares lisas, além dos fibroblastos existentes no tecido conjuntivo, decorrente de uma lesão.

Entretanto, na análise histológica foi possível observar uma exacerbada área de tecido colágeno denso no G-3 em comparação aos demais grupos, este fato pode ser explicado pela capacidade da microcorrentes em estimular a produção de fibroblasto (ESQUISATTO *et. al.*, 2006).

Desta forma os achados encontrados a partir da análise do ensaio de tração, poderiam ser explicados devido à maior resistência desse tecido colágeno, e ainda pela deposição de colágeno no endomísio, evidenciado na análise histológica, o que poderia gerar uma maior resistência à tração, visto que estudos observaram que a força de tensão no musculo é diretamente proporcional ao conteúdo de colágeno, de forma que fibras de colágeno mais densas são capazes de aumentar a resistência do tecido à tração (SPEED, 2001).

Pode-se observar nas análises histológicas, limitações quanto a especificidade da microscopia óptica, em que não foi possível observar a presença de fibroblastos depois da lesão e antes e depois da microcorrente, e a qualidade do tecido fibrótico, em que está difícil obter uma representação para correlação dos achados no ensaio de tração com a análise histológica, visto que a avaliação da resistência biomecânica por meio da tração por microcorrente pode induzir a um falso positivo de resposta eficaz da microcorrente sobre o reparo tecidual, visto os excelentes resultados encontrados neste grupo, e medidas em que tal medida possa estar relacionada com a quantidade e organização do tecido colágeno formado após a lesão.

Para um melhor efeito de controle do experimento, é sugerido em estudos posteriores a utilização de diferentes parâmetros de intensidade e frequência de terapia por microcorrente para que se possa observar as possíveis alterações de cada parâmetro do aparelho quanto a sua interação com o tecido biológico estudado.

5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Diante dos achados averiguados neste estudo pode-se observar que a microcorrente foi capaz de acelerar o processo de regeneração do tecido muscular, visto a maior área de tecido muscular regenerado, quando comparado ao grupo que foi induzida mesma lesão, porém não foi tratado. Em contrapartida foi possível observar área de degeneração muscular e grande deposição de tecido colágeno ao redor da lesão no grupo tratado por microcorrente, sendo possível verificar ainda, alterações morfológicas no endomísio do grupo tratado por microcorrentes, demonstrando a capacidade desta terapia em atingir tecido profundo, acelerando o processo de remodelagem tecidual, visto o grande número de tecido colágeno denso envelhecido ao redor da lesão, o que culminou em uma maior resistência deste tecido ao ensaio de tração em comparação aos demais grupos, em que tal melhora não pode ser correlacionada com alterações satisfatórias por parte da histologia, visto que podemos observar exacerbação de tecido fibrótico associado a degeneração e um caso específico até mesmo necrose do tecido muscular.

Pode-se observar nas análises histológicas, limitações quanto a especificidade da microscopia óptica, em que não foi possível observar a presença de fibroblastos depois de instalado a lesão, edema, neoangiogênese, e a qualidade do tecido fibrótico, em que este último seria imprescindível para correlação dos achados no ensaio de tração com a análise histológica, visto que a avaliação pontual das propriedades biomecânicas do músculo tratado por microcorrente poderia induzir a um falso positivo de resposta eficaz da microcorrente sobre o reparo tecidual, visto os excelentes resultados encontrados neste grupo, a medida em que tal melhora possa estar relacionada com a densidade e organização do tecido colágeno formado após a lesão.

Para um melhor efeito de controle do experimento, é sugerido em estudos posteriores a utilização de diferentes parâmetros de intensidade e frequência da terapia por microcorrente para que se possa observar as possíveis alterações de cada parâmetro do aparelho quanto a sua interação com o tecido biológico estudado.

É interessante também que seja realizada a contagem do local de ruptura dos músculos gastrocnêmio durante o ensaio mecânico de tração, visto que houve uma alternância do local de ruptura, entre o ventre muscular, a inserção proximal e inserção distal, relacionando tal fato com a quantidade de tecido conjuntivo, seu tipo e densidade.

AKESON, D.H. et al. The chemical basis of tissue repair. In: *Rehabilitation of the injured knee*. St. Louis: Mosby Company, 1984.

AKIRO S et al. Biology of multifunctional cytokines: IL-6 and related molecules (IL-1 and TNF). *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, v. 4, p. 2660-2667, 1990.

ALCAIDE, Alexandre Ribeiro; ALMEIDA, Fernando de Sousa. Terapia por microcorrentes no tratamento da ruptura muscular parcial do reto femoral. *Mundo Saúde*, São Paulo, v. 25, n. 4, p.400-403, 2001.

ALLER, J.D.; MATTACOLA, C.G.; PERPIN, D.N. Effect of electro-magnetic stimulation and passive resistive muscle stretch on muscle fiber composition. *Journal of Athletic Training*, v. 34, p. 334-337, 1999.

ALVES, Lidiane Machado; CORRÊA, Juliana Barbosa; LIEBANO, Richard Elton. Agente físico na integração de enxertos de pele. *Revista de Ciências Médicas*, Campinas, v. 18, n. 4, p. 201-208, jul/ago. 2009.

APRIGLI, Livia Ribeiro. Laser de baixa potência (830nm) na regeneração do músculo tibial anterior em ratos. 2008. Dissertação de mestrado. UFSCAR, São Carlos, 2008.

BALduino, Carlos Alberto; PEREIRA, Leonardo Madeira; GURI, Rui. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacológicas*, São Paulo, v.41, n.1, jan./mar. 2005.

REFERÊNCIAS

- AGNE, J. E., **Eletroterapia teoria e prática** Santa Maria: ed. Orium, 2009.
- AKESON, W.H. et al. The chemical basis of tissue repair. In: **Rehabilitation of the Injured Knee**. St. Louis: Mosby Company, 1984.
- AKIRO S et. al. Biology of multifunctional cytokines: IL-6 and related molecules (IL-1 and TNF). **The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal** , v. 4, p. :2860-2867, 1990.
- ALCAIDE, Alexandre Ribeiro; ALMEIDA, Fernando de Sousa. Terapia por microcorrentes no tratamento da ruptura muscular parcial do reto femoral. **Mundo Saúde**, São Paulo, v. 25, n. 4, p.400-403, 2001.
- ALLEN, J.D., MATTACOLA, C.G., PERRIN, D.H., Effect of micro-current stimulation on delayed onset muscle soreness: a double blind comparison. **Journal of Athletic Training**, v. 34, p. 334-337, 1999.
- ALVES, Luciane Machado, CORRÊA, Juliana Barbosa, LIEBANO, Richard Eloin. Agentes físicos na integração de enxertos de pele. **Revista de Ciências Médicas**, Campinas, v. 18, n. 4, p. :201-208, jul./ago., 2009.
- ASSIS, Livia Ribeiro. Laser de baixa potência (830nm) na regeneração do músculo tibial anterior em ratos. 2008. **Dissertação de mestrado**. UFSCAR, São Paulo, 2008.
- BALBINO, Carlos Aberto; PEREIRA, Leonardo Madeira; CURI, Rui. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.41, n.1, jan./mar, 2005.
- CERVO, SERVIAN, R. **Metodologia Científica**. 5. ed. São Paulo: Makron, 2002.

BARBOSA, H.H.S., FILHO, J.H.N. **Avaliação do efeito do ultra-som terapêutico na lesão muscular em ratos.** Natal/RN: UnP, 2009. Artigo não publicado.

BAYAT, M; ASGARI-MOGHADAM, Z; MAROUFI, M; REZAIE, FS; RAKHSHAN, M. Experimental wound healing using microamperage electrical stimulation in rabbits. **Journal of Rehabilitation Research & Development**, v. 43, n 2, p. 219-28, 2006.

BEST, TM; HUNTER, KD. Muscle injury and repair. **Physical Medical Rehabilitation Clinics in North America**, v. 11, p. 251-266, 2000.

BINKLEY, J. Overview of ligament and tendon structure and mechanics: Implications for clinical practice. **Physiotherapy Canada**, v.41, n.1, p.24-30, 1989.

BONACCI JA., ELIZABETH, ATC; . HIGBIE, J. Effects of Microcurrent Treatment on Perceived Pain and Muscle Strength Following Eccentric Exercise. **Journal of Athletic Training**, v. 32, n. 2, 1997.

BORGES, F.S. **Dermato-Funcional: Modalidades Terapêuticas nas disfunções estéticas.** São Paulo: Phorte, 2006.

BROCKETT, CL; MORGAN, DL; PROSKE, U. Predicting hamstring strain injury in elite athletes. **Medicine & Science In Sports & Exercise**. v. 36, p. 379-87, 2004.

BROOKS G. A., et al. **Exercise Physiology: Human Bioenergetics and its applications.** 3rd edition. Macmillan Publishing Company. New York, 2000.

CASTILLERO, C; AGUILERA, J.M. An application of image analysis to dehydration of apple discs. **Journal Food Engineering**, v. 67, p. 185-193, 2005.

CERVO, BERVIAN, P. **Metodologia Científica.** 5. ed. São Paulo: Makron, 2002.

CHARGÉ, S.B.P.; RUDNICKI, M.A. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. **Physiological Reviews**, Canada, v. 84, p. 209-238, 2004.

CHEN, T.; HSIEH, S. S. Effects of a 7-days eccentric training period on muscle damage and inflammation. **Medicine & Science In Sports & Exercise**. v. 33, n. 10, p. 1732-1738, 2001.

CHENG, K. S. et al. The effects of electrical currents on ATP regeneration, protein synthesis, and membrane transport in rat skin. **Clinical Orthopedics and Related Research**, v. 171, p. 264-271, 1982.

CLARK RAF. Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. **Journal of the American Academy of Dermatology**. v. 13, n. 5, P. 701-725, Nov., 1985.

COLLINS T. Inflamacao aguda e cronica. In: COTRAN K, ROBBINS C, ABBAS AK, KUMAR V, FAUSTO N. **Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 44-78.

COSTA, Leandro de Souza, SILVA, Rodrigo Marcel Valentim, MEYER, Patrícia Froes. **Efeitos da magnetoterapia na cicatrização do tecido muscular**. Natal/RN: UnP, 2010. Artigo não publicado

CURTIS, Denise, et. al.. The efficacy of frequency specific microcurrent therapy on delayed onset muscle soreness. **Journal of Body work & Movement Therapies**. v. 14, p. 272-279, 2010.

DRIBAN, J. Bone Stimulators and Microcurrente: clinical bioeletrics. **Ath Therapy Today**, v.9, n.5, p. 22-27, 2004.

DUTTON, M.. **Fisioterapia Ortopédica** : exame, avaliação e intervenção. Porto Alegre: Artmed, v.1, 2006, v.1

ENGLES, M. Tissue response. In: DONATELLI, R.A.; WOODEN, M.J. **Orthopaedic Physical Therapy**. 3.ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2001.

ESQUISATTO, Marcelo Augusto Marretto et. al. Efeitos de diferentes intensidades de microcorrente no reparo ósseo em ratos Wistar. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 41, n. 8, p. 331-335, Ago, 2006.

FAGUNDES JJ. **Estudo comparativo da cicatrização de anastomoses cólicas realizadas com auxílio do bisturi elétrico e bisturi laser de dióxido de carbono: trabalho experimental em cães**. 1990 (Doutorado em Ciências Médicas) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, São Paulo.

FAUCITANO L., et. al. Application of computer image analysis to measure pork marbling characteristics. **Meat Science**, v. 69, p. 537-543, 2005.

GONÇALVES WL, et al. Influence of He-Ne laser therapy on the dynamics of wound healing in mice treated with anti-inflammatory drugs. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 40, p. 877-884, 2007.

GONZALEZ, Luciano. "Microcorrentes a onda do futuro". Disponível em <adress:http://www.fisionet.com.br/artigos_id.asp?id=1566>. Acessado em: 24 mar. 2004.

GOTTRUP F. Healing of incisional wounds in stomach and duodenum. A biomechanical study. **American Journal of Surgery**. v. 140, n. 2, p. 296-301, 1980.

GUIRRO, E.; GUIRRO, R. **Fisioterapia dermatofuncional**. São Paulo: Manole, 2004.

HENDRICKS T, MASTBOOM WJB. Healing of experimental intestinal anastomosis: parameters for repairs. **Diseases of the Colon & Rectum**, v. 33, n.10, p. 891-901, 1990.

HILL, M.; GOLDSPINK, G. Expression and splicing of the insulin-like growth factor gene in rodent muscle is associated with muscle satellite (stem) cell activation following local tissue damage. **Journal of Physiology**, v. 549, n. 2, p. 409-418, 2003.

HUARD J, LI Y, FU FH. *Muscle injuries and repair: Current trends*. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v.84, p. 822-32, 2002.

JÄRVINEN, MJ; EINOLA, AS; VIRTANEN, EO. Effect of the position of immobilization upon the tensile properties of the rat gastrocnemius muscle. **Arch Phys Med Rehabil**, v. 73, n. 3, p. 253-257, 1992.

JÄRVINEN T.A.H., et al. Muscle injuries: Optimising recovery. **Best Pract. Res. Clin. Rheumatol**, v. 21, p. 317-31, 2007.

JÄRVINEN TAH, et al. Biology of muscle trauma. **American Journal of Sports Medicine**, v. 33, p 745-766, 2005.

JARVINEN, TAH; JOZSA, L; KANNUS, P; JARVINEN, TLN; JARVINEN, M. Organization and distribution of intramuscular connective tissue in normal and immobilized skeletal muscles. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 23, p. 245-54, 2002.

JARVINEN, T.A.H. et al. Muscle strain injuries. **Current Opinion in Rheumatology**, v.12, p. 155-161, 2000.

JORGE, S.A.; DANTAS, S.R.P.E. **Abordagem Multiprofissional do Tratamento de Feridas**. São Paulo: Atheneu, 2003.

JUNQUEIRA, LC; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 9º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

KLOTH LC. Electrical stimulation for wound healing: a review of evidence from in vitro studies, animal experiment, and clinical trials. **International Journal Low Extrem Wounds**, v. 4, n. 1, p. 23-44, 2005.

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. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 84, p. 651-655, 2003.

LEFFMANN DJ, et. al.. Effect of microamperage stimulation on the rate of wound healing in rats: A histological study. **Physical Therapy**, v. 74, n. 3, p. 195-200, 1994.

LEVIN, Michael. Large-scale biophysics: ion flows and regeneration. **Trends in Cell Biology**, v. 17, n. 6, p. 261, 2007.

LIMA, SC et. Al. Curto período de imobilização provoca alterações morfométricas e mecânicas no músculo de rato. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 11, p. 297-302, 2007.

LORENZ, T.; CAMPELLO, M. Biomechanics of skeletal muscle. In: Nordin M, Frankel VH. **Basic biomechanics of the musculoskeletal system**. 3.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams, 2001.

LUNDON, K. **Orthopedic rehabilitation science: Principles for clinical management of nonmineralized connective tissue**. St. Louis: Butterworth Heinemann, 2003.

MACINTYRE ,D.L., REID,W.D. e McKenzie,D.C.Delayed muscle soreness - the inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. **Sports Medicine**, v. 20, p. 24-40, 1995.

MAGAUDDA, L et. al. Effects of Physical Exercise on Skeletal Muscle Fiber: Ultrastructural and Molecular Aspects. **Basic Applied Myology**, v. 14, n. 1, p. 17-21, 2004.

MANDELBAUM SH, DI-SANTIS EP, MANDELBAUM MHS. Cicatrization: current concepts and auxiliary resources - Part II. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 5, p. 525-42, 2003.

MANLEY, T., **Microcurrent Therapy Universal Treatment Techniques and Applications**. Manley and Associates, Corona, California, 1994.

MATHEUS, J.P. et. al. Efeitos do ultra-som terapêutico nas propriedades mecânicas do músculo esquelético após contusão. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 12, p. 241-247, 2008.

MATHEUS, João Paulo Chieregato ; et. al. Análise biomecânica dos efeitos da crioterapia no tratamento da lesão muscular aguda. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, p. 372-375, 2008.

MAYON, M.; BAYON, J.; CASANOVA, J.M. A medicina cosmética supera a barreira da pele, 2005. Disponível em: < [HTTP://www.med-estetica.com/semcc/revista_prensa/semcc/vernoticia.php?id=297](http://www.med-estetica.com/semcc/revista_prensa/semcc/vernoticia.php?id=297) >. Acessado em 10 de set. 2008.

McCaig, C. D., Rajnicek, A. M., Song, B., and Zhao, M., Controlling cell behavior electrically: Current views and future potential. **Physiological Reviews**, v. 85, n. 3, p. 943, 2005.

MCMAKIN CR, GREGORY WM, PHILLIPS TM, Cytokine changes with microcurrent treatment of fibromyalgia associated with cervical spine trauma. **Journal of Bodywork and Movement Therapies**, v. 9, p. 169-176, 2005.

NIERI TM. Estudo sobre o comportamento mecânico do colão íntegro e com anatomosa. 1992. Observação (Mestrado em Ciências Médicas) -

MCKIN, C. Microcurrent therapy: A novel treatment method for chronic low back myofascial pain. **Journal of Bodywork and Movement Therapies**, v. 8, p. 143-53, 2004.

MENDONÇA, Fernanda Aparecida Sampaio et al. Effects of the application of Aloe vera (L.) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, São Paulo, v. 24, n. 2, Abril/2009.

MENETREY J, et al. Growth factors improve muscle healing. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 82, p. 131-7, 2000.

MERCOLA, J.M., KIRSCH, D., The basis for microcurrent electrical therapy in conventional medical practice. **Journal of Advancement in Medicine**. v. 8, n. 2, 1995.

MEYER, P.F. **Investigação sobre possíveis efeitos biológicos in vitro de agentes físicos utilizados em Fisioterapia**. 2008. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2008.

MILES, M.P.; CLARKSON, P.M. Exercise-induced muscle pain, soreness, and cramps. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 34, n. 3, p. 203-216, 1994.

MISHRA, A WOODALL JR., JAMES; VIEIRA, AMY. Treatment of Tendon and Muscle Using Platelet-Rich Plasma. **Clinical Sports Medicine**, v. 28, p. 113-125, 2009.

MUELLER, M.J.; MALUF, K.S. Tissue adaptation to physical stress: A proposed "Physical Stress Theory" to guide physical therapist practice, education and research. **Physical Therapy**, v.82, n.4, p.383-403, 2002.

NIERI TM. **Estudo sobre o comportamento mecânico do cólon íntegro e com anastomose**. 1999. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) -

Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, São Paulo, 1999.

NONATO, D.T.T.; MIRANDA, R.M. **Avaliação do efeito da terapia laser de baixa intensidade na lesão muscular em ratos**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Fisioterapia) – Universidade Potiguar, Natal, 2009

NORDIN, M.; LORENZ, T.; CAMPELLO, M. Biomechanics of tendons and ligaments. In: NORDIN, M.; FRANKEL, V.H. **Basic biomechanics of the musculoskeletal system**. 3.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams, 2001.

NORKIN, C.C.; LEVANGIE, P.K. **Joint Structure & Function: A comprehensive analysis**. 2.ed. Philadelphia. 2002

NOVELLI M.D., et. al. Aplicação de processamento de imagens por computador na quantificação das variáveis histológicas da reparação tecidual de anastomoses colocólicas em cães. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 4, p. 277-282, 1997

OLIVEIRA, JLR et. al. **Efeito da radiação infravermelho longo e microcorrentes sobre o processo de reparação tecidual**. In: Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IV Encontro Latino Americano de Pós-Graduação [20??], São Paulo, Universidade do Vale do Paraíba. 20??.

PAVESI, V.C.S. **Efeito da Criolesão no Remodelamento da Matriz Extracelular em Músculo Esquelético de Rato**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências da Reabilitação) - Universidade Nove de Julho, São Paulo/SP, 2008.

PETERSON, L. Lesões do esporte: prevenção e tratamento. São Paulo: Manole, 2002.

PIEPADE, S. R. ; et. al. Ensaio uniaxial de tendões do músculo grácil e semitendinoso humanos. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 9, n. 01, p. 05-11, 2001.

SILVER, F.H.; FREEMAN, J.W.; SEHRA, G.P. Collagen self-assembly and the development of tendon mechanical properties. *Journal of Biomechanics*, v. 36, p. 1019-1026, 2003.

PUGLIESE LS, et. al. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. **Pesqui Odontol Bras**, v. 17, p 307-313, 2003.

SORIANO MCO, PÉREZ SC, BAQUÊS M. Eletroestimulação profissional

ROCHA JUNIOR AM, et. al. Effects of low-level laser therapy on the progress of wound healing in humans: the contribution of in vitro and in vivo experimental studies. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 6, p. 258-66, 2007.

SPEED CA. Therapeutic ultrasound in the soft tissue lesions. *Rheumatology*, v. 40, n. 12, p 1331-1336, 2001.

Santos et. al. Uso da eletroestimulação de alta voltagem na cicatrização de úlceras venosas. **Fisioterapia em movimento**, v. 22, n. 4, p. 615-623, out.-dez, 2009.

STARKEY, C. Avaliação de Lesões Ortopédicas e Esportivas. Barueri: Manole, 2001.

SANZ AB, et. al. The cytokine TWEAK modulates renal tubulointerstitial inflammation. **Journal American Society of Nephrology**, v. 19, p. 695-703, 2008.

LL JG. Inflammatory cell response to acute muscle injury. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 27, n. 7, p 1022-1032, 1995.

SCHARFFETTER K, et al. Localization of collagen alpha-1 (I) gene expression during wound healing by in situ hybridization. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 93, p. 405-12, 1989.

SCIME A, RUDNICKI MA: Anabolic potential and regulation of the skeletal muscle satellite cell populations. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v.9, n.3, p 214-219, 2006.

SHAL WJ, CLEVER H. Cutaneous Scars: Part I. **International Journal of Dermatology**, v. 33, p. 681-691, 1994.

Journal of sports and Medicine, v. 36, n.6, p. 436-41, 2002.

SILVA, C.R. **Efeito da corrente elétrica de baixa intensidade em feridas cutâneas de ratos**. 2006. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2006.

SILVER, F.H.; FREEMAN, J.W.; SEEHRA, G.P. Collagen self-assembly and the development of tendon mechanical properties. **Journal of Biomechanics**, v.36, p.1529-53, 2002.

SORIANO MCD, PÉREZ SC, BAQUÈS M. **Electroestética profissional aplicada**. São Paulo, Sorisa, 2000.

SPEED CA. Therapeutic ultrasound in the soft tissue lesions. **Rheumatology**, v. 40, n. 12, p.1331-1336, 2001.

STARKEY, C. **Avaliação de Lesões Ortopédicas e Esportivas**. Barueru: Manole, 2001.

TIDBALL JG. Inflammatory cell response to acute muscle injury. **Medicine & Science In Sports & Exercise**, v. 27, n. 7, p 1022-1032, 1995.

TIDBALL JG. Inflammatory processes in muscle injury and repair. **American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, p. 345- 353, 2005.

WILLIAMS PL; Gray's Anatomy. **The Anatomical Basis of Medicine and Surgery**.38. ed. New York, 1995.

WOODS, C. et al. The Football Association Medical Research Programme: an audit of injuries in professional football-analysis of preseason injuries. **British journal of sports and Medicine**, v. 36, n.6, p. 436-41, 2002.

WU FC. **Estudo dos efeitos de diferentes concentrações de oxigênio e da hiperoxigenação hiperbárica sobre anastomoses cólicas comprometidas ou não pela isquemia: trabalho experimental em ratos**. 2003 (Doutorado em Ciências Médicas) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, São Paulo.

YI-LO LIN, DVM, et. al. Effect of microcurrent electrical tissue stimulation on equine tenocytes in culture. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 2, 2006.

YOON YS, CHAI M, SHIN DW. Football injuries at Asian tournament. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 32, p. 36S-42S, 2006.

ZITELLI J. Wound healing for the clinician. **Advances in dermatology**, v. 2, p. 243-267, 1989.

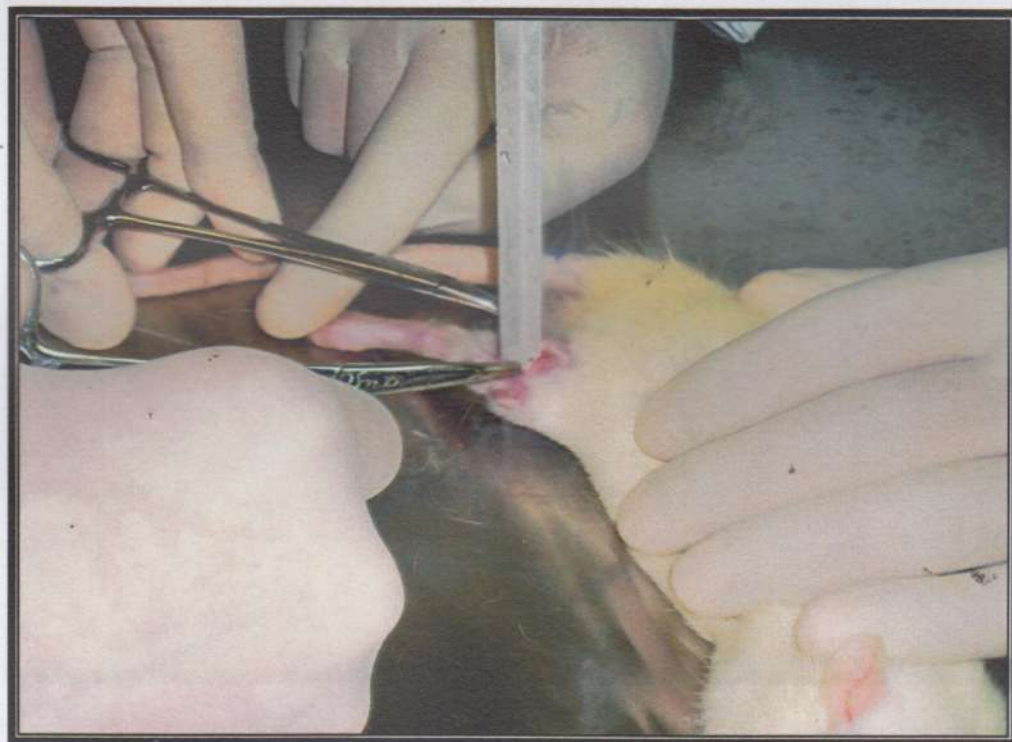
APÊNDICES

APENDICE A: Figura de adesão com a barra de ferro previamente imersa em Nítrogênio líquido e pressionada de forma perpendicular contra o ventre muscular do gastrocnêmio.

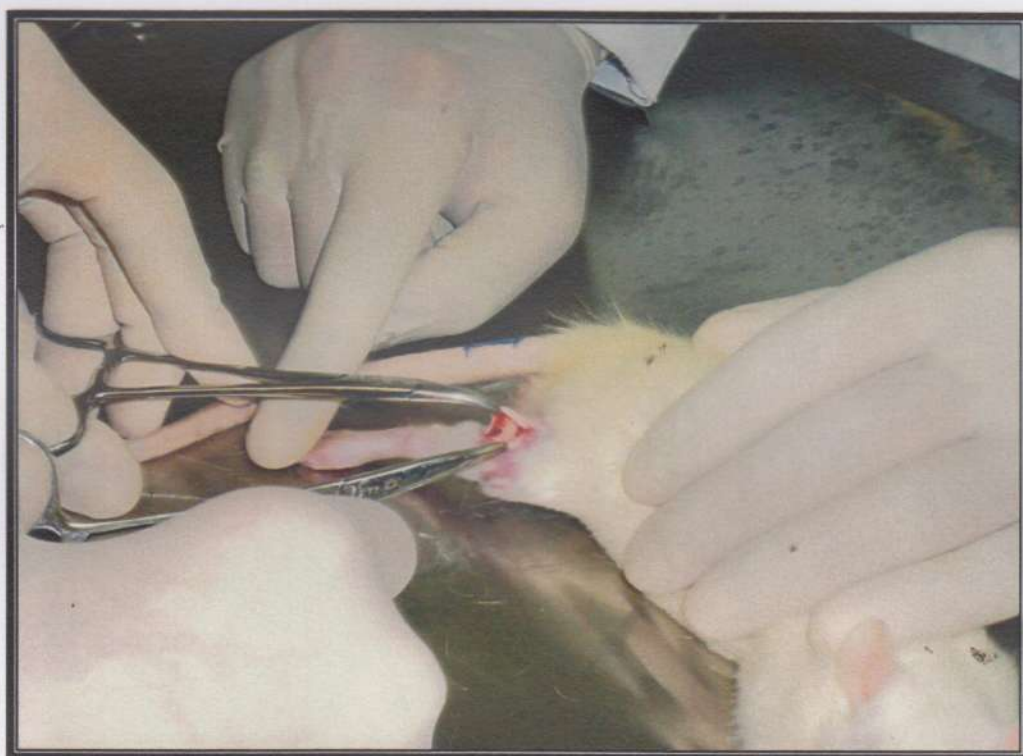
APÊNDICES



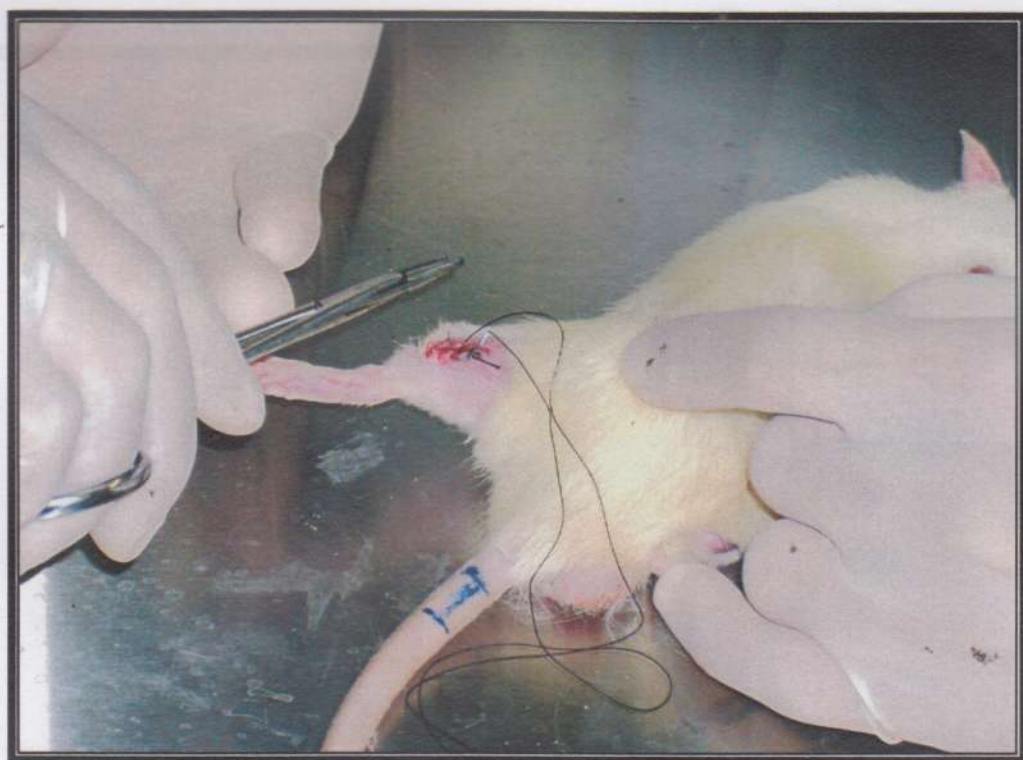
APENDICE A: Figura da criolesão com a barra de ferro previamente lmersa em Nitrogênio liquido e pressionada de forma perpendicular contra o ventre muscular do gastrocnêmio.



APENDICES B: Figura do músculo pós criolesão.



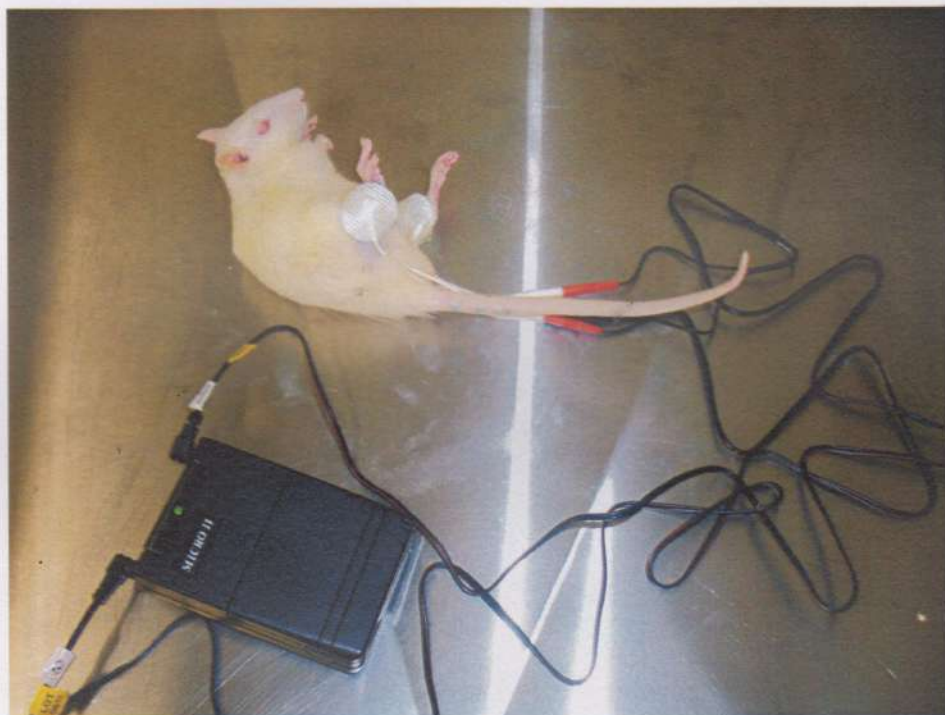
APENDICE C: Figura do músculo sendo suturado pós criolesão. *lo para aplicação nos animais.*



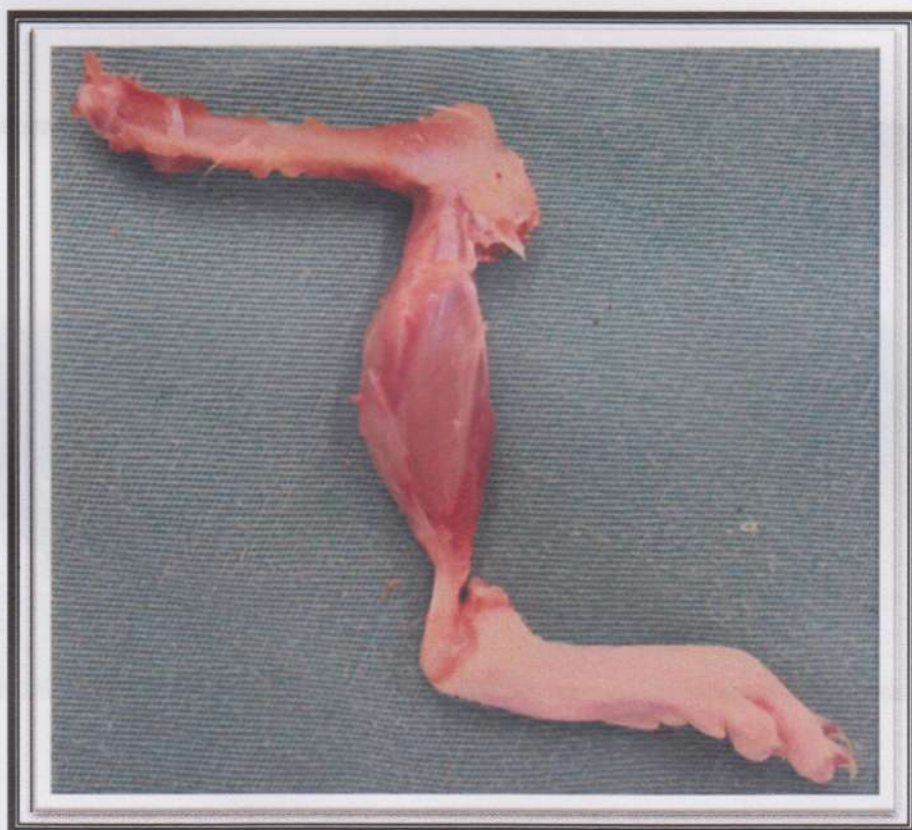
APENDICE D: Figura do aparelho de microcorrentes (MICRO-II), utilizado para aplicação nos animais.



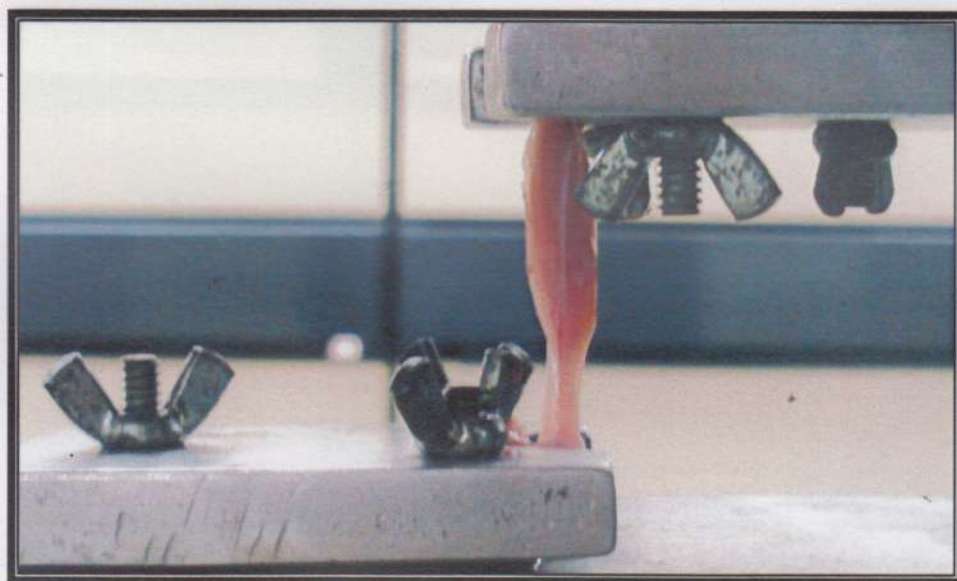
APENDICE E: Aplicação da microcorrente nas pernas direita e esquerda do rato, de forma simultânea.



APENDICE F: Figura da pata dissecada mantendo preservado origem e inserção do músculo gastrocnêmio para realização do ensaio mecânico de tração.



APENDICE G: Figura Musculatura integra sobre os efeitos da tração.



APENDICE H: Figura da musculatura sendo rompida durante o ensaio mecânico de tração.

