

---

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

---

**ARIEL VARUSSA**

**ESTUDO MORFOLÓGICO DA  
REGENERAÇÃO MUSCULAR COM O  
TRATAMENTO DE TERMOTERAPIAS**



Rio Claro - SP  
2022

ARIEL VARUSSA

## **ESTUDO MORFOLÓGICO DA REGENERAÇÃO MUSCULAR COM O TRATAMENTO DE TERMOTERAPIAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Bacharela em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Anaruma

Rio Claro – SP  
2022

V327e      Varussa, Ariel  
Estudo morfológico da regeneração muscular com  
o tratamento de termoterapias / Ariel Varussa. -- Rio  
Claro, 2022  
49 f. : tabs., fotos  
  
Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado -  
Ciências Biológicas) - Universidade Estadual  
Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro  
Orientador: Carlos Alberto Anaruma  
  
1. termoterapia. 2. crioterapia. 3. lesão muscular.  
4 . inflamação.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.  
Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ARIEL VARUSSA

## **ESTUDO MORFOLÓGICO DA REGENERAÇÃO MUSCULAR COM O TRATAMENTO DE TERMOTERAPIAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Bacharela em Ciências Biológicas.

### **BANCA EXAMINADORA:**

Prof. Dr. Carlos Alberto Anaruma (orientador)

Prof. Dr. Chadi Pellegrini Anaruma

Prof. Dra. Silma Rodrigues Golçalves

Prof. Dr. Luís Adriano Anholeto

Aprovado em: 10 de Janeiro de 2022

*Ariel Varussa*

Assinatura do discente



Assinatura do orientador

Dedico este trabalho aos meus pais Maria e Sergio, por todo seu amor e apoio incondicional.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, sou grata a Deus por estar finalizando minha graduação, mesmo com todas as dificuldades, eu realizei a faculdade dos meus sonhos.

Agradeço ao Prof. Anaruma por abrir meus **olhos** para a anatomia, com seu método peculiar de dar aula, nunca mais esquecerei o **óstio faríngeo da tuba auditiva**. Obrigada por me orientar e compartilhar tanto conhecimento!!

Agradeço também aos técnicos do laboratório de anatomia China (Eduardo) e Beto, durante as atividades práticas do TCC. Agradeço ao Hokusay (Matheus) por me ajudar com os ratinhos desde o início. Obrigada por ter sido meu **estomago** no final, para que tudo terminasse bem.

Quero agradecer aos meus pais Maria e Sergio, por me incentivarem e apoiarem na minha escolha de profissão, por todo o carinho e suporte nos momentos mais difíceis, por acreditar em mim e no meu potencial mesmo que eu não conseguisse reconhecer. Obrigada por me deixar compartilhar tudo que aprendi, ao mesmo tempo que a curiosidade permitiu novas descobertas, sendo registrados cuidadosamente no **lobo frontal**, como se fossemos crianças descobrindo algo pela primeira vez. Um agradecimento em especial ao Stenio por todo investimento e apoio desde o início, e Paulo por todos os conselhos. Vocês são a prova que paternidade não é só **“laço sanguíneo”**.

Agradeço ao meu irmão Lorenzo, pelas poucas conversas sobre a faculdade, e muitas filosofias nada a ver (risos), nossa conexão aumentou muito quando a distância nos separou. Dizer que se orgulhava de mim tocou no meu **“tendão de Aquiles”**, te amo maninho.

Agradeço ao meu irmão caçula Isac, com sua enorme pureza e amor, por me condecorar com o mais alto título: **“Biogra”** (bióloga).

Gostaria de agradecer aos meus queridos amigos: Ryu (Alexandre), Maenaka (Beatriz) e Trentin (Gabriel) por todo o companheirismo, os momentos compartilhados, por me encorajarem e me apoiarem nos estudos, na anatomia e na vida. Vocês são as minhas **falanges** favoritas!!

## RESUMO

A termoterapia (ou terapia de contraste) é comumente utilizada para tratamento e reabilitação de lesões musculoesqueléticas, diminuição de dores e inchaços. Sendo utilizada pela população em geral, quanto por profissionais da área da saúde. Estudos afirmam que a terapia de contraste pode ser um tratamento significativamente eficiente no tratamento de lesões musculares graves (grau 3 ou severas). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação da termoterapia no tratamento de lesões musculares agudas graves, com rompimento de fibras musculares, e compreender sua influência no processo de inflamação e regeneração. Para esta pesquisa, foram utilizados 30 ratos *Wistar*, machos, pesando entre 350-400g. Foram separados 6 grupos, 3 de controle de 10, 20 e 30 dias, e 3 grupos tratados de 10, 20, e 30 dias. O início da aplicação das compressas foi 24 horas após a lesão cirúrgica, com duas aplicações ao dia. O tempo de aplicação das compressas frias foi de 2 minutos, e as de calor, 1 minuto de duração. As coletas aconteceram nos dias estipulados a cada grupo. Os resultados não mostraram alterações significativas. Contudo, na contagem de leucócitos e fibroblastos do grupo tratado de 20 dias, mostrou uma queda de leucócitos menor que o controle, o que sugere que durante no processo da inflamação, a limpeza tecidual e reparação não exigiram tanto dos leucócitos. Na contagem de fibroblastos, o grupo de 20 dias tratado demonstrou uma alta quantidade, o que sugere maior atração para formação da rede de fibrinas no início da regeneração.

**Palavras-chave:** termoterapia, crioterapia, lesão muscular, inflamação.

## **ABSTRACT**

Thermotherapy (or contrast therapy) is commonly used for the treatment and rehabilitation of musculoskeletal injuries, pain relief and swelling. Being used by the general population as well as by health professionals. Studies claim that contrast therapy can be a significantly effective treatment in treating severe muscle injuries (grade 3 or severe). Therefore, the objective of this study was to evaluate the action of thermotherapy in the treatment of severe acute muscle injuries, with rupture of muscle fibers, and to understand its influence on the process of inflammation and regeneration. For this research, 30 male Wistar rats weighing between 350-400g were used. Six groups were separated, 3 control groups of 10, 20 and 30 days, and 3 treated groups of 10, 20, and 30 days. The beginning of the application of compresses was 24 hours after the surgical injury, with two applications a day. The application time of the cold compresses was 2 minutes, and the heat compresses, 1 minute of duration. The collections took place on the days stipulated for each group. The results showed no significant changes. However, in the leukocyte and fibroblast count of the 20-day treated group, it showed a lower leukocyte drop than the control, suggesting that during the inflammation process, tissue clearance and repair did not require as much of the leukocytes. In the fibroblast count, the 20-day-treated group showed a high amount, which suggests greater attraction for the formation of the fibrin network at the beginning of regeneration.

**Keywords:** thermotherapy, cryotherapy, muscle injury, inflammation.



## SUMÁRIO

|                                                 |           |
|-------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                       | <b>9</b>  |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>            | <b>11</b> |
| <b>2.1 Músculo Esquelético .....</b>            | <b>11</b> |
| <b>2.2 Regeneração do Tecido Muscular .....</b> | <b>15</b> |
| <b>2.3 Termoterapias .....</b>                  | <b>17</b> |
| 2.3.1 <i>História da Termoterapia .....</i>     | <i>17</i> |
| 2.3.2 <i>Funcionalidade .....</i>               | <i>17</i> |
| 2.3.3 <i>Características .....</i>              | <i>18</i> |
| 2.3.4 <i>Diatermia e Crioterapia .....</i>      | <i>19</i> |
| <b>3 OBJETIVO .....</b>                         | <b>22</b> |
| <b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>              | <b>23</b> |
| <b>4.1 Animais .....</b>                        | <b>23</b> |
| <b>4.2 Grupos Experimentais .....</b>           | <b>23</b> |
| <b>4.3 Lesão Muscular .....</b>                 | <b>24</b> |
| <b>4.4 Bolsas Térmicas .....</b>                | <b>24</b> |
| <b>4.5 Protocolo de Tratamento .....</b>        | <b>25</b> |
| <b>4.6 Coleta de Material .....</b>             | <b>25</b> |
| <b>4.7 Análise Quantitativa .....</b>           | <b>26</b> |
| 4.7.1 <i>Análise estatística .....</i>          | <i>26</i> |
| <b>5 RESULTADOS .....</b>                       | <b>27</b> |
| <b>5.1 Análise Quantitativa .....</b>           | <b>27</b> |
| <b>5.2 Análise Qualitativa .....</b>            | <b>30</b> |
| <b>6 CONCLUSÃO .....</b>                        | <b>40</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>                        | <b>42</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

O corpo humano apresenta em sua composição cerca de 40% de músculo esquelético e talvez 10% de músculo liso e cardíaco. O músculo esquelético consegue responder a diversos estímulos, se adaptando, bioquimicamente, fisiologicamente e morfologicamente. É dotado da capacidade de se regenerar e se remodelar após diversos tipos de agressões, a chamada plasticidade muscular. Em função da constante solicitação das atividades diárias e esportivas, o músculo esquelético é propenso a lesões, ou seja, o estímulo lesivo obriga o músculo a se adaptar às condições impostas pelo meio (ALFREDO, P. P., 2008).

As lesões musculares podem acontecer em decorrência de atividades laborais, esportivas e acidentes. Podendo atingir a população em uma ampla variedade, em ambos os sexos e em larga faixa etária.

A lesão muscular esquelética por rompimento é a mais incapacitante, devido ao forte comprometimento da estrutura e função das fibras musculares, abrangendo uma infinidade de quadros. (CARVALHO, N., R., 2012).

A resposta inflamatória é um processo importante para a regeneração tecidual, entretanto, a formação de edema pode provocar um agravamento do quadro e promover a morte celular se, a fase da inflamação não obtiver uma duração mínima considerável para priorizar o tempo de recuperação tecidual.

A termoterapia de contraste é um tratamento terapêutico que se baseia na aplicação intercalada de compressas frias e quentes, sendo utilizadas nas mais diversas formas, atuando como agentes antioxidantes, anti-inflamatórios, moduladores de estresse oxidativo da lesão tecidual, etc. (CARVALHO, N. R., 2012).

A crioterapia é um recurso relacionado a tratamentos de longa duração, utilizando a variação térmica entre 0°C a 18°C, enquanto que a termoterapia é um recurso ligado a tratamentos mais curtos, com a variação térmica um pouco mais elevada do que a temperatura corporal.

Ambas as terapias, quando associadas, são aplicadas a diversas patologias visando melhorar e acelerar a resposta tecidual, influenciando diretamente na regeneração muscular na fase inflamatória.

O estudo dos efeitos dos diferentes meios fisioterápicos à disposição para o tratamento de lesões musculares, sejam eles meios físicos, farmacológicos,

bioquímicos é importante porque ajuda na escolha do método terapêutico mais propício para cada caso. Sabemos que quanto mais tempo demora para a resolução da regeneração muscular, mais tempo de inatividade passa o músculo. Quanto maior o tempo imobilizado, maior são os efeitos indesejados resultantes da inatividade aparecem, dentre eles, a atrofia e, ou, a cicatrização da fenda da lesão antes que os cotos das fibras musculares rompidas se unam, o que atrasa ainda mais a recuperação plena do músculo.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Músculo Esquelético**

O músculo esquelético é considerado um tecido dinâmico, com alta capacidade intrínseca para se adaptar ao uso e ao desuso devido à sua funcionalidade celular e fenotípica. São denominados como esquelético por estarem associados ao sistema ósseo do organismo, compondo de 40% a 45% do peso corporal (BOFF, S., R., 2008).

Apresentam alta capacidade metabólica e grande capacidade de adaptação aos diferentes tipos de estímulos gerados pelo ambiente. Isso exemplifica seu nível de plasticidade muscular, para conseguir se recuperar de diferentes tipos de lesão, apresentando maior capacidade de readaptação por alterações simples, através de mecanismos fisiológicos para captação de oxigênio como presença de metabolismo oxidativo, presença e grande número de mitocôndrias, ativação de enzimas moduladoras energéticas, que são envolvidos diretamente com a função mecânica das fibras musculares.

A origem das células musculares vem do processo embriológico, através das células mesodermais, que são precursoras para a diferenciação, maturação e desenvolvimento celular e tecidual, controlado por um grupo de fatores de transcrição, que se ligam a regiões específicas do DNA, que vai auxiliar na expressão do fenótipo da fibra muscular e na expressão das proteínas miofibrilares, as MHC (miosinas de cabeça pesada). As células mesodermais passam por dois estágios celulares, sendo o primeiro o estágio pré-mioblasto, e o segundo o estágio mioblasto.

O estágio pré-mioblasto é definido pela formação e crescimento tecidual das células mesodermais, transformando-as em mioblastos através das transcrições específicas de regiões do DNA, seguido por uma maturação, formando os miócitos, células mononucleadas. Os miócitos gerados se agrupam, dando origem às fibras musculares multinucleadas. Logo após, quando se inicia o estágio mioblasto, caracterizado por ocorrer as modificações celulares, onde, parte das células formadas em miócitos se diferencia em células satélites, que migram do meio celular para a periferia, auxiliando no processo de crescimento e regeneração.

Morfologicamente, o tecido muscular esquelético realiza contrações voluntárias devido a sua composição estrutural, gerando uma resposta rápida e vigorosa. É composto por fibras únicas, unidas pelo endomísio, e quando elas se agrupam em feixes, formam-se os fascículos, sendo envolvidos pelo perimísio. E a união de todos os fascículos como um todo, formam a unidade muscular envolvida pelo epimísio.

O endomísio é constituído por tecido conjuntivo, e o perimísio, constituído por uma bainha de tecido conjuntivo de maior resistência. A funcionalidade muscular está associada à forma como o tecido conjuntivo mantém a organização estrutural das fibras musculares.

Histologicamente, a constituição celular apresenta uma denominação característica ao tecido, a célula é conhecida como fibra muscular, que fica envolvida por uma membrana lipídica de dupla camada denominada sarcolema, abaixo desta, existe uma membrana basal formada por proteínas e filamentos de colágeno. Entre as membranas se situam as células satélites. O centro das fibras é composto pelo sarcolema, nele se encontram diversas organelas como o retículo sarcoplasmático, importante na ordenação do fluxo de cálcio e o sarcossoma. O sarcômero é a junção das fibras musculares, de unidades iguais e repetitivas, delimitando a linha Z, onde se localizam os filamentos proteicos finos e grossos (faixas claras e escuras) como bandas I e A respectivamente, responsável pela contração, coesão e organização das fibras (GRAAFF, 2018). Além disso, o tecido muscular esquelético apresenta uma extensa rede de capilares para a irrigação sanguínea, que atravessam os septos do tecido conjuntivo.

As fibras do sarcômero contém miofibrilas, estruturas multinucleadas, resultantes da fusão dos mioblastos, denominando-se como miofibrilas, que são separadas por filamentos finos (bandas I), que utilizam actina, troponina, tropomiosina e tropomodulina como fonte, resultando no aspecto estriado transversal no sarcômero, enquanto que os filamentos grossos (bandas A) são constituídos por miosina, proteína C, proteína H, proteína M e miomesina, que vão garantir a integridade do sarcômero (BOFF, 2008). Essas fibras determinam as características fenotípicas do músculo, associado ao tipo de inervação, atuação hormonal, atividade contrátil, além das condições de alongamento. De certo modo, as fibras podem ser descritas através de sua caracterização energética, fisiológica, histoquímica e morfológica.

De acordo com Broke & Kaiser (1970) as fibras são divididas em fibras puras, híbridas e mistas, que através da literatura, exemplifica o quão complexo é o

mosaico anatômico que o tecido muscular apresenta. As fibras puras são separadas entre fibras tipo I e fibras tipo II.

As fibras tipo I (ou fibras vermelhas) apresentam contração lenta utilizando o sistema aeróbico para gerar energia com a menor propagação de cálcio. Dessa maneira, ela utiliza uma demanda muito grande de mitocôndrias, permitindo que o músculo tenha alta resistência à fadiga. Por receber maior vascularização, contém altos níveis de mioglobina e citocromo. Exerce baixa velocidade de contração, relaxamento e geração de força, e o longo tempo da contração se deve a presença da enzima succinato desidrogenase (SDH), quando o sistema utiliza via bioquímica oxidativa resultando contração lenta. Conta também com a presença da miosina de cabeça pesada (MHC tipo I), que exerce influência na velocidade de reação das pontes cruzadas.

As fibras tipo II (ou fibras brancas) usam energia anaeróbica para garantir maior velocidade de contração, relaxamento e geração de força, devido a menor resistência e vascularização, diminuindo o fluxo de mitocôndria, causando fadiga mais rapidamente. Utiliza miosina MHC tipo II, podendo apresentar variações dentro do próprio grupo como, fibras FG (fast glycolytic) que usa a via bioquímica glicolítica rápida, e fibras FOG (fast oxidative glycolytic), que usa tanto a via bioquímica glicolítica e oxidativa para rápida contração.

Quando comparadas as reservas energéticas, as fibras tipo I apresentam 16% de glicogênio a mais que as fibras tipo II, mas só as fibras tipo II tem a maior concentração de lipídios. A única igualdade entre as fibras é a concentração de ATP (BOFF, 2008).

As fibras híbridas são descritas como fibras musculares que apresentam tanto características das fibras tipo I, quanto das fibras tipo II, além das inúmeras variações dentro desses grupos.

A miosina é de grande valor no processo de contração muscular, visto que sua interação com a actina permite a formação de pontes cruzadas de forma cíclica. O processo que transforma essa energia química em trabalho mecânico e força é a hidrólise de ATP, que ocorre em 2 estágios.

O primeiro estágio é chamado de geração de força, onde tem-se a formação das pontes cruzadas pela interação da actina com a miosina, aumentando a presença de cálcio mioplasmático. O segundo estágio conhecido por não geração de força, acontece a desconexão entre a actina e a miosina (PIOVESAN, et al, 2009).

A miosina é considerada o “motor celular” do sarcômero, e constitui 25% da estrutura que converte a energia associada à formação das pontes cruzadas.

As contrações podem ser classificadas em duas maneiras: a contração isotônica, cuja a contração muscular é constante ao longo do processo de redução, além da visibilidade do encurtamento muscular. A contração isométrica é uma contração que ocorre contra a força de gravidade para contrair e encurtar o músculo, normalmente isenta de movimentação.

Para Guyton (1988) uma das características distintas no organismo dos seres humanos é a sua capacidade de realizar atividades musculares voluntárias e extremamente complexas. As atividades motoras são controladas pelo córtex cerebral, a partir de duas regiões específicas como a unidade motora-primária, responsável por controles precisos e delicados exemplificado pelo movimento das mãos, dedos e da boca (para a fala), e a unidade pré-motora que coordena a contração de grupos musculares múltiplos.

A organização nervosa para a geração de contração muscular se inicia no córtex cerebral, que é responsável pelos movimentos precisos e delicados, seguido pelos gânglios basais, que controlam os movimentos semi-voluntários complexos, passando por último pelo cerebelo que auxilia as estruturas citadas acima a realizar suas funções através dos feixes nervosos volumosos.

A contração muscular, é realizado pela junção neuromuscular, que compõem a placa motora através de fibras nervosas com conexão a membrana do sarcolema, através da ramificação terminal de um axônio do sistema nervoso central, compondo assim o conjunto de neurônios motores.

Para liberar o impulso nervoso da contração, é necessário a presença e ação da acetilcolina como agente neurotransmissor, que vai gerar uma despolarização no retículo sarcoplasmático, liberando o cálcio através do canal de túbulos. Quando a despolarização é encerrada, o cálcio retorna para as cisternas do retículo e o músculo entra em relaxamento.

Outra importante relação para a contração muscular é a presença de tendões, que estão associados às extremidades dos músculos, ligando-os aos ossos. A tensão do encurtamento do músculo tenciona o tendão, gerando a movimentação do osso associado. O tendão é mais uma estrutura, constituída por tecido conjuntivo denso que determina a direção e amplitude de movimento que o músculo pode fazer, mas nem todos os tendões são tão flexíveis (GRAAFF, 2013).

A capacidade de reconstituição e crescimento muscular, está intrinsecamente ligado às células satélites, sempre ativadas após uma lesão. Elas participam da ação de novas miofibrilas e fibras maduras através de divisão mitótica.

## **2.2 Regeneração do Tecido Muscular**

O reparo tecidual compreende uma série de sequências, eventos complexos e essenciais, objetivando a restauração do tecido lesado, visto restaurar a sua integridade o mais rápido possível, evitando possíveis perdas de comunicação intracelulares e extracelulares, suporte e até mesmo morte celular (ALFREDO, 2008). Quando a lesão ocorre, são liberados mediadores bioquímicos e quimiotáticos durante as fases de reparação tecidual, onde cada fase prepara o tecido para a remoção de componentes celulares lesados, ativar a proliferação de células satélites e formar novas fibras para fusão celular. O reparo tecidual é dividido em 4 fases que muitas vezes ocorrem sobrepostas: homeostasia, fase inflamatória, fase proliferativa e por último, fase de remodelamento.

A homeostasia é uma fase dependente da atividade plaquetária e da cascata de coagulação, ela tem início logo após a lesão, que causa perturbações celulares, ruptura de vasos sanguíneos e extravasamento de seus constituintes celulares (OLIVEIRA, DIAS, 2012). Em sequência ocorre a fase inflamatória, caracterizada por sua resposta a lesão como morte celular e comprometimento vascular. É clinicamente descrita por sintomas como formação de edema, eritema, calor e dor. A inflamação pode durar de 24 horas até 72 horas após a lesão, e sua resposta é gerada através da liberação de mediadores químicos, que inicia a limpeza tecidual, com a retirada de resíduos e tecido morto e combater a possíveis infecções, em seguida ocorre a vasoconstrição por noradrenalina, e a migração proporcional de leucócitos e macrófagos que vão realizar a tarefa fagocítica e liberar mediadores bioquímicos como histamina, prostaglandinas e bradicininas para livrar novamente o fluxo sanguíneo e a permeabilidade, formando assim o edema. A primeira fase do edema é o transudato, que é composto, basicamente, por água, eletrólitos e algumas células. A segunda fase do edema, que é a formação do exsudato, é composta por proteínas plasmáticas, leucócitos e células. (ALFREDO, 2008). Os leucócitos ao final do estágio, preparam o tecido para a fase de reparo através de



agentes quimiotáticos, responsáveis por atrair neutrófilos, eosinófilos, basófilos e monócitos.

A terceira fase chamada proliferativa, ocorre após o terceiro dia da lesão, dando início ao processo de reparação do tecido, com a produção de tecido conjuntivo granulado através da fibroplasia, onde os fibroblastos vão começar uma síntese de secreção de componentes da matriz extracelular como glicosaminoglicanos, fibras colágenas tipo I e tipo III. Subsequente, com a angiogênese, reaparecem os capilares sanguíneos, para vascularização do tecido, como também gerando contração na ferida, das extremidades para o centro, para o seu fechamento com a atuação dos miofibroblastos. Os miofibroblastos têm capacidade de contração usando um tipo de complexo actina-miosina da musculatura lisa, rico em uma forma de actina chamada de alfa-actina de músculo liso. (ALFREDO, 2008; OLIVEIRA E DIAS 2012).

Dando andamento, a fase final chamada de remodelamento, normalmente se inicia nove dias após a lesão, sem um tempo concreto para terminar, é caracterizada pelo amadurecimento do tecido cicatricial, ganho de força de tensão e diminuição do tamanho da cicatriz. Os fibroblastos são substituídos por fibras de colágeno tipo I e III, causando redução da atividade celular no local e dos vasos sanguíneos. Quando totalmente cicatrizado, o tecido adquire 70% de força a mais que o tecido não lesionado, torna-se avascular, de coloração rosada ou branca (OLIVEIRA, DIAS, 2012).

De acordo com Fernando et al (2011), as lesões podem ser classificadas através de seus diversos aspectos clínicos, em três categorias de lesões. As lesões de grau 1 ou leve, podem ser descritas por estiramentos e contusões leves, com poucas fibras musculares lesadas, com formação de um pequeno edema e desconforto, apresentando nenhuma ou mínima perda de força. Já as lesões de grau 2 ou moderadas, são descritas por estiramentos e contusões que provocam danos maiores no músculo, com evidente perda de função (perda da habilidade contrátil). E por fim, as lesões de grau 3 ou severas, descrevem estiramentos e contusões mais graves, onde a lesão vai se estender transversalmente no músculo, resultando numa ruptura profunda e perda completa da função motora.

## **2.3 Termoterapias**

### *2.3.1 História da Termoterapia*

A maneira como a utilização do frio e do calor para tratamentos surgiu na humanidade, ainda não é totalmente esclarecida. Todavia existem relatos que a crioterapia foi e vem sendo utilizada como tratamento terapêutico desde a Grécia Antiga (SANTOS, 2014), cuja a fonte desse frio era proporcionada pela neve e gelo natural das montanhas (BRANCO et al, 2005). O primeiro aparelho para a fabricação de gelo hospitalar, surgiu nos Estados Unidos, em 1850, com o principal objetivo de reduzir a temperatura corporal de enfermos acometidos por malária (BRANCO et al, 2005). Enquanto que na termoterapia, o dispositivo mais antigo para gerar calor, teve seu modelo mais recente descrito em meados da década de 40, o Forno de Bier, que tinha uma composição de lâmpadas incandescentes. A compressa quente com toalhas úmidas é a utilização mais antiga e simples a ser utilizada pela humanidade, às toalhas eram mergulhadas em água quente, com temperatura até 50° C para atingir sua capacidade ideal de tratamento, o lado negativo era que o resfriamento era muito rápido. Hoje, ela é conhecida como bolsa de termogel, onde a conservação do calor se estende por muito mais tempo (WILLIAM E SÁ, 2003).

### *2.3.2 Funcionalidade*

As modalidades de compressas termoterapêuticas operam através da condução de energia térmica (aquecimento e resfriamento) local, ocasionando uma profunda penetração da energia térmica na epidermide, atingindo nervos e a musculatura regional (PRETICE, BLAKE, 2014). A eficiência do tratamento de contusões, dores musculares por intervenções biológicas e sociais, minimiza o desconforto, e melhorou a função e readaptação dos indivíduos, para que estes retornassem às suas atividades laborais e esportivas, resultando assim, na melhora na qualidade de vida e aliviando as dores crônicas subjacentes. (YENG et al, 2005). O processo integrado no tratamento das dores deve adequar-se à complexidade do ferimento e suas repercussões (melhorar a organização e atenuação dos planos diagnósticos e eventuais tratamentos).

A busca por um tratamento ideal, através de medidas não farmacológicas, compõem no desenvolvimento psico-comportamental, proferindo para redução nos usos de fármacos analgésicos, através das intervenções com pouco custo financeiro, englobando todas as classes socioeconômicas, com resultados com mínimo ou nenhum efeito colateral após os tratamentos.

A terapia de contraste é um desses tratamentos que tem como objetivo, gerar um estímulo analgésico, sem uso de fármacos para reduzir dores, que apresenta muitas vezes resultados mais positivos do que o efeito isolado de um medicamento (YENG et al,2005). Esta técnica é amplamente utilizada por fisioterapeutas para tratar diversas patologias. (OLIVEIRA et al,2004). O importante fato destes tratamentos está ligado ao efeito analgésico que atuam na ativação do sistema supressor da dor, resultando posteriormente no relaxamento muscular, remoção de substâncias algogênicas, aumento da circulação da região afetada, aumento da extensibilidade dos tecidos conjuntivo, muscular e ósseos. (YENG et al, 2001).

### *2.3.3 Características*

A termoterapia é definida como um procedimento terapêutico com aplicação local de frio e calor, que resultam em efeitos benéficos imediatos e nos estágios subsequentes da reabilitação (SANTOS, 2014). O calor é usualmente capaz de gerar vasodilatação nos tecidos, aumenta o metabolismo regional, aumenta a extensibilidade dos tecidos, ocasionando relaxamento muscular e analgesia, tudo pelas rotas locais e atividades metabólicas imunológicas através do fluxo sanguíneo alto (YENG et al,2001).

A aplicação de calor pode atingir uma profundidade superficial ou profunda dependendo do plano diagnóstico e tratamento. Pode ser descrita também como rota de conversão (diatermia) em procedimentos fisioterapêuticos. Se a elevação da temperatura for veloz, a resposta do efeito fisiológico é mais favorável na área de tratamento, permitido pela maior permeabilidade das membranas (BRANCO et al, 2005), modulando a resposta do nervo periférico, resultando na analgesia muscular, priorizando a produção de endorfinas.

A aplicação de frio é capaz de gerar vasoconstrição nos tecidos, diminuindo o metabolismo, contraindo a musculatura, e depois de certo tempo em exposição no local da região, gerando analgesia e relaxamento muscular, através dos estímulos

cutâneos, auxilia contra a formação de edema e exsudato nos tecidos lesionados, permite a homeostase nesses tecidos, iniciando a reparação tecidual, contendo hemorragias nos tecidos (OLIVEIRA et al,2004).

Durante o tratamento dessas compressas de forma intercalada, utiliza-se primeiro o frio devido às suas capacidades de conter o desenvolvimento de edemas e hemorragias, diminuição da dor imediata e preparação do metabolismo para iniciar a reparação tecidual. Em seguida, o calor entra com a ação oposta para auxiliar na ativação das rotas imunológicas e metabólicas para a limpeza tecidual.

#### *2.3.4 Diatermia e Crioterapia*

Segundo William E. Prentice (2014), a classificação da modalidade terapêutica vai depender dos sintomas e sinais que descrevem a inflamação, além dos estágios do processo de cicatrização.

A tomada da decisão clínica no uso das modalidades frias e quentes deve considerar em que fase se encontra (fase aguda inicial, resposta inflamatória, reparo fibroblástico e remodelação - maturação), a estrutura de tempo aproximado da lesão ou recuperação, qual o quadro clínico apresentado e a análise racional para o uso das possíveis modalidades a serem usadas.

A fácil aplicação e conveniência do calor e do frio, tornam-se aptos pelas ferramentas para o cuidado primário das lesões.

A energia de transmissão da temperatura pode ocorrer por condução, convecção, radiação e conversão.

As técnicas de aquecimento são referidas como termoterapia, sendo utilizada para o aumento da temperatura como objetivo do tratamento, enquanto que a crioterapia, sendo mais efetiva em estágios agudos dos processos de cicatrização imediatamente após a lesão, quando a perda de temperatura no tecido é o objetivo do tratamento.

Os efeitos fisiológicos do calor e do frio são resultado da absorção direta de energia infravermelha, sendo a sua profundidade de penetração maior do que 1cm, sendo modalidades superficiais e que afetam diretamente os vasos sanguíneos e receptores nervosos cutâneos. Ou seja, a absorção da energia aumenta de modo cutâneo e diminui de modo subcutâneo na circulação muscular e nas camadas gordurosas.

Prentice (2014) afirma que se a aplicação térmica for mantida por um longo período de tempo, eleva a temperatura do sangue que circula, e o hipotálamo responde reflexivamente aumentando o fluxo sanguíneo para o tecido subjacente. E que uma utilização mais efetiva fornecerá analgesia ou reduzirá a sensação de dor associada à lesão, tudo pela estimulação dos receptores nervosos cutâneos, e a hiperestimulação pelo aquecimento ou resfriamento reduz a dor. As aplicações de calor e frio, quando utilizada apropriadamente, intensifica a recuperação e oferece um tratamento mais favorável e eficiente.

O efeito fisiológico da alteração da temperatura na circulação sanguínea é ativado pelos receptores cutâneos, ligados ao sistema nervoso simpático. A circulação do sangue é fundamental para a nutrição dos tecidos e condutibilidade do calor em estruturas de dentro para fora da pele. A constituição do sistema circulatório é descrita pelos vasos de artérias, capilares e veias.

A regulação do aquecimento da pele é ordenado pelo plexo venoso cutâneo (que sustenta uma grande quantidade de sangue), e a comunicação vascular entre as artérias e os plexos venosos é realizada pelas anastomoses arteriovenosas.

As paredes que envolvem os plexos são fortemente constituído por camadas musculares inervadas por fibras nervosas vasoconstritivas simpáticas, onde regulam a liberação de norepinefrina. Ao realizar uma constrição, o fluxo sanguíneo diminui extremamente rápido no plexo nervoso, mas quando realiza-se a dilatação, o fluxo sanguíneo se torna extremamente rápido em sentido ao plexo. As anastomoses arteriovenosas são encontradas em superfícies volar e palmar (de pés e mãos), lábios, nariz e orelhas.

A resposta fisiológica da aplicação do frio na pele faz os vasos progressivamente se contrair até uma temperatura de 10°C, onde atingem o máximo da constrição, com isso aumenta a sensibilidade dos vasos estimulando a ação dos nervos. Quando ocorre a dilatação dos vasos, o frio que realizava a paralisação contrátil da parede dos vasos cessa a 0°C, ocorrendo dilatação máxima para o retorno do calor e do fluxo de sangue.

O estresse gerado pela redução da temperatura ajuda na estimulação simpática, gerando uma grande quantidade de sangue armazenado nos vasos internos, servindo de reservatório para outras funções.

A variação da temperatura e a dor são transmitidas ao cérebro pelo traço espinotalâmico lateral, e as fibras nervosas respondem diversamente a diferentes

temperaturas. E exatamente pela descarga no sistema nervoso simpático, os impulsos gerados nos vasos tendem a liberar norepinefrina e epinefrina através de comandos da medula suprarrenal para induzir a vasoconstrição.

Acredita-se que o calor exerce efeito relaxante no tônus muscular esquelético. A aplicação total de calor resulta em relaxamento total dos músculos ao diminuir simultaneamente os estímulos vindos dos fusos musculares, e a frequência da cauterização do gama eferente. Isto sugere o excitamento dos fusos musculares tão facilmente (PRENTICE e BELL; 2014).

A resposta inflamatória aguda começa do primeiro dia e pode se estender até o sexto dia após a lesão. O inchaço tende a diminuir eventualmente e cessa inteiramente. A região lesionada pode apresentar alguma descoloração e estar quente e dolorosa ao toque. No estágio inicial da lesão, as buscas por modalidades terapêuticas devem atenuar e controlar o inchaço. É indicado o uso da crioterapia durante esta fase, para diminuição do inchaço e da dor através do efeito analgésico. Vale ressaltar que aquecer a lesão muito prematuramente pode ser um erro muito maior do que a aplicação de frio prolongado. Uma vez que o inchaço desapareça, pode-se trabalhar com banhos de contraste com proporção maior de frio para quente. É recomendado trabalhar associados com métodos de compressão para diminuição do inchaço e auxiliar na reabsorção de subprodutos do processo inflamatório pelo sistema linfático (PRENTICE, 2014).

### **3 OBJETIVO**

As compressas de contraste são comumente utilizadas pela população para tratamentos diversos de dores e inchaços.

Estudos afirmam que a terapia de contraste pode ser um tratamento significativamente eficiente no tratamento de lesões musculares graves (grau 3 ou severas), e pode ser aplicado logo após a lesão.

Considerando essas informações, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação da terapia de contraste no tratamento de uma lesão aguda grave, com rompimento de fibras musculares, e entender como isso influencia o processo de inflamação e possíveis efeitos na regeneração muscular.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

Este experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animal pelo Instituto de Biociências e pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Rio Claro - SP (Protocolo nº7212/19).

### **4.1 Animais**

Para o experimento foram utilizados 30 ratos da linhagem Wistar, machos, pesando em média  $350\pm 400$ g, com 90 dias de vida. Os animais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus Botucatu - SP, e mantidos no Biotério do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da Unesp, Campus Rio Claro, em gaiolas coletivas, com no máximo 5 ratos. Foram alimentados com ração balanceada para roedores (Labina) e água ad libitum, em condições ambientais controladas (12 horas de ciclo claro/escuro; ambiente esterilizado, temperatura à 23°C e ventilação controlada).

### **4.2 Grupos Experimentais**

Os ratos foram divididos em 6 grupos, com 5 ratos cada:

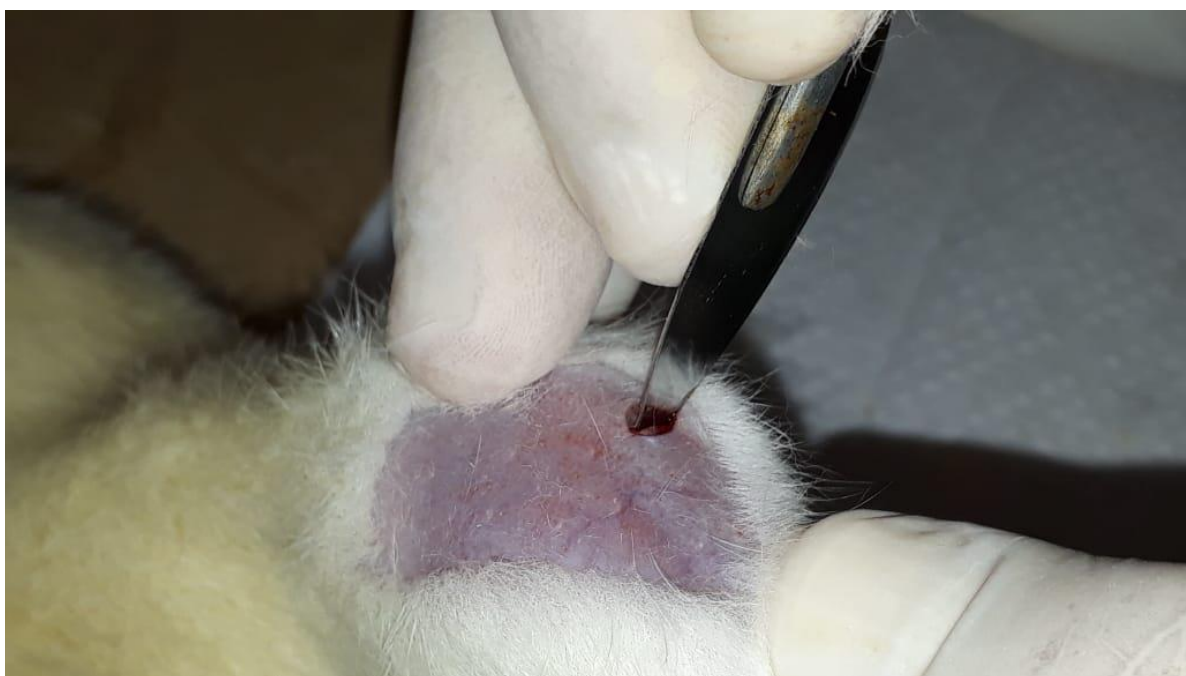
- Grupo 01 - controle 10 dias: ratos que sofreram lesão muscular, mas não foram submetidos ao tratamento;
- Grupo 02 - tratamento 10 dias: ratos que sofreram lesão muscular e foram tratados com a termoterapia;
- Grupo 03 - controle 20 dias: ratos que sofreram lesão muscular, mas não foram submetidos ao tratamento;
- Grupo 04 - tratamento 20 dias: ratos que sofreram lesão muscular e foram tratados com a termoterapia;
- Grupo 05 - controle 30 dias: ratos que sofreram lesão muscular, mas não foram submetidos ao tratamento;
- Grupo 06 - tratamento 30 dias: ratos que sofreram lesão muscular e foram tratados com a termoterapia.

As coletas dos músculos ocorreram a cada 10 dias, sendo a primeira 10 dias após a lesão muscular.



### 4.3 Lesão Muscular

Os animais foram anestesiados com soluções de Cetamina e Xilazina (5mg/kg+90mg/kg) (CUBAS, 2014), pesados, posicionados em decúbito lateral esquerdo e tricotomizados na pata posterior direita, tendo acesso ao músculo tibial anterior. Nestes, foi feito um corte de 3mm de profundidade, com o auxílio de uma lâmina de bisturi, de maneira de seccionar as fibras musculares transversalmente (figura 1). Após a lesão, os animais foram higienizados, demarcado as caudas e separados nos respectivos grupos.



**Figura 1:** Fotografia da pata posterior direita do rato, com acesso ao músculo tibial anterior - lesão cirúrgica com 3mm de profundidade para produzir secção transversal das suas fibras.

### 4.4 Bolsas Térmicas

Para o experimento, foram utilizadas bolsas térmicas de 4cm x 4 cm. Para as compressas frias, as bolsas térmicas foram preenchidas com álcool em gel 70°, para que mantivessem a maleabilidade a baixas temperaturas, o que permitiria melhor adaptação ao corpo do animal. As bolsas frias eram armazenadas no freezer a -5°C, sendo retiradas e mantidas em caixa térmica no momento de sua aplicação. Com relação às compressas quentes, as bolsas térmicas foram preenchidas apenas com água, com o mesmo princípio de manter a maleabilidade. As bolsas quentes foram

aquecidas em banho-maria até atingir a temperatura de 40°C, para manter a proximidade corporal do animal, sendo armazenadas em caixa térmica até o momento da aplicação.

#### **4.5 Protocolo de Tratamento**

Os animais dos grupos submetidos à terapia de contraste (frio e quente), com aplicação de bolsas térmicas por indução, foram tratados 24 horas após a lesão. Os parâmetros estipulados para o tratamento foram: as compressas seriam realizadas às 6 e 18 horas. A primeira aplicação foi da bolsa fria, durante 2 minutos sobre a lesão muscular, e a segunda aplicação, com a bolsa quente também sobre a lesão, teve a duração de 1 minuto. O tempo estimado entre as compressas seriam de 10 minutos. Para a aplicação do tratamento, foi utilizado o modo de contenção física com toalhas sobre os animais, para evitar estresse durante o processo (CUBAS, 2014).

#### **4.6 Coleta de Material**

Para a coleta do músculo tibial anterior, os animais foram submetidos a eutanásia com dose letal de 200 mg/ml de Cetamina+Xilazina, com os seguintes critérios: grupos 1 e 2 foram coletados 10 dias após a lesão; grupos 3 e 4 coletados 20 dias após a lesão, e por fim, grupos 5 e 6 foram coletados 30 dias após a lesão.

O músculo tibial anterior dos diferentes grupos experimentais foi removido, colhido e colocado em um suporte de cortiça com ajuda de um meio de inclusão para congelamento (Tissue Tek). Em seguida, este sistema foi envolvido em talco para a criofixação em nitrogênio líquido.

Para a análise morfológica das fibras musculares, foram realizados cortes seriados com a espessura de 10µm, obtidos em um criostato, à -25°C. Foram colhidas as amostras da região inicial da lesão, e depois coradas com HE (hematoxilina - eosina). A documentação fotográfica das lâminas foi feita em fotomicroscópio Zeiss, onde se procurou registrar as alterações morfofuncionais do tecido lesado.

## 4.7 Análise Quantitativa

A contagem de células foi realizada em uma área de 0,045 mm<sup>2</sup>, utilizando o software paint de auxílio para marcação dos leucócitos polimorfonucleares e mononucleares, e dos fibroblastos. As amostras foram escolhidas aleatoriamente, e separadas em 4 campos amostrais.

### 4.7.1 Análise estatística

A distribuição Gaussiana dos dados foi calculada através do teste de normalidade Shapiro-Wilk. A análise de variância ANOVA two-way foi aplicada na comparação entre os grupos, e na correlação de tempo intergrupos, neste último, aplicando teste-t não pareado para os valores de área sob a curva (AUC).

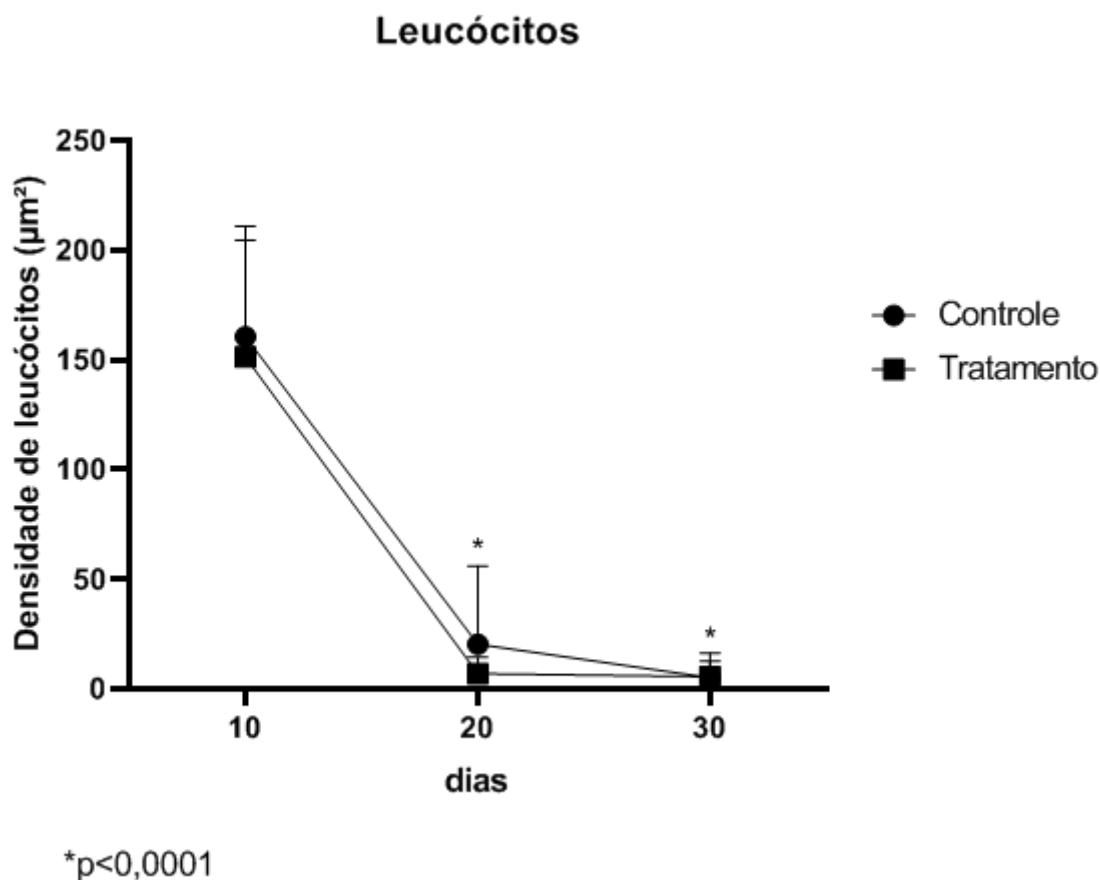
A análise estatística e a construção dos gráficos foram feitas utilizando o software GraphPad Prism®, versão 8.0.1.

## 5 RESULTADOS

Segue abaixo, os resultados obtidos durante as análises quantitativas e qualitativas de lâminas com particularidades.

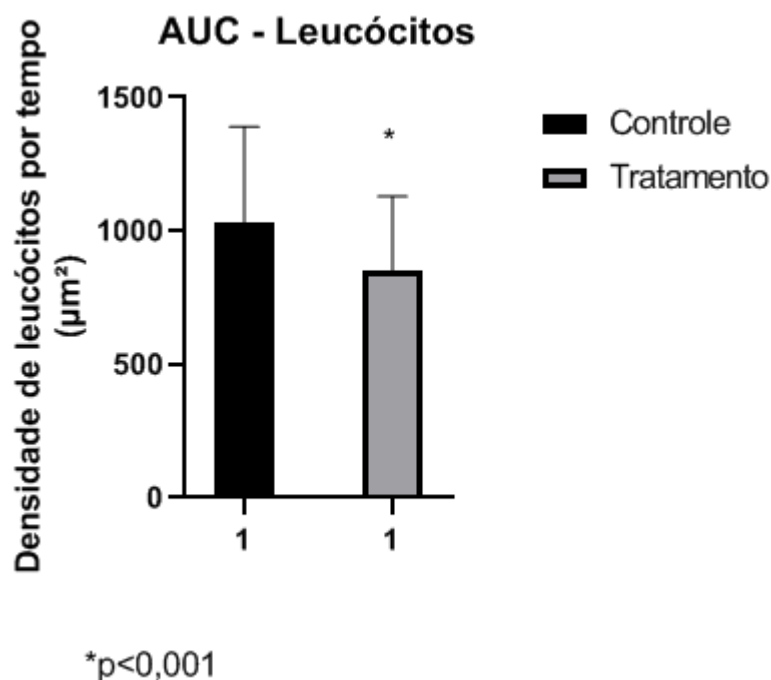
### 5.1 Análise Quantitativa

Os resultados analisados foram obtidos através dos estudos entre a ação do tempo entre os grupos e intragrupos, utilizando o teste de variância, ANOVA two way. Com relação aos leucócitos, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. Contudo, é possível notar uma significância nos grupos T e C a partir de 20 dias em diante ( $p < 0,0001$ ). O Gráfico 1 mostra os resultados da quantidade de leucócitos (média por  $\mu\text{m}^2$ ) nos seis grupos de estudo clínico. O Gráfico 2 O exemplifica e confirma essa diferença através do pós-teste AUC (área sob a curva).



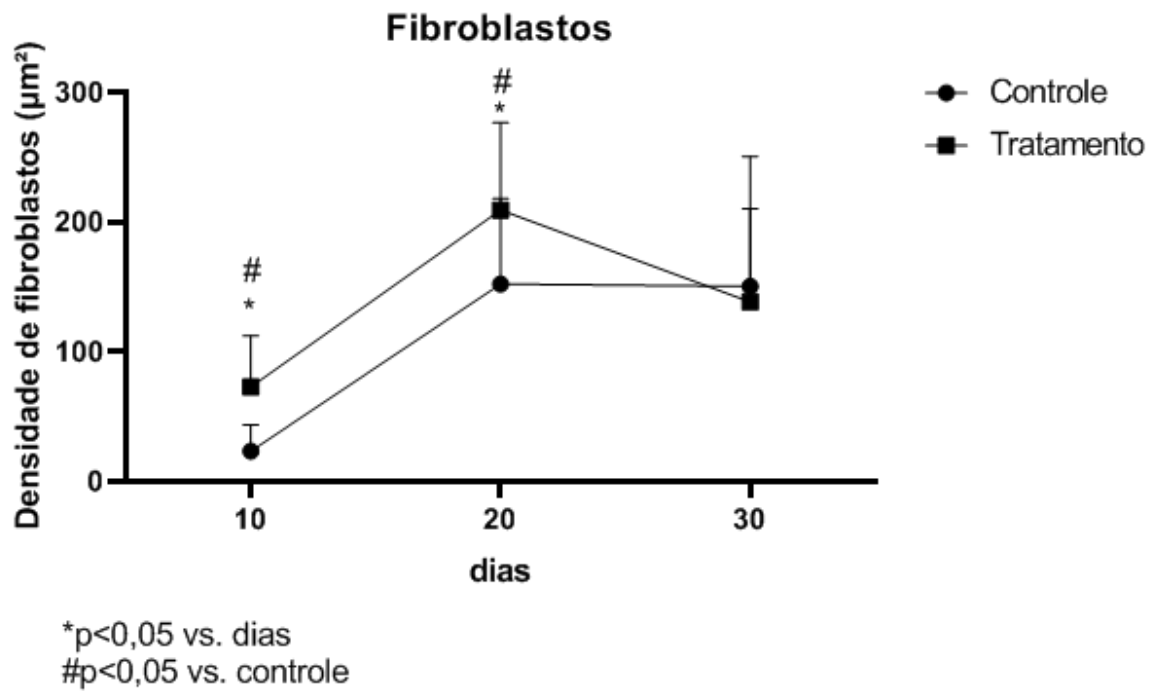
**Figura 2:** Gráfico da densidade (média  $\pm$  desvio padrão) dos leucócitos no músculo tibial anterior, nos grupos controle e tratamento de 10, 20 e 30 dias. Grupo tratado não apresenta diferença significativa

entre si, porém existe uma diferença significativa ( $p < 0,0001$ ) nos grupos de 20 e 30 dias, comparados ao grupo controle (\*).

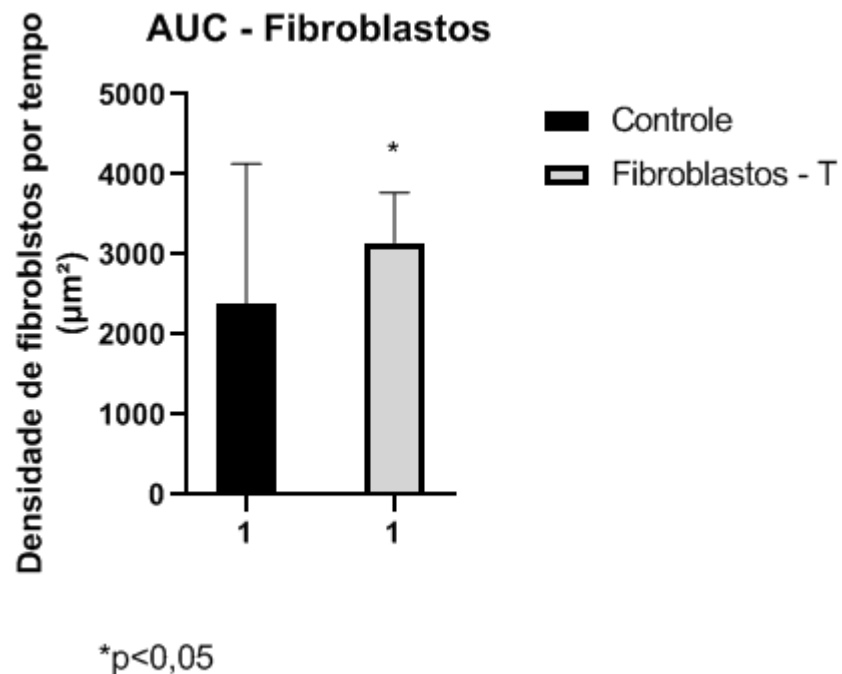


**Figura 3:** Gráfico da densidade (média  $\pm$  desvio padrão) da área sob a curva (AUC) de leucócitos no músculo tibial anterior, demonstrando o grau de significância ( $p < 0,0001$ ) do grupo tratado.

Quanto à densidade de fibroblastos, não foram encontradas diferenças entre os grupos, mas sim dentro do grupo tratado ( $p < 0,0001$ ). O Gráfico 3 reflete os resultados da densidade (média  $\pm$  desvio padrão) nos seis grupos, sendo a diferença significativa nitidamente no grupo tratado de 20 dias, comparados aos demais grupos de tratamento e controle ( $p < 0,05$ ), constatado no Gráfico 4 pela medida da área sob a curva (AUC).



**Figura 4:** Gráfico da densidade (média  $\pm$  desvio padrão) de fibroblastos no músculo tibial anterior. O grupo tratado de 20 dias apresentou uma diferença significativa, comparada aos demais grupos ( $p < 0,05$ ) (\*), além de, ter uma diferença significativa comparado ao grupo controle vs. tempo (#).



**Figura 5:** Gráfico da densidade (média  $\pm$  desvio padrão) da área sob a curva (AUC) do fibroblasto no músculo tibial anterior, demonstrando o grau de significância ( $p < 0,05$ ) do grupo tratado com relação aos demais grupos.

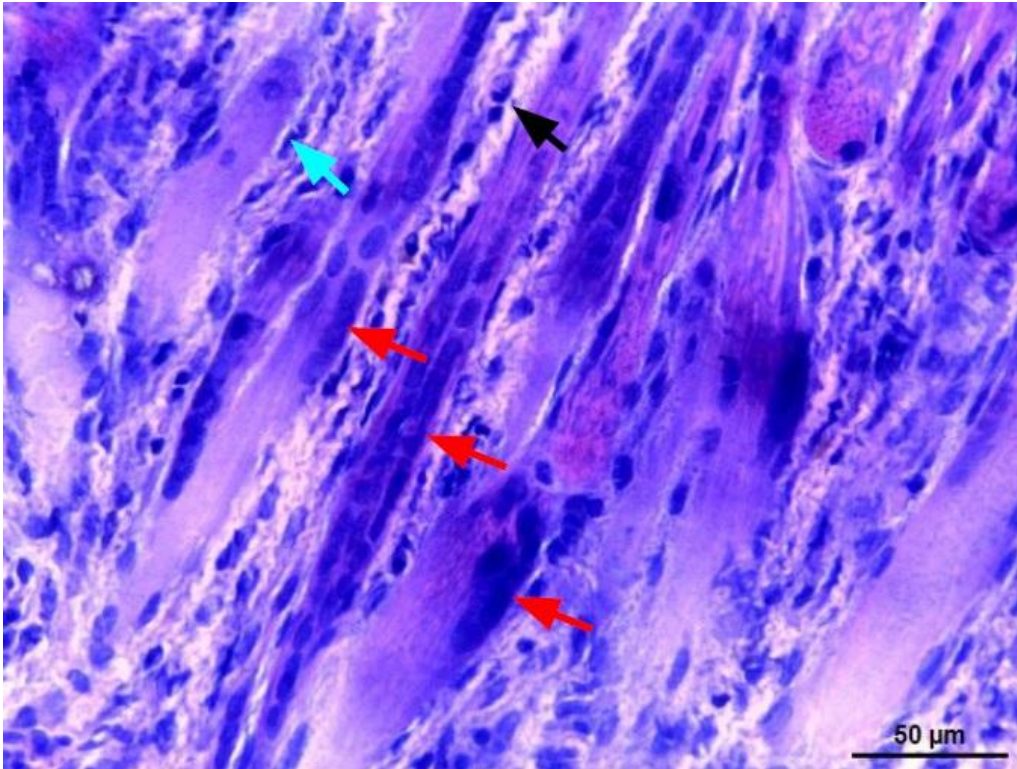
## 5.2 Análise Qualitativa

As lâminas histológicas, do interior da fenda incisional produzida pela lesão cirúrgica, que continham algumas particularidades e características do processo da inflamação e regeneração foram selecionadas para a descrição e entendimento.

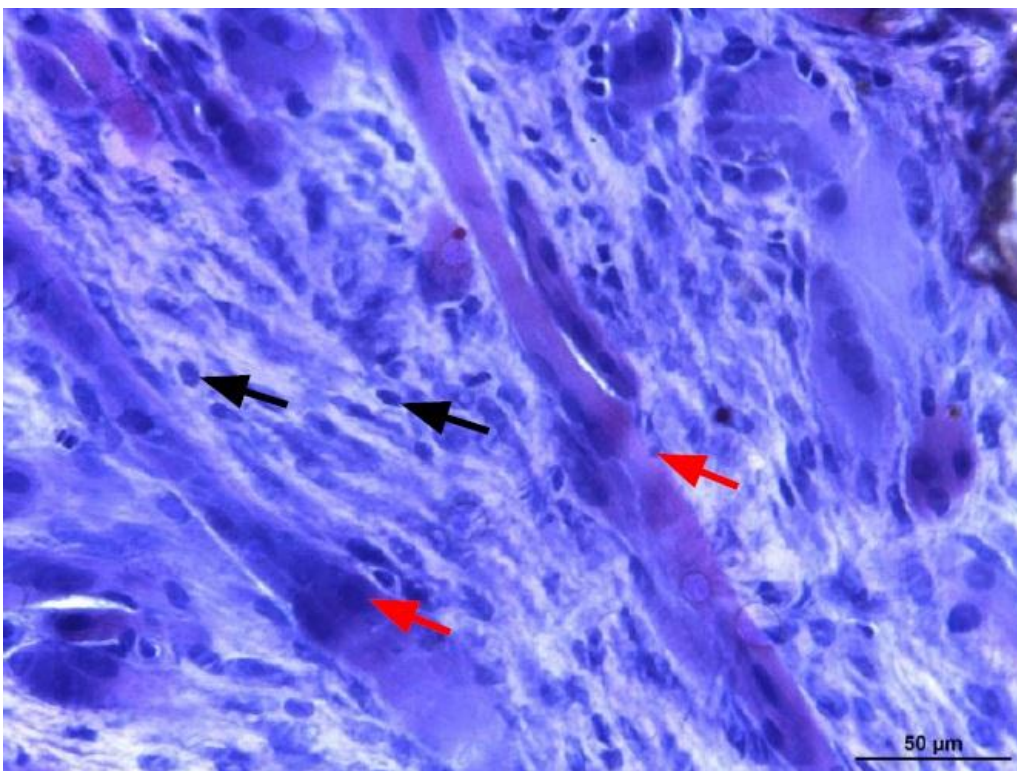
Grupo 10 dias:

No grupo controle é possível observar a morfologia das fibras musculares comprometidas, com a centralização do núcleo. Os leucócitos presentes se dividem em grupos de células fagocíticas e células inflamatórias, atingindo todo o espaço intersticial das fibras com intensa atividade (Figura 6). Nota-se nesta fase uma pequena quantidade de fibroblastos, associados a rede de fibrinas e alguns mioblastos.

No grupo tratado, o esboço do tecido conjuntivo recentemente formado, está preenchido pelo infiltrado inflamatório, os leucócitos estão aderidos na rede de fibrinas ainda presente (Figura 7). Entre as fibras musculares que iniciaram a regeneração, existem pequenos vasos sanguíneos e algumas vezes, alguns seios venosos (Figura 8), sugerindo a aceleração da neovascularização e das fases do processo inflamatório (Figura 9). No centro da lesão, é observado a proliferação e diferenciação das células satélites em mioblasto (Figura 10) associado a um aumento na espessura da rede de fibrina.

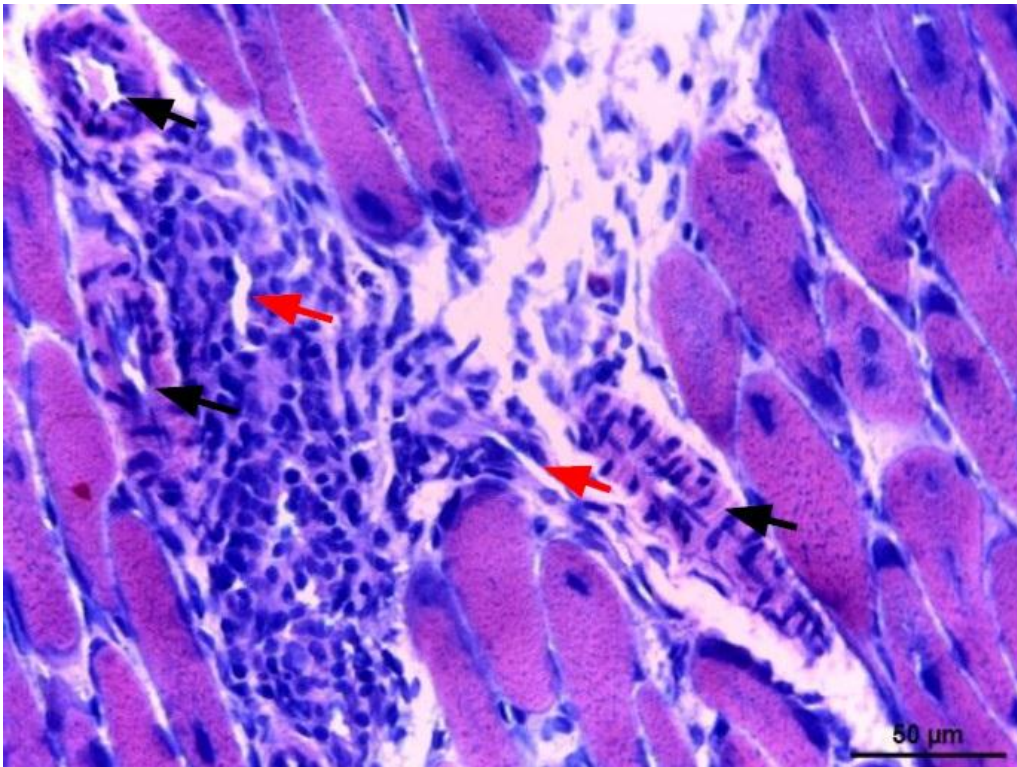


**Figura 6:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo controle de 10 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte longitudinal: fibra muscular com morfologia comprometida pela lesão apresenta inúmeros leucócitos (seta preta), poucos fibroblastos (seta azul) e alguns mioblastos (seta vermelha) em atividade.

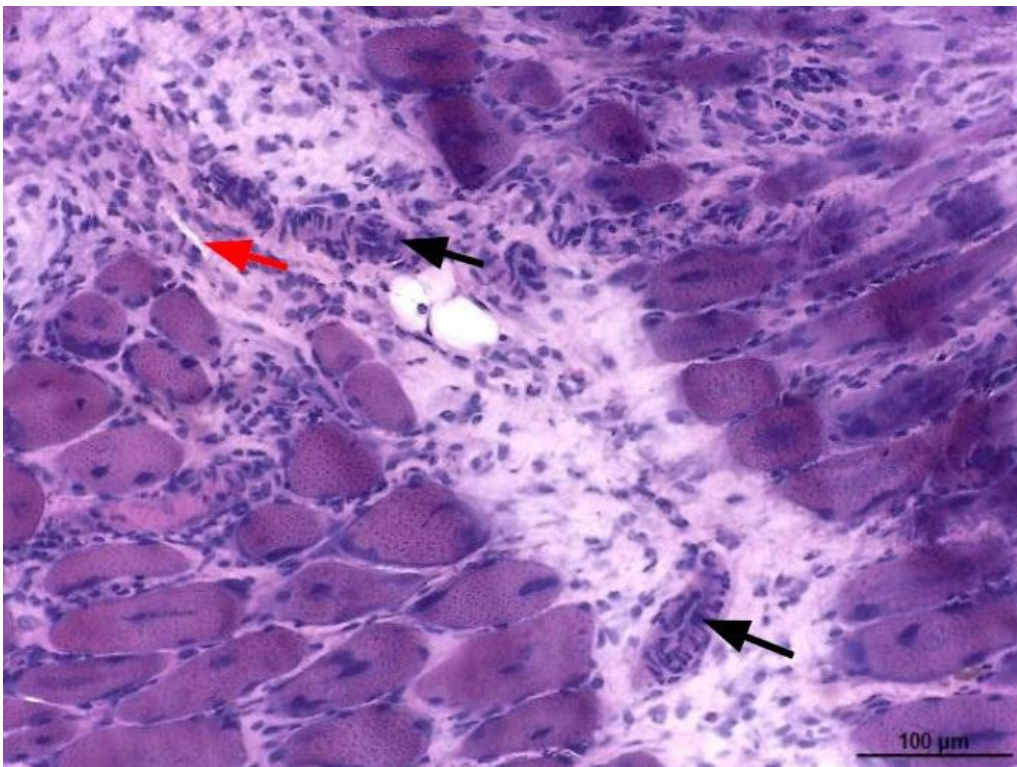


**Figura 7:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo tratado de 10 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte longitudinal: intenso infiltrado de células inflamatórias no interstício das fibras musculares (seta preta), e mioblastos em atividade (seta vermelha).

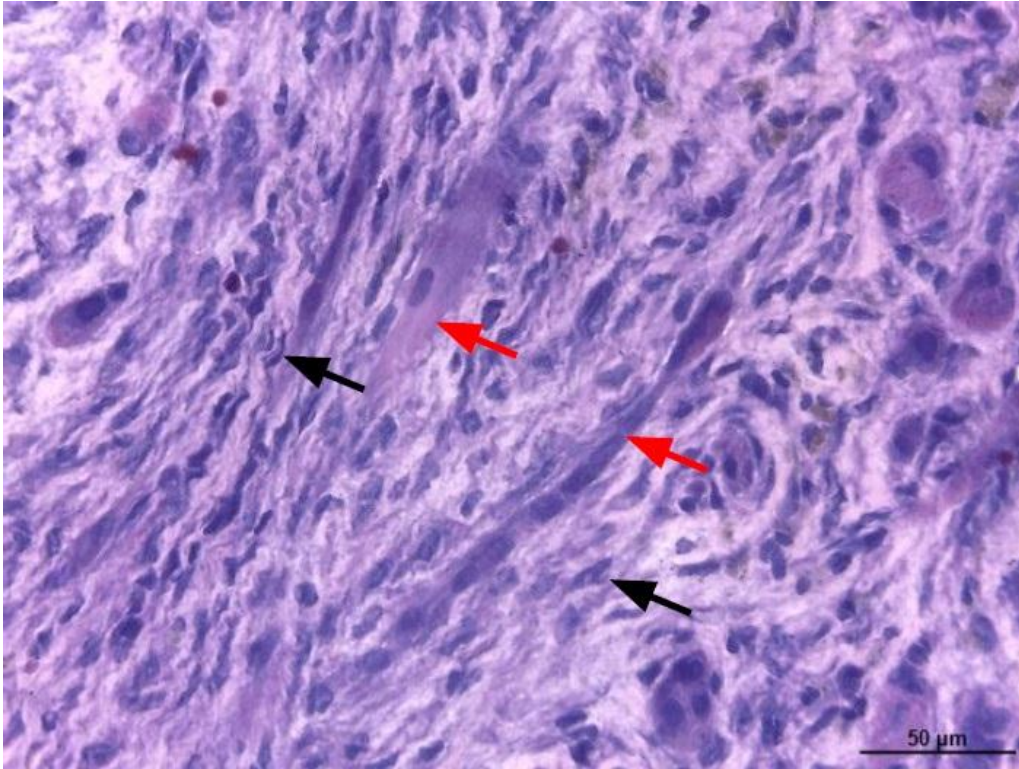




**Figura 8:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo tratado 10 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte transversal: fibras musculares com atividade intensa de regeneração apresentam pequenos capilares sanguíneos ao seu entorno. Arteríolas (seta preta) e vênulas (seta vermelha).



**Figura 9:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo tratado 10 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte transversal: presença de capilares sanguíneos, arteríolas (seta preta), vênula (seta vermelha).



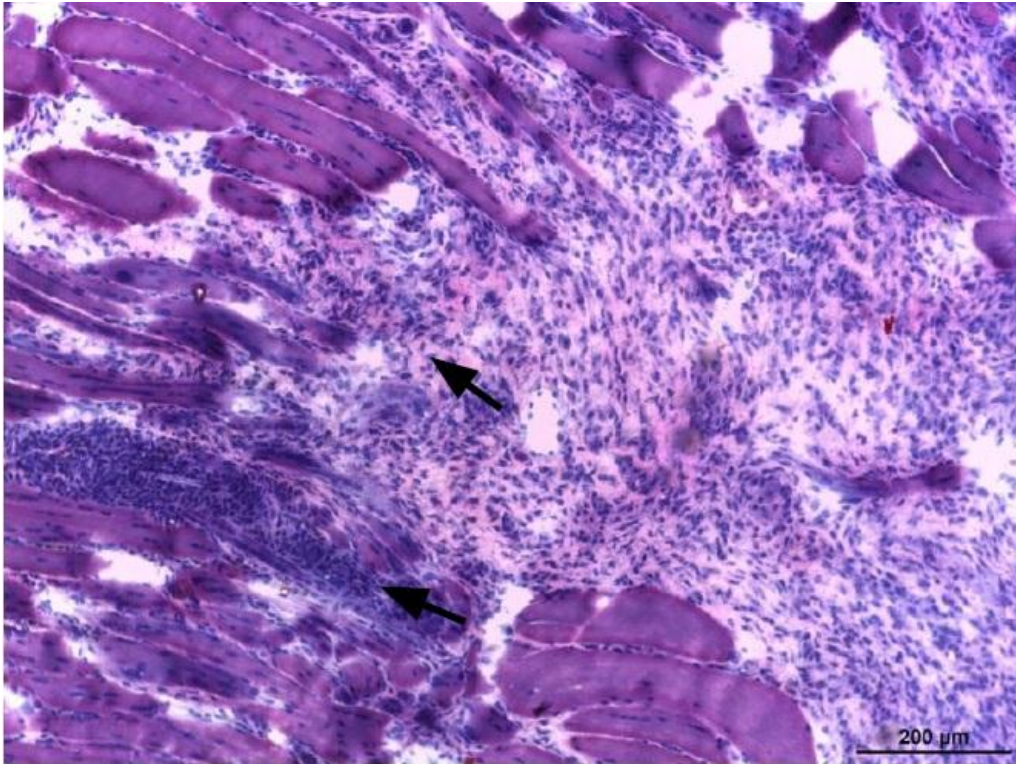
**Figura 10:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo tratado 10 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte longitudinal: presença de fibroblastos (seta preta) e células sugestivas á mioblastos (seta vermelha).

#### Grupo 20 dias:

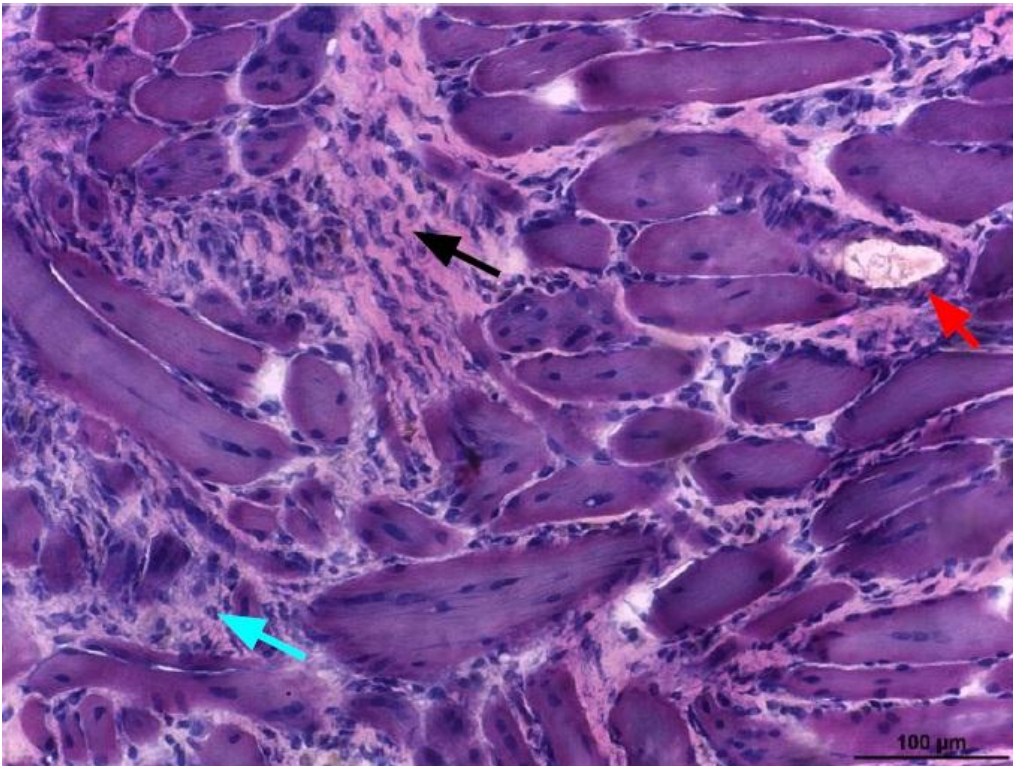
O grupo controle apresenta indícios de organização do tecido conjuntivo, a rede de fibrinas ainda apresenta leucócitos com as atividades fagocíticas esgotadas, sugerindo o final do processo degenerativo (Figura 11), e entre os fragmentos das fibras musculares, é possível verificar o surgimento dos primeiros seios venosos (Figura 12).

O surgimento precoce dos vasos sanguíneos (Figura 13) otimizou o tempo de regeneração das fibras, o tecido conjuntivo mostra-se mais organizado e consistente (Figura 14), os fibroblastos auxiliam no processo de remodelação. Neste ponto, é observado que os núcleos das fibras musculares se posicionam na periferia celular, e a ação dos mioblastos entre os espaços de ruptura entre as fibras (Figura 15), indicando o processo de reorganização da função muscular.



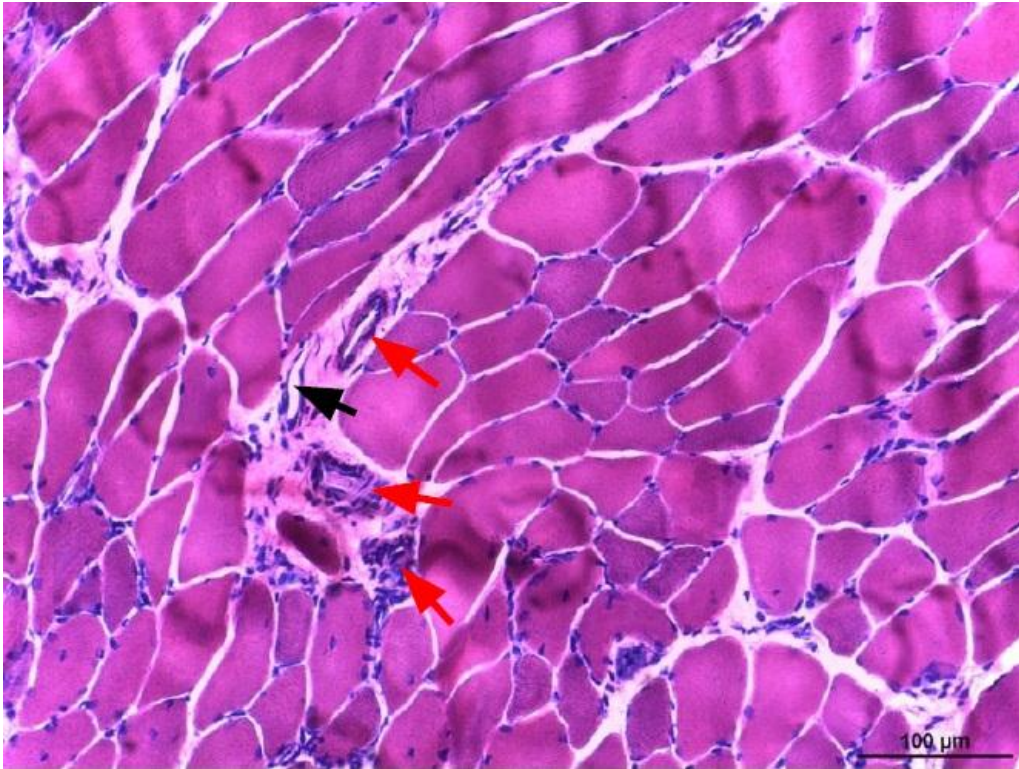


**Figura 11:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo controle 20 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte longitudinal: aspecto geral da lesão com intenso infiltrado inflamatório (setas).

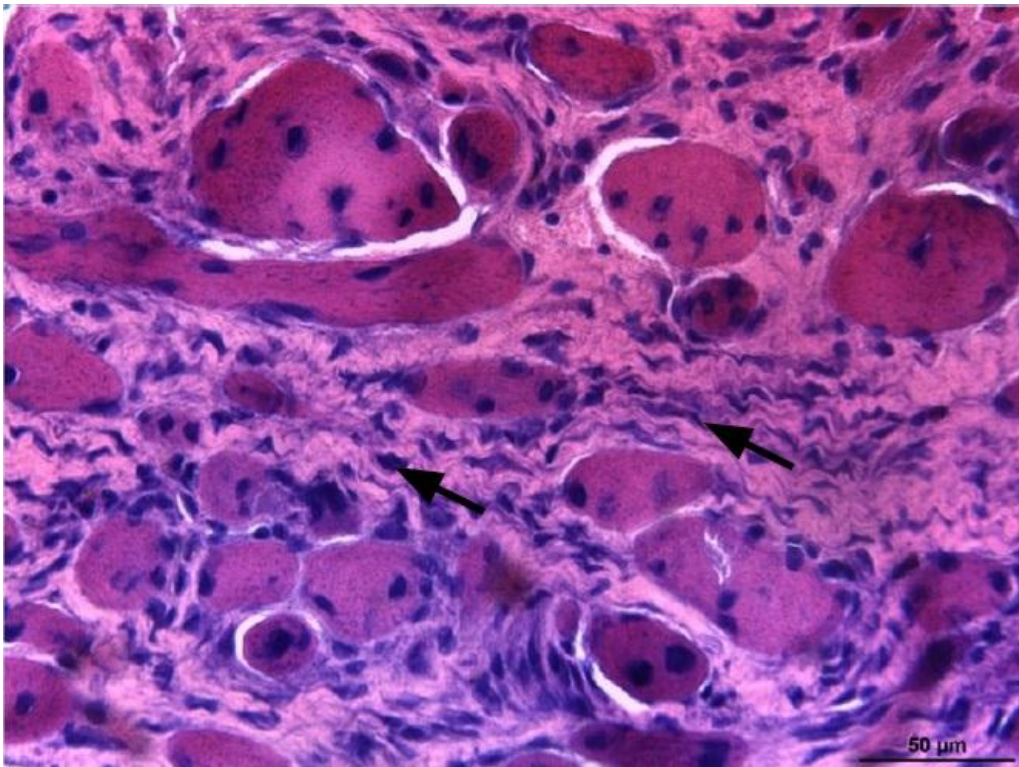


**Figura 12:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo controle 20 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte longitudinal: aspecto geral do infiltrado inflamatório, com presença de fibroblastos (seta preta), arteríola (seta vermelha) e células mioblásticas (seta azul).

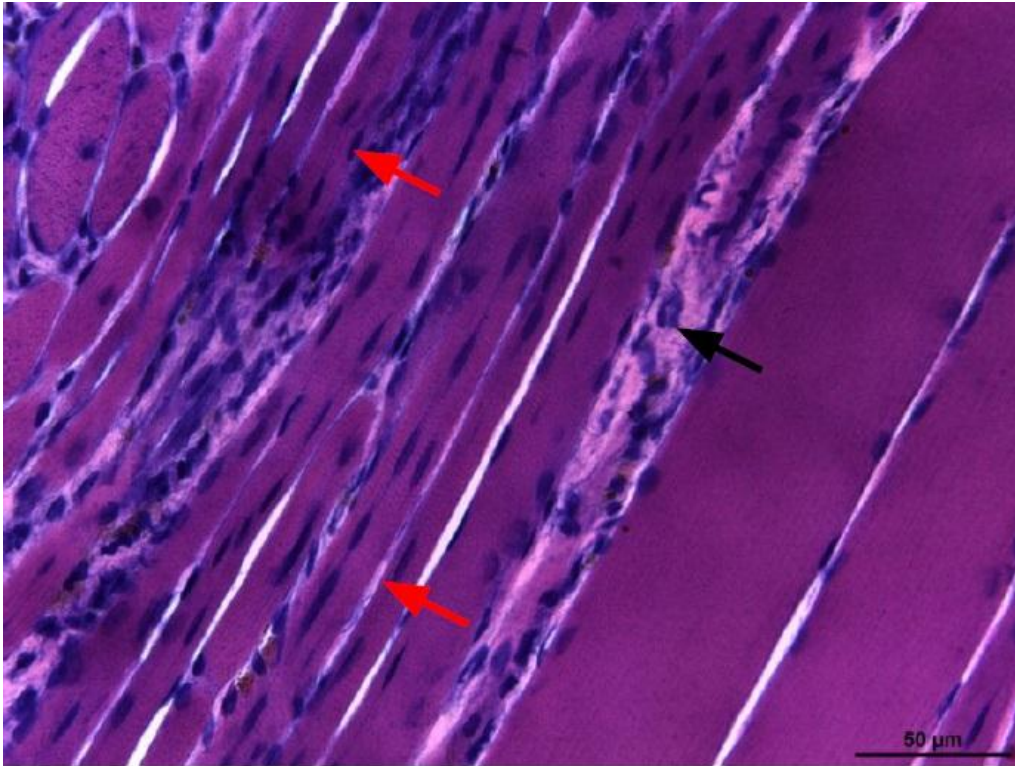




**Figura 13:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo tratado 20 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte transversal: presença de capilares sanguíneos, arteríolas (seta vermelha) e vênula (seta preta) no tecido conjuntivo.



**Figura 14:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo tratado de 20 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte transversal: tecido conjuntivo com inúmeros fibroblastos (setas) em atividade.



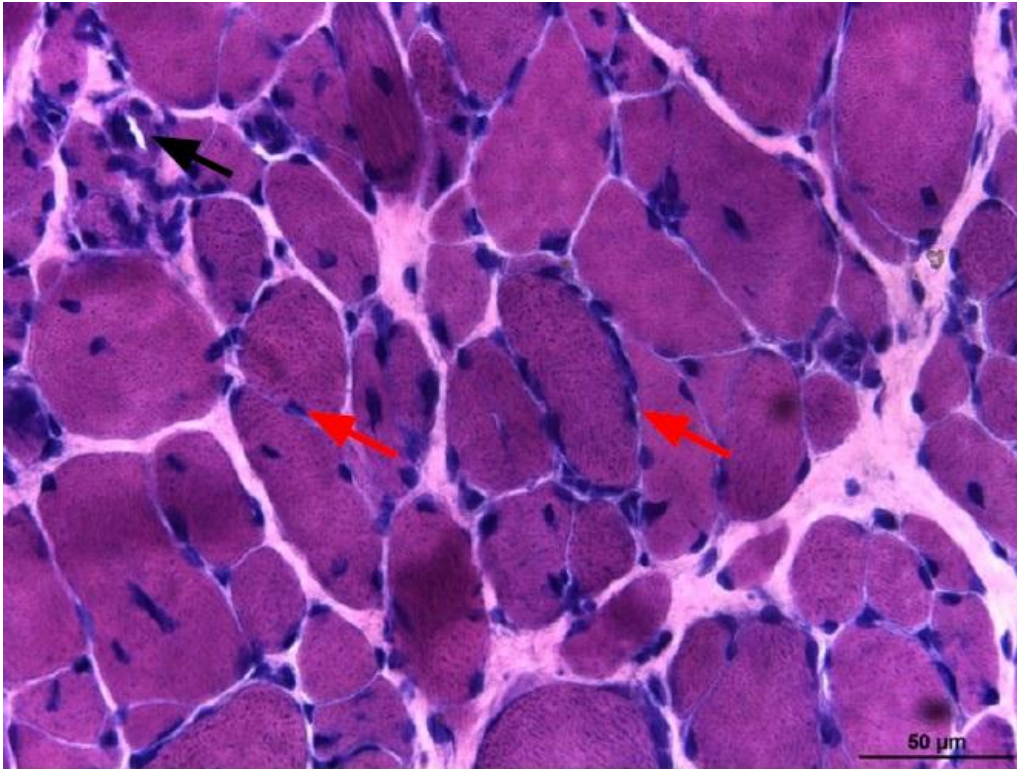
**Figura 15:** Fotomicrografia do músculo tibial anterior de rato do grupo tratado de 20 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte longitudinal: fibras musculares no sentido longitudinal, com migração dos núcleos para a periferia (seta vermelha), e fibroblastos distribuídos no tecido conjuntivo (seta preta).

#### Grupo 30 dias:

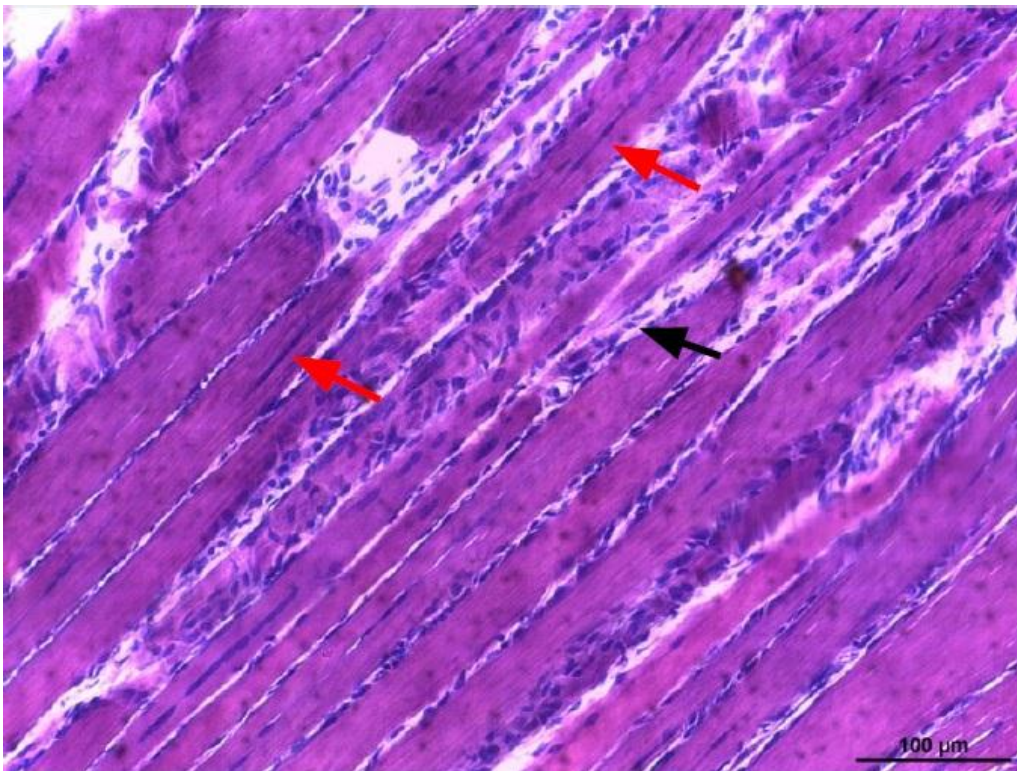
No grupo controle, observa-se o processo de remodelação tecidual com a migração dos núcleos do centro para a periferia (Figura 16), a organização dos mioblastos seguiu no sentido longitudinal do eixo das fibras (Figura 17).

Por fim, o grupo tratado, tem-se uma menor quantidade de fibroblastos (Figura 18), e o tecido conjuntivo apresenta suas características do tecido conjuntivo frouxo, com uma redução da presença desse tecido entre as fibras musculares (Figura 19). As fibras musculares já apresentam um padrão de organização mais acentuado (Figura 20).



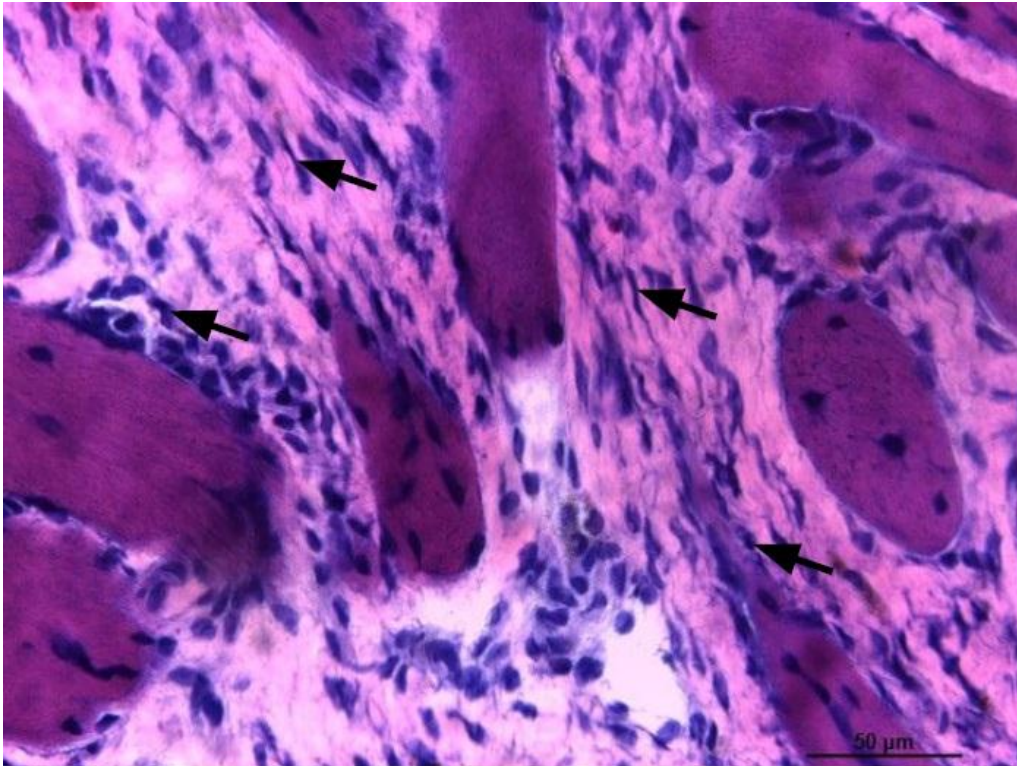


**Figura 16:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo controle de 30 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte transversal: surgimento de capilar sanguíneo, arteríola (seta preta) após 30 dias da lesão, os núcleos (seta vermelha) das fibras musculares começam a migrar para a periferia da célula.

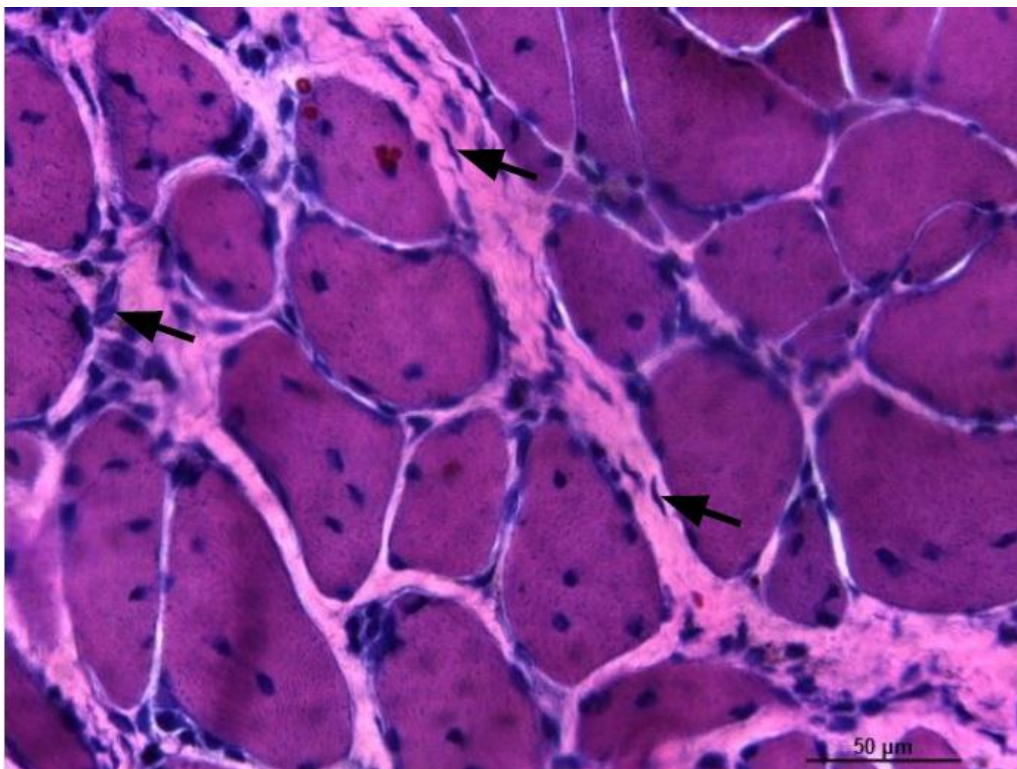


**Figura 17:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo controle de 30 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte longitudinal: ocorrência menor de fibroblastos (seta preta) no tecido conjuntivo, os núcleos (seta vermelha) das fibras musculares começam a migrar para a periferia da célula.

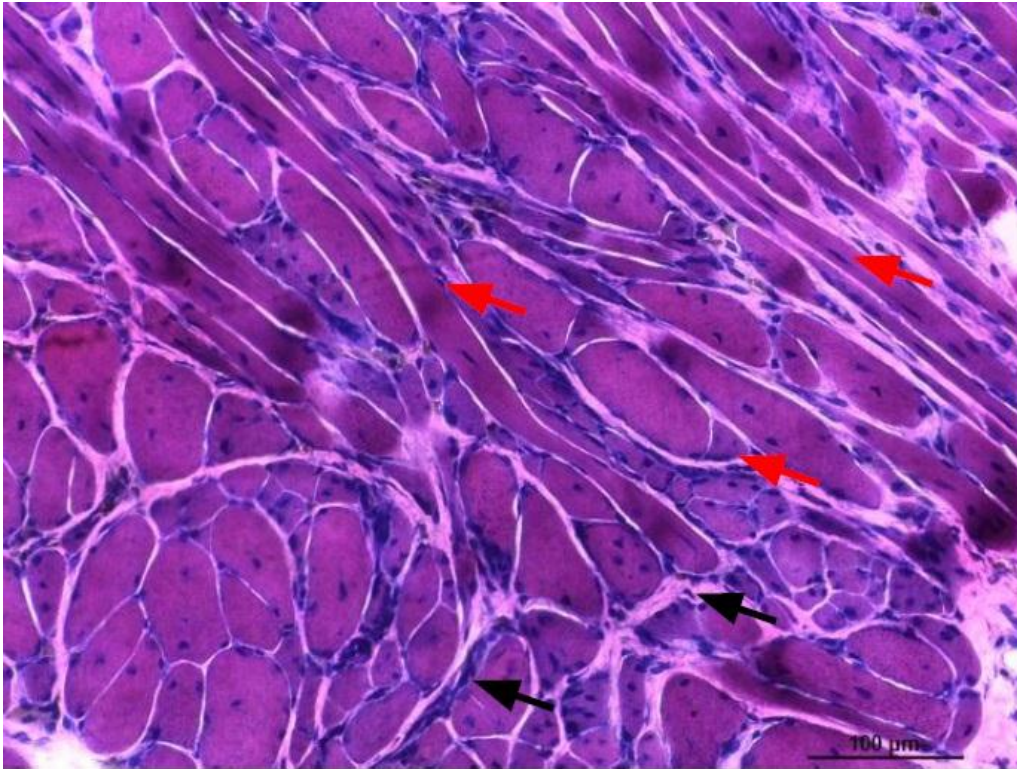




**Figura 18:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo tratado de 30 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte transversal: interstício de tecido conjuntivo com alta presença de fibroblastos (setas).



**Figura 19:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo tratado de 30 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte transversal: interstício das fibras musculares representado pelo endomísio está preenchido pelo tecido conjuntivo que apresenta inúmeros fibroblastos e poucas células inflamatórias (setas).



**Figura 20:** Fotomicrografia de músculo tibial anterior de rato do grupo tratado de 30 dias, corado com hematoxilina-eosina - corte transversal: interstício das fibras musculares distribuídas de maneira desordenadas em meio ao tecido conjuntivo com alta atividade de fibroblastos (setas).



## 6 CONCLUSÃO

Tendo em vista os objetivos propostos para este estudo, pode-se concluir que:

- Os resultados obtidos pela contagem e verificação da densidade de leucócitos (células inflamatórias) mostram que não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos controle e tratado. A única diferença significativa está ligada ao grupo tratado de 20 dias, onde ( $p < 0,0001$ ) apresentou uma densidade menor, em relação ao mesmo grupo controle do mesmo período, estando com o processo de regeneração mais acelerado;
- Com relação aos resultados obtidos da contagem e verificação de fibroblastos, também verificou-se que não houve diferenças significativas, mas que no grupo tratado de 20 dias, a densidade de fibroblastos foi muito maior com relação ao controle do mesmo período ( $p < 0,05$ ), concluindo que não só acelerou a regeneração como também atuou mais rapidamente no reparo tecidual e reordenação das fibras musculares;
- A análise morfológica comparativa entre os tecidos lesados dos 6 grupos, demonstrou que ao longo do tempo, o grupo controle teve uma intensa atividade inflamatória, que foi diminuindo progressivamente, ao mesmo tempo que os fibroblastos iam se multiplicando, estabilizando o tecido conjuntivo, ao passo que as células satélites iam evoluir em mioblastos;
- No grupo tratado, ao final da atividade fagocítica permite o surgimento de fibroblastos e uma intrínseca rede de fibrina logo nos 10 primeiros dias. Nesta etapa, a aparição de capilares sanguíneos é mais acelerada que no grupo controle. Em sequência, o grupo tratado de 20 dias já apresenta um tecido conjuntivo mais característico e mais consistente, com alta densidade de fibroblastos, o que sugere aceleração do reparo tecidual, dando maior ocorrência da maturação dos mioblastos. Por fim, ao grupo tratado de 30 dias, o tecido conjuntivo abrange uma área menor na fenda incisional e entre os espaços das fibras musculares, os miotubos presentes atuam na coligação entre as fibras musculares rompidas durante a lesão. Mesmo com todo o processo adiantado, falta mais tempo até que a regeneração finalize por completo, com o músculo totalmente sadio;
- Entretanto, mesmo que o grupo amostral seja pequeno, e suas diferenças sejam mínimas, o tratamento não foi eficiente como deveria. A terapia de

contraste só auxiliou na aceleração do processo regenerativo, na formação precoce de capilares sanguíneos e na variação da densidade de leucócitos e fibroblastos durante o tratamento nos 20 dias após a lesão;

- É passível de pesquisas futuras, que se realize o estudo do tratamento, com a terapia de contraste e as aplicações de frio e calor separadas para entender melhor o processo de ação de cada uma delas, para comparar as duas juntas, além de compreender melhor a flutuação da densidade de leucócitos e fibroblastos em períodos mais curtos após a lesão. E se, no caso, o aparecimento precoce dos capilares sanguíneos seja um efeito da ação do calor durante o tratamento.

## REFERÊNCIAS

- BROOKE, Michael H.; KAYSER, Kenneth K. **Muscle Fiber Types: How Many and What Kind?** *Arch Neurol*, Chicago: American Medical Assn, ed. 23, ano 1970, n. 4, p. 369-379, 1 out. 1970. Mensal. Disponível em: <https://www.deepdyve.com/lp/american-medical-association/muscle-fiber-types-how-many-and-what-kind-ax0CzXWIC5?key=JAMA>. Acesso em: 26 jul. 2019.
- CUBAS, Zalmir Silvino; SILVA, Jean Carlos Ramos; CATÃO-DIAS, José Luiz. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., v.2, 2014. 2.463 p. ISBN: 9788527726481.
- FELICE, Thais Duarte; SANTANA, Lidianni Rosany. **Recursos Fisioterapêuticos (Crioterapia e Termoterapia) na espasticidade: revisão de literatura**. *Revista Neurociências*, São Paulo: Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), ed. 17, ano 2009, n. 1, p. 57-62, 1 fev. 2008. Semestral.
- FERNANDES, Tiago Lazzaretti; PEDRINELLI, André; HERNANDEZ, Arnaldo José. **Lesão muscular: Fisiologia, diagnóstico, tratamento e apresentação clínica**. *Revista Brasileira de Ortopedia*, São Paulo: Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia, ed. 46, ano 2011, n. 3, p. 247-255, 23 dez. 2010. Bimestral.
- FERRARI, Ricardo José *et al.* **Processo de regeneração na lesão muscular: uma revisão. Fisioterapia em Movimento**, Curitiba: Pucpress, ed. 18, ano 2005, n. 2, p. 63-71,
- GRAAFF, Kent M. Van De. **Anatomia Humana**. 6. ed. São Paulo: Manole Ltda., 2003. 840 p. ISBN: 8520413188.
- GUYTON, Arthur Clifton. **Fisiologia Humana**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.
- JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; CARNEIRO, José. **Histologia Básica: Texto & Atlas**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., 2013. 538 p. ISBN: 9788527723114.
- MINAMOTO, Viviane Balisardo. **Classificação e adaptações das fibras musculares: uma revisão. Revista Fisioterapia e pesquisa**, São Paulo: Universidade de São Paulo (USP), ed. 12, ano 2005, n. 3, p. 50-55.
- MONTEZEL, Maíra de Souza. **Células satélites e regeneração muscular**. Orientador: Carlos Alberto Anaruma. 2009. 41 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) filho, Rio Claro, 2009.
- MOURA, Nicole Limaverde; RICCI, Mário César. **Estudo teórico do processo de regeneração do tecido muscular esquelético lesionado**. *Revista Univap*, São José dos Campos, v. 13, n. 8, p. 764-767, out de 2006 Trabalho apresentado no Xº Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, São José dos Campos, 2006. Disponível em: [https://www.univap.br/univap/pro\\_reitorias/int\\_uni\\_soc/revista/RevistaUnivap24.pdf](https://www.univap.br/univap/pro_reitorias/int_uni_soc/revista/RevistaUnivap24.pdf). Acesso em: 11 mar. 2018.
- NADLER, Scott F.; KRUSE, Roger J. **The Physiologic Basis and Clinical Applications of Cryotherapy and Thermotherapy for the Pain Practitioner**. *Journal Pain Physician*, Paducah, KY: American Society of Interventional Pain Physicians (ASIPP), ed. 7, ano 2004, n. 3, p. 395-399, Semestral. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/6928434\\_The\\_Physiologic\\_Basis\\_and\\_Clinical\\_Applications\\_of\\_Cryotherapy\\_and\\_Thermotherapy\\_for\\_the\\_Pain\\_Practitioner](https://www.researchgate.net/publication/6928434_The_Physiologic_Basis_and_Clinical_Applications_of_Cryotherapy_and_Thermotherapy_for_the_Pain_Practitioner). Acesso em: 15 mai. 2020.
- ODA, Juliano Yasuo *et al.* **Efeitos da crioterapia vs correntes diadinâmicas na redução do edema de pata em ratas**. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*, Umuarama: Universidade Paranaense, ed. 18, ano 2014, n. 2, p. 107-111,

OLIVEIRA, Ilanna Vanessa Prito de M.; DIAS, Regina Valéria da Cunha. **Cicatrização de Feridas: Fases e Fatores de Influência**. *Acta Veterinaria Brasilica*, Rio Grande do Norte: Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), ed. 6, ano 2012, n. 4, p. 267-271, Semestral.

OLIVEIRA, Joyce Vieira Estima *et al.* **Crioterapia**. *Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente*, Leme: Kroton Educacional, ed. 1, ano 2004, n. 1, p. 31-33, 1 jun. 2004. Anual. Disponível em: <https://repositorio.pgskroton.com/handle/123456789/478>. Acesso em: 28 jul. 2019.

PIOVESANA, Roberto Farina *et al.* **Uma revisão sobre a plasticidade do músculo esquelético: expressão de isoformas de cadeia pesada de miosina e correlação funcional**. *Fisioterapia em Movimento*, Curitiba: Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), ed. 22, ano 2009, n. 2, p. 211-220, 10 abr. 2009. Bimestral.

PRENTICE, William E. **Modalidades Terapêuticas para Fisioterapeutas**. Tradução: Maria da Graça Figueiró da Silva Toledo. 4. ed. Porto Alegre: AMGH editora, 2014. Título original: Therapeutic Modalits in Rehabilitation. ISBN: 9788580552720.

RAMOS, Viviane Peixoto Cavalcanti; SOUZA, Flaviano Gonçalves Lopes; **A eficácia da crioterapia na fase inicial de processos inflamatórios após lesão musculoesquelética**. [2018-19]. Trabalho de Pós-Graduação em Reabilitação em Ortopedia e Traumatologia com ênfase em Terapia Manual. Faculdade Faserra [s.l.]. Acesso: 15 de maio de 2020.

ROCHA, Rodrigo Santiago Barbosa; CAVALLIERI, Alexandre Gomes; **Lesão, Plasticidade e Reabilitação do Sistema Muscular**. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*, Brasília: Universa, ed. 15, ano 2007, n. 2, p. 81-85, 9 jun. 2008. Mensal.

SANTOS, Thiago Siqueira dos. **Quantificação do uso da crioterapia no desempenho físico e tratamento de lesões na base de dados SCIELO.ORG**. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício*, São Paulo: Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício (IBPEFEX), ed. 8, ano 2014, n. 34, p. 44-49, 3 jan. 2014. Bimestral. Acesso em: 28 jul. 2019.

SILVEIRA, Maria Paula Mellito da; CLAUDINO, Renato; EVARISTO, Karla Denise de Alcantara. **O efeito da crioterapia na fase inflamatória da lesão muscular em ratos (*Rattus norvegicus*)**. *Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício*, Petrolina: Faculdade de Tecnologia e Ciências, ed. 7, ano 2008, n. 3, p. 133-138, 3 set. 2008. Semanal.

SVERZUT, Ana Cláudia Mattiello; CHIMELLI, Leila. **O papel das células satélites nas respostas adaptativas do tecido muscular esquelético**. *Revista Fisioterapia*, São Paulo: Universidade São Paulo (USP), ed. 6, ano 1999, n. 2, p. 132-139, Disponível em: <http://rftp-tr.com.br/download/1999/FPv6n2-1999.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2019.

TEIXEIRA, Manoel Jacobsen *et al.* **Fisiopatologia da dor músculo-esquelética**. *Revista de Medicina*, São Paulo: Universidade de São Paulo (USP), ed. 80, ano 2001, p. 63-77, 29 jun. 2001.

VIANA, Daiane Fabiola de Melo. **Crioterapia: História, Efeitos Fisiológicos e a Eficácia das suas Técnicas - Uma Revisão de Literatura**. Orientador: Prof. Dr. Margio Cezar Loss Klock. 2015. TCC (Graduação) - Curso de Fisioterapia, Fisioterapia, Universidade Federal do Paraná Setor Litoral, Matinhos, 2015. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/42147>. Acesso em: 28 jul. 2019.