OS EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO (PBMT) E DO ÓLEO DE ADIROBA (CARAPA GUIANENSIS) SOBRE A LESÃO MUSCULAR AGUDA EM RATAS: UM ESTUDO PILOTO**The effects of photobiomodulation (PBMT) and Andiroba oil (carapa guianensis) on acute muscle injury in rats: a pilot study**Ilva Lana Balieiro Capela¹, Jamylle Silva Campos¹, João Paulo Menezes Lima¹, Pedro Iuri Castro da Silva²,Ednei Lopes Teixeira Marialva³, Rafael da Rocha Dias Quintarios³, Suzana Saymi Yamaguchi³, Regina Da Rocha Corrêa⁴,Anne Beatriz Duarte De Conceição¹, Amanda Jordana Silva Souza⁵, Luciana Moraes Ribeiro⁵, Jéssica Natasha Rodrigues Brandão⁵,Manoella de Fatima de Sena Reis⁶, Ernesto Castro Pinto Leal Junior⁶, Tereza Cristina dos Reis Ferreira⁷

ISSN: 2178-7514

Vol. 13 | Nº. 1 | Ano 2021

RESUMO

Introdução: O sistema musculoesquelético é o tecido de maior massa do corpo humano, com 45% do peso corporal total e sujeito a muitos tipos de traumas. Objetivo: Analisar os efeitos da Andiroba, aplicação tópica, e PBMT sobre a lesão muscular. Métodos: Foram utilizados 39 ratas da linhagem Wistar, adultas, fêmeas divididas em 5 grupos (controle, lesão, tratamento PBMT, Andiroba e PBMT + Andiroba) e cada grupo foi dividido em subgrupos de avaliação após o tratamento (6h, 12h e 48h). Os animais foram submetidos ao protocolo de lesão muscular, com exceção do grupo controle, uma hora após o protocolo de lesão os animais foram tratados com fototerapia utilizando o PBMT e medicina tradicional com a Andiroba. Foram realizadas análises do estresse oxidativo por meio do teste de peroxidação lipídica utilizando a determinação da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) bem como análise da modulação da defesa antioxidante foi realizado o protocolo de catalase (CAT) e análise do dano muscular por meio da Creatina Kinase em intervalos de tempos diferentes após o tratamento. Resultados: 6 horas após o tratamento o GLL apresentou melhor resposta ao estresse oxidativo; 12hs após-tratamento o GLA apresentou melhor resposta ao estresse oxidativo e ao dano muscular; após 48hs o GL apresentou resultados significantes ($p < 0,05$) em relação aos demais grupos. Conclusão: O estudo apresentou bons resultados na ação antioxidante, estresse oxidativo e dano muscular na lesão muscular aguda em ratas.

Palavras-chave: Sistema musculoesquelético; Fototerapia; Fotobiomodulação; Medicina Tradicional.**ABSTRACT**

Introduction: The musculoskeletal system is the largest mass tissue of the human body, with 45% of total body weight and subject to many types of trauma. Objective: To analyze the effects of Andiroba, topical application, and PBMT on muscle injury. Methods: Twenty-nine female Wistar rats were divided into five groups (control, lesion, PBMT, Andiroba and PBMT + Andiroba) and each group was divided into subgroups after treatment (6 h, 12 h and 24 h). The animals were submitted to the muscle injury protocol, with the exception of the control group, one hour after the injury protocol the animals were treated with phototherapy using PBMT and traditional medicine with Andiroba. Oxidative stress analyzes using the lipid peroxidation test using the determination of the concentration of reactive substances to thiobarbituric acid (TBARS) as well as analysis of the modulation of the antioxidant defense were performed the protocol of catalase (CAT) and analysis of muscle damage by Creatine Kinase at different time intervals after treatment. Results: 6 hours after treatment PBMT presented better response to oxidative stress; 12 h after treatment Andiroba presented better response to oxidative stress and muscle damage; after 48 hours the lesion presented significant results ($p < 0.05$) in relation to the other groups. Conclusion: The study showed good results in antioxidant action, oxidative stress and muscle damage in acute muscle injury in rats.

Keywords: Musculoskeletal system; Phototherapy; Photobiomodulation Traditional Medicine.

1 Fisioterapeutas, graduados pela Universidade do Estado do Pará (UEPA). Belém, PA – Brasil.

2 Fisioterapeuta, Mestre do programa de Cirurgia e Pesquisa Experimental da Universidade do Estado do Pará (UEPA), membro do Laboratório de Morfofisiologia. Belém, PA – Brasil.

3 Discente graduando pela Faculdade Paranaense de Ensino (FAPEN)

4 Discente graduando pela graduados pela Universidade do Estado do Pará (UEPA).

5 Discente graduando pela graduados pelo Centro Universitário do Estado do Pará

6 Fisioterapeuta graduada pela pelo Centro Universitário do Estado do Pará

6 Phd em ciências da Reabilitação, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), membro do Laboratório de fototerapia e tecnologias inovadoras em saúde. São Paulo, SP – Brasil.

7 Fisioterapeuta, Doutora em ciências da Reabilitação, Universidade Nove de Julho (UNINOVE) e Docente da Universidade do Estado do Pará (UEPA). Belém, PA – Brasil.

Autor de correspondência

Ilva Lana Balieiro Capela - lanacapela@hotmail.com

INTRODUÇÃO

As lesões musculares são a causa mais frequente de incapacidade física na prática esportiva. Cerca de 30 a 50% das lesões associadas ao esporte são causadas por lesão de tecidos moles¹. 90% de todas as lesões relacionadas ao esporte ocorrem por contusões ou estiramento; na lesão muscular causada por contusão o tecido é fortemente comprimido e é geralmente devido um único trauma, onde sofre um processo de degeneração e regeneração, que leva a alterações bioquímicas e morfológicas no locais.^{2,3}

Atualmente a terapia por fotobiomodulação (PBMT) utilizando o Laser de baixa intensidade (LLLT) e/ou a terapia de diodo emissor de luz (LEDT), tem sido utilizada em diversos estudos para avaliar a sua ação na melhora da performance esportiva de atletas, pós traumas musculoesquelético, pós-cirurgias e em tratamentos de pacientes com doenças pulmonares. Alguns achados da ação da PBMT em atletas foram redução da fadiga muscular, redução do dano muscular estresse oxidativo e fornece rápida recuperação do músculo.^{4,5,6,7,8,9}

Na lesão muscular a PBMT provou-se efetivamente após a terapia no reparo tecidual, modulando o processo inflamatório e promove o alívio da dor¹⁰, porém não foram encontrados estudos que avaliassem sua eficácia associada a tratamentos tradicionais.

Como alternativa aos agentes terapêuticos

tradicionais, uma ampla variedade de fitoterápicos tem sido utilizada, como a planta Andiroba (*Carapa guianensis*) da família Meliaceae¹¹. A composição química do óleo extraído da semente da Andiroba é representada por estearina, ácidos graxos, oleico e mirístico e em menor quantidade pelos ácidos palmíticos e linoleico. O óleo vegetal é um líquido amarelo, de sabor amargo, que é extraído de suas sementes por prensagem, mas solidifica em temperaturas abaixo de 25° C, tornando-se uma gordura esbranquiçada. É muito conhecido pela medicina popular e oficialmente reconhecido como possuidor de propriedade anti-inflamatória, analgésicas, antissépticas, cicatrizante e para o trato respiratório.¹²

O óleo de Andiroba é amplamente utilizado pela população amazônica por ser um meio de tratamento economicamente mais acessível (assim como o LED), apresentando-se como opção viável ao tratamento de lesões musculares. Deste modo, torna-se importante a realização de novos estudos a fim de comparar e associar os efeitos da Andiroba ao LED na lesão muscular aguda.

Metodologia

Aspectos éticos

Todos os animais foram cuidados segundo a legislação nacional para Procedimentos para o Uso Científico de Animais em vigor (Lei federal 11.794), sendo respeitados os Princípios Éticos da Experimentação Animal do CONCEA. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade do Estado do

Pará (UEPA) por meio do protocolo nº 24/2016.

Local e tempo da pesquisa

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Morfofisiologia aplicada a Saúde no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde Campus II da Universidade do Estado do Pará. A execução da pesquisa ocorreu nos meses de outubro de 2016 a outubro de 2017.

Animais

Foram utilizadas 39 ratas (*Rattus norvegicus*), da linhagem Wistar, adultas, com idade média de 80 dias e pesando entre 280 a 350g; provenientes do Biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental (LCE) da Universidade do Estado do Pará (UEPA) e transferidas ao biotério do laboratório de morfofisiologia aplicada à saúde da UEPA/CCBS, onde foram colocadas em gaiolas de acrílico apropriadas com fundo contendo maravalha, mantidos em ambiente de temperatura entre 22 e 25°C, recebendo água e ração ad libitum durante o período do experimento e ciclo de luz noite/dia de 12 horas.

Indução da lesão muscular por contusão

Os animais foram pesados e anestesiados por via intraperitoneal (i.p) com uma associação de Cetamina e Xilazina (90 mg/Kg e 10 mg/Kg respectivamente). Posteriormente divididos em grupos e submetidos ao protocolo de lesão por contusão, onde os animais foram posicionados em decúbito dorsal com leve rotação interna da articulação do quadril e flexão plantar do tornozelo, para que a pata direita se posicionasse

em extensão, apoiada na parte inferior da prensa lesionadora. Em seguida, um único trauma foi realizado utilizando um mini guilhotina, que compreende um bloco de peso de 200g com uma ponta chanfrada 2mm de largura, deixada cair a partir de 20cm, guiadas por meio de suportes realizando a lesão em um único golpe no músculo tibial anterior.

Grupos experimentais

Os animais foram divididos por grupos aleatórios. Em 5 grupos experimentais com análises temporais compreendendo 06h, 12h e 48h em cada grupo, com 3 animais em cada análise temporal, totalizando 39 animais.

Os grupos experimentais foram utilizados de acordo com o protocolo de tratamento descrito abaixo:

1. Grupo Controle (GC n=3): grupo de animais que não foram submetidos a qualquer tipo de procedimento.
2. Grupo Lesão (GL n=9): animais foram submetidos apenas ao protocolo de lesão.
3. Grupo de tratamento com PBMT com o LEDT (GLL n=9): grupo de animais que foram submetidos à lesão e tratados com o LEDT.
4. Grupo de tratamento com Andiroba (GLA n=9): grupo de animais que foram submetidos à lesão e tratados com Andiroba.
5. Grupo de tratamento com PBMT com o LEDT e Andiroba (GLLA n=9): grupo de animais que foram submetidos à lesão e tratados com a associação de LEDT e Andiroba.

Protocolo de tratamento

No grupo GLL 1h após a lesão aplicou-se a uma única irradiação do LEDT (THOR® Photomedicine, London, UK) com o ajuste dos parâmetros em: Comprimento de onda (905nm); Pico de potência: 25 W; Área: 0,028 cm²; Densidade de potência: 1,42 mW/cm²; Energias: 1 Joules; Tempos: 8s; Densidade de energia 0,011 J/cm²; quadro LEDs de 875nm e quadro LEDs de 640nm. A sonda de clusters foi mantida estacionária em contacto com a pele com um ângulo de 90 graus e uma leve pressão foi realizada.

No grupo GLA 1h após a lesão foi realizado uma única aplicação tópica do óleo de Andiroba. Na qual foi extraída e disponibilizada pela Empresa FAGRON e manipulada em farmácia para obter concentração de 50%.

No grupo GLLA 1h após a lesão aplicou-se uma única irradiação do LEDT e posteriormente realizou-se uma única aplicação tópica do óleo de Andiroba.

As análises foram realizadas por apenas uma pessoa treinada e habilitada para este tipo de análise e realizadas no Laboratório de Morfofisiologia Aplicada a Saúde da UEPA.

Após as 6h, 12h e 48h de tratamento, de acordo com o grupo experimental, os animais foram anestesiados com Cetamina (95mg/kg) e Xylazina (12mg/kg) via intraperitoneal para a retirada de todo o sangue possível, coletado do ventrículo esquerdo por punção cardíaca, posteriormente foi centrifugado a 3000 rpm

por 5 min e o soro obtido foi acondicionado em microtubos plásticos e mantido a -20°C para análise futura. Após a retirada do sangue foi realizado decapitação do animal por guilhotina e posteriormente retirado o músculo tibial anterior, no qual foi homogeneizado, aliquoteado em microtubos e armazenadas no Freezer -70° até o dia da análise do estresse oxidativo.

Estresse oxidativo (EO)

A análise do EO foi realizada a partir do teste de peroxidação lipídica, por meio da determinação da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs). O método baseia-se na alteração da coloração da amostra quando a mesma é colocada para reagir com TBARs a 1% na temperatura de 90 a 100°C e em meio ácido. A amplificação da peroxidação foi prevenida pela adição de um antioxidante (butil-hidroxi-tolueno- BHT) e a concentração de TBARs determinada utilizou o coeficiente de extinção molar do Malondialdeído MDA ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$) através da fórmula: Concentração de TBARs = Absorbância/1,56 x diluições.

Catalase (CAT)

Para a análise da modulação da defesa antioxidante foi realizado o protocolo de CAT, onde 10µl da amostra foi diluída 10 vezes, 40µl de água, 50µl de tampão trisbase e 900µl de peróxido de hidrogênio, posteriormente a reação foi colocada no espectrofotômetro a uma temperatura de 30°C, comprimento de onda de 230nm e o tempo de reação de 8min. A reação

foi lida no programa em “cinética” e a leitura realizada a cada 10s durante os 8min. O calculo utilizado foi: (Absorbância / 0.071 x diluições) / quantidade de proteína = $\mu\text{mols p/mim} / \text{mg} / \text{ml}$ = U/mg de proteínas.

Creatina quinase (CK)

A análise da CK foi realizada utilizando o kit comercial do laboratório Labtest (Brasil), onde o preparo dos reagentes foi realizado de acordo com as instruções do fabricante. Realizou-se a mistura de 1ml do reagente de trabalho com 0,05ml da amostra, o mesmo foi homogeneizado e incubado a 37°C por 5 min. Foi realizada 2 leituras com intervalo de 5min, a análise foi feita no espectrofotômetro com um comprimento de onda de 340nm e a atividade o cálculo da atividade de CK (U/L) na amostra será feita pela equação CK (U/L) = ΔA Teste – Fator.

Análises estatísticas

Os dados coletados foram tabulados, interpretados, processados e analisados por meio da estatística descritiva e inferencial. Foram armazenados no software Excel e as análises estatísticas foram realizadas no programa SPSS 20.0, com base em medidas de posição e dispersão para as variáveis numéricas. Para as comparações entre as medidas de dispersão das variáveis foram utilizados, o teste de Análise de Variância (ANOVA) e o teste t de Student, todos ao nível de confiança de 95% e nível de significância de $\leq 0,05$.

RESULTADOS

Marcadores de estresse oxidativo

Quanto à análise da TBARs verifica-se (tabela 1) que no intervalo de 6h, o grupo GLA apresentou maior média ($\mu = 0,26 \pm 0,08$). O grupo GL apresentou maior intervalo de variação (0,04 - 0,30), e o grupo GLL apresentou menor média ($\mu = 0,07 \pm 0,07$), porém esta diferença não é significativa ($p > 0,05$) entre os grupos.

No intervalo de 12h, o grupo GLLA apresentou maior média ($\mu = 0,18 \pm 0,04$). O grupo GLA apresentou menor média ($\mu = 0,10 \pm 0,07$). O grupo GLA apresentou o maior intervalo de variação (0,04 - 0,17). A diferença entre os grupos para este intervalo de tempo, também não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$).

Quanto ao intervalo de 48h, verifica-se que não há diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos, de modo que, o grupo GLL apresentou maior média ($\mu = 0,24 \pm 0,11$). O grupo GLL apresentou maior intervalo de variação (0,11 – 0,32), enquanto que o grupo GL apresentou menor média ($\mu = 0,14 \pm 0,10$). A diferença entre os grupos para este intervalo de tempo, também não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$).

Quanto aos resultados da modulação da defesa antioxidante realizado por meio método CAT verifica-se (tabela 2) que para o intervalo de 6hs, o grupo GLL apresentou maior média ($\mu = 41,69 \pm 13,81$), e o grupo GLA apresentou menor média ($\mu = 27,31 \pm 10,47$), porém esta

diferença não é significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos. O grupo GLLA apresentou maior intervalo de variação (7,50 - 46,00).

No intervalo de 12h, o grupo GL apresentou maior média ($\mu = 46,30 \pm 36,80$) e maior intervalo de variação (17,40 - 87,80). O grupo GLL apresentou menor média ($\mu = 19,48 \pm 1,47$) e menor intervalo de variação (18,12 - 21,04). A diferença entre os métodos para este intervalo de tempo também não apresentou diferença significativa ($p>0,05$).

Quanto ao intervalo de 48h, verifica-se que há diferença significativa ($p<0,05$) entre os grupos, de modo que, o grupo GL apresentou maior média ($\mu = 62,30 \pm 19,50$) e maior intervalo de variação (42,40 - 81,30), enquanto que o grupo GLA apresentou menor média ($\mu = 22,18 \pm 15,54$).

Marcador de lesão celular

Quanto os resultados da CK verifica-se (tabela 3) que, no intervalo de 6h, o grupo GLA apresentou maior média ($\mu = 808,00 \pm 1.219,00$) e maior intervalo de variação (12,00 - 2.211,00), e o grupo GLLA apresentou menor média ($\mu = 81,20 \pm 40,60$), porém esta diferença não é significativa ($p>0,05$) entre os métodos.

No intervalo de 12h, o grupo GLLA apresentou maior média ($\mu = 160,40 \pm 34,60$). O grupo GLA apresentou menor média ($\mu = 77,10 \pm 35,70$). O grupo GL apresentou o maior intervalo de variação (42,60 - 194,90). A diferença entre os métodos para este intervalo de tempo, também não apresentou diferença significativa ($p>0,05$).

Quanto ao intervalo de 48h, verifica-se que não há diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos, de modo que, o grupo GLLA apresentou maior média ($\mu = 274,10 \pm 101,70$), O grupo GLL apresentou maior intervalo de variação (30,00 - 493,00), enquanto que o grupo GL apresentou menor média ($\mu = 16,20 \pm 18,60$). A diferença entre os métodos para este intervalo de tempo, também não apresentou diferença significativa ($p>0,05$).

DISCUSSÃO

A lesão muscular pode ocorrer por diversos mecanismos e tal processo de lesão leva a alterações bioquímicas e morfológicas no local lesionado¹³. Os níveis séricos de enzimas musculares são marcadores do estado funcional do tecido e o aumento destes pode indicar danos no mesmo¹⁴, por meio do aumento da enzima CK¹⁵ e dos marcadores de estresse oxidativo¹⁶. A quantificação destas enzimas permite o monitoramento do estado de treinamento de atletas, possibilitando a modulação das cargas de treino¹⁷.

Na presente pesquisa a PBMT não apresentou resultados significativos, porém reduziu o EO e aumentou a defesa antioxidante nas primeiras 6h após o tratamento, Ferraresi et al.²¹ e Leal-Junior et al.²² apresentam em seus estudos que a PBMT atua no músculo baseado na conhecida estimulação de atividade mitocondrial que ocorre após os fotões vermelhos ou

infravermelhos serem absorvidos por citocromo c oxidase e esta atividade regula a produção de Adenosina Trifosfato (ATP), e os efeitos descritos da PBMT são aumento no metabolismo energético e síntese de ATP; estimulação das defesas contra o EO; prevenção e reparação de danos musculares, dentre outros. Tal fato descrito na literatura pode relacionar os achados encontrados nas primeiras 6h após o tratamento com a PBMT.

Diferentes estudos demonstram que PBMT é capaz de reduzir os níveis de CK18,19, reduzir COX-2 e níveis de prostaglandina E2 no plasma, reduzir os níveis de marcadores inflamatórios e melhora da marcha em ratos diabéticos na fase da lesão muscular aguda²⁰ bem como melhora contração isométrica voluntária máxima (CIVM).¹⁹ Tais achados descritos nos estudos acima também foram similares aos encontrados na presente pesquisa nas primeiras 6h.

No intervalo de 12h após o tratamento foi observado que o grupo GLA apresentou menor dano e menor estresse oxidativo no tecido muscular comparado aos demais grupos, evidenciando que a Andiroba apresenta melhor recuperação tecidual a partir de 12h de tratamento.

Em um ensaio preliminar²³ foi verificado que o óleo de Andiroba é rico em Ácidos Graxos Insaturados (AGI), onde estes participam diretamente da ativação de células envolvidas nas respostas imune-inflamatória e cicatricial, modulando processos como a secreção dos

produtos celulares como na formação de EROs, dentre outros. Henriques et al.²⁴ apresentam em seus estudos que o óleo de Andiroba contém diferentes tetranortriterpenoides, no qual inibe a formação de edema por meio da deficiência de vias de sinalização induzidas pela histamina, bradicinina e fator ativador de plaquetas. Bem como Milhomem-Paixão et al.²⁵ avaliaram a genotoxicidade, a hematotoxicidade e as propriedades antioxidantes do óleo de Andiroba da Amazônia brasileira, demonstrando uma clara atividade antioxidante em todas as amostras.

Os dados expostos acima a cerca da capacidade de recuperação da lesão muscular da Andiroba, demonstram apenas a sua possível ação de acordo com sua composição, no entanto não foram encontrados artigos que apresentassem o tempo em que sua aplicação começa a produzir efeitos na lesão e o tempo que uma única aplicação perdura no organismo.

O fato da resposta da Andiroba frente ao processo de lesão muscular ter sido mais eficaz no grupo de 12h após o tratamento atribui-se à mesma ser de aplicação tópica e ter que atravessar as barreiras da pele até chegar ao tecido lesionado, apresentando assim uma demora no seu processo de atuação.

O grupo GLLA apresentou no intervalo de 12h maior peroxidação lipídica e dano muscular, tal fato pode ser justificado pela ação do PBMT no mesmo intervalo de tempo, onde produziu menor ação antioxidante podendo influenciar assim em uma maior peroxidação

lipídica. Tal fato pode ser associado também a PBMT não apresentar efeitos satisfatórios quando combinados com outras terapias, como ocorreu nos estudos de Paiva et al.²⁰, onde a combinação de PBMT + crioterapia reduziu a eficácia dos efeitos da PBMT.

Identificou-se no intervalo de 12h após o protocolo de tratamento que o grupo GL apresentou um maior intervalo de variação do dano muscular e maior média de capacidade antioxidante; uma possível explicação seria a ação antioxidante possuir a capacidade de combater os efeitos deletérios causados pelas EROs, tendo a possibilidade de reverter um possível quadro de instalação de EO.¹⁷ Desta forma, a atividade enzimática antioxidante estaria atuando para equilibrar o sistema a fim de reduzir o EO.²⁶

A fim de justificar o aumento progressivo da resposta de recuperação tecidual no grupo Lesão a partir das 12h, pode-se destacar diversos estudos^{27,28,29} que mostram que nas primeiras horas após a lesão muscular o processo de degeneração das fibras resulta em aumento dos níveis plasmáticos de proteínas musculares (CK) e células inflamatórias da vasculatura circundante, apresentando seu pico em 24hs, apresentando redução deste processo com o processo inflamatório fisiológico e boa ação de enzimas antioxidantes, promovendo assim no reparo tecidual.

Verificou-se no intervalo de 48h após o protocolo que o grupo GL apresentou menor peroxidação lipídica, maior atividade antioxidante

e menor dano muscular (apresentando diferença significativa $p < 0,05$). Portanto foi possível observar que após 48h o organismo é capaz de produzir uma resposta de recuperação tecidual eficaz, possível de reparar o dano muscular, aumentar a sua ação antioxidante e reduzir o estresse oxidativo causado pela lesão muscular.

Kozakowska et al.³⁰ relata em seu estudo que as células mielóides invadem o músculo danificado, aparecendo a partir de 1 h após a lesão e permanecendo elevadas durante pelo menos 48h seguintes; resultando em melhora da lesão muscular. Tal fato corrobora com o presente estudo, onde no intervalo de 48h da lesão, houve melhora do EO, ação antioxidante e dano muscular, em comparação com os demais grupos; sugerindo que o organismo dos animais estudados no GL apresentou grande capacidade de defesa e recuperação tecidual comparado aos grupos submetidos a um protocolo de tratamento.

No entanto, no mesmo intervalo de tempo pode-se evidenciar que o grupo GLL apresentou maior peroxidação lipídica e o grupo GLA apresentou menor ação antioxidante resultando em piora no quadro de EO e de defesa da ação antioxidante neste intervalo de tempo.

Já o fato do tratamento com PBMT e Andiroba não apresentarem um bom efeito no processo de recuperação do dano muscular, estresse oxidativo e ação antioxidante 48h após o tratamento, relaciona-se à realização de uma única aplicação de ambos, sugerindo que as mesmas perdem seu efeito ao decorrer do tempo.

CONCLUSÃO

A partir dos dados expostos neste estudo podemos concluir que a PBMT e a andiroba apresentam resultados benéficos para o tratamento da lesão muscular em intervalos de tempo diferentes, porém esta terapia combinada demonstrou não haver efeito algum para a melhora do da no muscular e EO. O grupo que apresentou resultados significativos foi o GL no intervalo de tempo de 48h após a lesão, tal fato sugeri que o organismo possui uma boa resposta a partir deste intervalo de tempo, produzindo substâncias capazes de modular o estresse oxidativo, aumentar a ação antioxidante e consequentemente reduzir o dano muscular causado pela contusão.

Torna-se necessária a realização de novos estudos que verifiquem o tempo de ação da PBMT no tecido muscular lesado; assim como o inicio da atuação da Andiroba no organismo, bem como o seu tempo de permanência no mesmo e desta forma criar um protocolo de tratamento ideal com a utilização individual da PBMT e Andiroba ou ambos associados na lesão muscular aguda por contusão.

REFERÊNCIAS

1. Fernandes TL, Pedrinelli A, Hernandez AJ. Lesão muscular-fisiopatologia, diagnóstico, tratamento e apresentação clínica. Rev Bras Ortop 2011; 46:247-55.
2. Fernandes T L; Pedrinelli A, Hernandez AJ. Lesão muscular: fisiopatologia, diagnóstico, tratamento e apresentação clínica. Rev Bras Ortop 2011; 46:247-255.
3. Lui X, et al. Impaired skeletal muscle regeneration induced by macrophage depletion could be partly ameliorated by MGF injection. Front Physiol.

- 2019; 10:601.
4. Albuquerque-Pontes GM,et al. Photobiomodulation therapy protects skeletal muscle and improves muscular function of mice in a dose-dependent manner through modulation of dystrophin. Lasers Med sci. 2018
5. Beltrame T,et al. Light-emitting diode therapy (photobiomodulation) effects on oxygen uptake and cardiac output dynamics during moderate exercise transitions: a randomized, crossover, double-blind, placebo-controlled study. Lasers Med sci. 2018
6. De Paiva PRV, et al. Effects of photobiomodulation therapy in aerobic endurance training and detraining in humans. Medicine (Baltimore). 2019 May; 98 (18): e15317.
7. Langella LG, et al. photobiomodulation therapy (PBMT) on acute pain and inflammation in patients who underwent total hip arthroplasty- a randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial. Lasers Med sci. 2018
8. Miranda EF,et al. acute effects of photobiomodulation therapy (PBMT) combining laser diodes, light-emitting diodes, and magnetic field in exercise capacity assessed by 6MST in patients with COPD: crossover, randomized, and triple-blind clinical trial. Lasers Med sci. 2019
9. Costa IP, et al. Acute effects using Light-Emitting Diode Therapy (LEDT) of muscle function during isometric exercise in asthma patients: a pilot study. Biomed Res Int. 2019.
10. Tomazoni SS, et al. Effects of photobiomodulation therapy and topical non-steroidal anti-inflammatory drug on skeletal muscle injury induced by contusion in rats- part 2: biochemical aspects. Lasers Med sci. November (2017) 32:1879.
11. Fernandes CPM, De Lima CS, Loes TV, Félix SR, Schons S de V, Fernandes GC et al. Utilização do óleo de andiroba (*Carapa guianensis*) em feridas cutâneas de ratos Wistar. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal 2014; 08:147-159.
12. Monteiro MVM. Avaliar a atividade antimicrobiana de óleos essenciais citronela (*Cymbopogon winterianus*) e andiroba (*Carapa guianensis* Aubl) em cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Sergipe, 2017.
13. Araújo AL. Efeitos do uso tópico do óleo de andiroba puro e zonizado em feridas cutâneas experimentalmente induzidas em equinos. Dissertação (mestrado em Ciência animal) - Universidade Vila Velha, 2014. 62f.
14. Reis, FA. Efeitos da aplicação do laser de baixa intensidade (830nm) no desempenho muscular antes e após protocolo de fadiga induzida pelo exercício em atletas de futebol. Campo Grande. Pós-Graduação em Saúde e desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2013.
15. Schneider M, Périco E, Pozzobon A. Verificação do dano muscular através da avaliação da concentração de creatina quinase em indivíduos não atletas após prova de ciclismo não competitivo. Scientia Medica 2015; 25 (1).
16. Dias FM. Efeitos da fonoforese com nanopartículas de ouro e dmsO sobre o estresse oxidativo em modelo animal de lesão traumática do músculo

gastrocnêmio. Trabalho de Conclusão - Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, 2011.

17. Antunes Neto JMF, Rivera RJB, Calvi RG, Raffa MF, Donadon CC, Pereira AG et al. Níveis Comparativos de Estresse Oxidativo em Camundongos em Duas Situações do Limite Orgânico: Overreaching Induzido por Treinamento de Natação e Câncer. *Rev Bras Med Esporte* 2008; 14 (6).

18. Ferraresi C, Dos Santos RV, Marques G, Zangrande M, Leonaldo R, Hamblin MR et al. Light-emitting diode therapy (LEDT) before matches prevents increase in creatine kinase with a light dose response in volleyball players. *Lasers Med Sci*. 2015; 30 (4):1281-7.

19. de Paiva PR, et al. Photobiomodulation therapy (PBMT) and/or cryotherapy in skeletal muscle restitution, what is better? A randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Lasers Med Sci* 2016; 31 (9):1925-1933.

20. dos Santos L.S., Saltorato J.C., Monte M.G. et al. PBMT and topical diclofenac as single and combined treatment on skeletal muscle injury in diabetic rats: effects on biochemical and functional aspects. *Lasers Med Sci* (2019) 34:25

21. Ferraresi C, et al. Photobiomodulation in human muscle tissue: an advantage in sports performance?. *J Biophotonics*. 2016 December ; 9(11-12): 1273–1299.

22. Leal-Junior ECP, De Almeida P, Tomazoni SS, et al. Superpulsed Low-Level Laser Therapy Protects Skeletal Muscle of mdx Mice against Damage, Inflammation and Morphological Changes Delaying Dystrophy Progression. Sampaioles M, ed. *Plos One* 2014; 9(3).

23. de Oliveira MLM, Nunes-Pinheiro DCS. Biomarcadores celulares e moleculares envolvidos na resposta imune-inflamatória modulada por ácidos graxos insaturados. *Acta Veterinaria Brasilica* 2013; 7 (2):113-124.

24. Henriques Md, Penido C. The therapeutic properties of Carapa guianensis. *Curr Pharm Des* 2014; 20 (6):850-6.

25. Milhomem-Paixão SS, Fascineli ML, Roll MM,

Longo JP, Azevedo RB, Pieczarka JC et al. The lipidome, genotoxicity, hematotoxicity and antioxidant properties of andiroba oil from the Brazilian Amazon. *Genet Mol Biol* 2016; 39 (2):248-56.

26. Santos PMF, et al. Avaliação do teste de 1600m sobre marcadores de estresse oxidativo e dano musculares em corredores juvenis. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício*, São Paulo. V.12. n.79. Suplementar 2. P.926-931. Jul/Dez. 2018.

27. Nogueira ME, et al. Comparação de marcadores plasmáticos de danomuscular após a realização de exercício de força com e sem oclusão vascular em homens fisicamente ativos e saudáveis. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do exercício*, São Paulo v.12. n.77. p.644-652. Set./Out. 2018.

28. Narciso LG, et al. Resveratrol atenua o estresse oxidativo e a lesão muscular de ratos sedentários submetidos ao exercício físico. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2018, vol. 70, n.3

29. Pillon NJ, Bilan PJ, Fink LN, Klip A. Cross-talk entre músculo esquelético e células do sistema imunológico: mediadores derivadas de músculos e as implicações metabólicas. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013; 304:453-465.

30. Kozakowska M, Pietraszek-Gremplewicz K, Jozkowicz A, Dulak J. O papel do estresse oxidativo na lesão do músculo esquelético e regeneração: foco em enzimas antioxidantes. *J Muscle Res Celular Motil* 2015; 36:377-393.

OBSERVAÇÃO: Os autores declaram não existir conflitos de interesse de qualquer natureza.

Tabela 1: Estatística Descritiva e Teste de Análise de Variância para a variável intervalo de tempo, da peroxidação lipídica (TBARs).

Intervalo	Método	Média	DP	Mínimo	Máximo	P-valor
6hs	Lesão	0,17	0,13	0,04	0,30	0.217
	Lesão e Andiroba	0,26	0,08	0,19	0,35	
	Lesão/Laser	0,07	0,07	0,03	0,15	
	Lesão/Laser e Andiroba	0,20	0,11	0,09	0,30	
12hs	Lesão	0,15	0,05	0,10	0,18	0.286
	Lesão e Andiroba	0,10	0,07	0,04	0,17	
	Lesão/Laser	0,11	0,06	0,05	0,16	
	Lesão/Laser e Andiroba	0,18	0,04	0,15	0,22	
48hs	Lesão	0,14	0,10	0,08	0,25	0.499
	Lesão e Andiroba	0,15	0,04	0,11	0,18	
	Lesão/Laser	0,24	0,11	0,11	0,32	
	Lesão/Laser e Andiroba	0,20	0,08	0,15	0,30	

Fonte: Dados resultantes do experimento (2016)

Teste da ANOVA (para comparação dos métodos)

* Os métodos diferem significativamente. (p-valor <0.05)

Tabela 2: Estatística Descritiva e Teste de Análise de Variância para a variável intervalo de tempo, da modulação da defesa antioxidante (CAT).

Intervalo	Método	Média	DP	Mínimo	Máximo	P-valor
6hs	Lesão	36,56	6,52	29,63	42,56	0.564
	Lesão e Andiroba	27,31	10,47	15,26	34,20	
	Lesão/Laser	41,69	13,81	27,07	54,52	
	Lesão/Laser e Andiroba	29,20	19,70	7,50	46,00	
12hs	Lesão	46,30	36,80	17,40	87,80	0.419
	Lesão e Andiroba	28,28	15,59	19,02	46,28	
	Lesão/Laser	19,48	1,47	18,12	21,04	
	Lesão/Laser e Andiroba	22,33	6,86	14,49	27,24	
48hs	Lesão	62,30	19,50	42,40	81,30	0.021*
	Lesão e Andiroba	22,18	15,54	8,78	39,22	
	Lesão/Laser	23,80	5,72	17,41	28,45	
	Lesão/Laser e Andiroba	46,10	10,52	34,09	53,66	

Fonte: Dados resultantes do experimento (2016)

Teste da ANOVA (para comparação dos métodos)

* Os métodos diferem significativamente. (p-valor <0.05)

Tabela 3: Estatística Descritiva e Teste de Análise de Variância para a variável intervalo de tempo, do dano muscular (CK).

Intervalo	Método	Média	DP	Mínimo	Máximo	P-valor
6hs	Lesão	548,20	127,90	420,30	676,10	0.474
	Lesão e Andiroba	808,00	1.219,00	12,00	2.211,00	
	Lesão/LASER	164,40	37,00	121,80	188,80	
	Lesão/Laser e Andiroba	81,20	40,60	36,50	115,70	
12hs	Lesão	95,40	86,20	42,60	194,90	0.271
	Lesão e Andiroba	77,10	35,70	36,50	103,50	
	Lesão/LASER	89,30	27,50	60,90	115,70	
	Lesão/Laser e Andiroba	160,40	34,60	121,80	188,80	
48hs	Lesão	16,20	18,60	0,00	36,50	0.189
	Lesão e Andiroba	77,10	55,30	36,50	140,10	
	Lesão/LASER	197,00	257,00	30,00	493,00	
	Lesão/Laser e Andiroba	274,10	101,70	182,70	383,70	

Fonte: Dados resultantes do experimento (2016)

Teste da ANOVA (para comparação dos métodos)

* Os métodos diferem significativamente. (p-valor <0.05)