

Humberto de Sousa Fontoura

**Influência das atividades antiinflamatórias da arnica
(*Lychnophora ericoides*) no tratamento de lesões musculares
através do uso da fonoforese.**

Brasília, 2007

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde
Doutorado em Ciências da Saúde

**Influência das atividades antiinflamatórias da arnica
(*Lychnophora ericoides*) no tratamento de lesões musculares
através do uso da fonoforese.**

Por: Humberto de Sousa Fontoura

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Bentes de Azevedo

Brasília, 2007

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde
Doutorado em Ciências da Saúde

**Influência das atividades antiinflamatórias da arnica
(*Lychnophora ericoides*) no tratamento de lesões musculares
através do uso da fonoforese.**

Por: Humberto de Sousa Fontoura

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Bentes de Azevedo

**Tese apresentada ao programa de
pós graduação em Ciências da
Saúde da Universidade de Brasília
como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Doutor em
Ciências de Saúde.**

Brasília, 2007

Humberto de Sousa Fontoura

Influência das atividades antiinflamatórias da arnica (*Lychnophora ericoides*) no tratamento de lesões musculares através do uso da fonoforese.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo Bentes de Azevedo – Presidente – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Jones de Oliveira Agne – Universidade Federal de Santa Maria.

Prof. Dr. Ricardo Jacó de Oliveira – Universidade Católica de Brasília.

Prof^a. Dr^a Mônica Pereira Garcia – Universidade de Brasília.

Prof^a. Dr^a. Jaqueline Rodrigues da Silva – Universidade de Brasília.

Prof. Dr. Jonatas de França Barros – Universidade de Brasília.

Dedicatória

A minha família que sempre acreditou e incentivou a minha vitória. Papai, mamãe, Karla, Cecília, Mirian e Julia, esta conquista é de vocês!

Agradecimentos

Agradeço especialmente a Deus, pai de toda sabedoria

Ao meu pai e a minha mãe, que em todo tempo foram o meu exemplo e nunca deixaram de me apoiar.

A minha esposa Mirian e minha pequena Julia, por compreenderem os meus longos períodos de ausência e mau humor.

Aos meus familiares, principalmente ao meu avô Umberto e em especial a minha vovozinha Odécia (*in memoriam*) que se orgulhava em dizer que tinha um neto doutor.

Ao Bira, Verônica, Raul e Natália pelas muitas acolhidas em Brasília

Ao meu Pastor Eurípedes e a todos os irmãos em Cristo que sempre me apoiaram em oração.

Aos meus “segundos” pais Rivalino e Lourdes, que sempre confiaram na minha conquista.

Aos meus “segundos irmãos” Valdemar e Thalita pela ajuda e apoio.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Bentes Azevedo, que teve muita paciência e sempre que precisei nunca negou compartilhar sua sabedoria.

Aos colegas José Odilon, Leila Ribeiro, Rone Evaldo e Paulo Antônio Lima, que compreenderam a minha ausência no trabalho e me apoiaram na conquista desta obra.

A Faculdade Latino Americana, Universidade Estadual de Goiás, Universidade Federal de Uberlândia, Universidade de Brasília e Centro de Ensino Superior de Catalão pela estrutura física disponibilizada para a realização desta obra.

Aos colegas Marcelo Francisco, Marcos Mota, Wesley Gomes, Idessânia, Arthur Francisco, Kaley Ricardo e Guilherme pelas contribuições científicas.

Ao meu grande aluno Marcelo Ribeiro, que se tornou um irmão, esta vitória é sua também.

A todos os colegas e técnicos do laboratório de morfologia e morfogênese.

A professora Mônica, minha “co-orientadora”, pelas excelentes considerações.

Ao professor Ricardo Jacó, orientador do mestrado, que me guiou nos primeiros passos no caminho da ciência.

Ao professor Jones Eduardo Agne, pela força na reta final desta luta.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização desta obra.

Porque a sabedoria serve de
sombra, como de sombra serve o
dinheiro; mas a excelência da
sabedoria é que ela dá vida ao seu
possuidor

Rei Salomão

Resumo

Influência das atividades antiinflamatórias da arnica (*Lychnophora ericoides*) no tratamento de lesões musculares através do uso da fonoforese.

A proposta deste estudo é avaliar as propriedades antiinflamatórias da arnica (*Lychnophora ericoides*), associada ao uso da fonoforese em ratos Wistar no tratamento de lesões musculares. Foram formados 3 grupos de tratamento. Um grupo recebeu sonificação com gel comercial à base de água. Outro grupo recebeu sonificação com gel à base de arnica. E um terceiro grupo apenas tratamento tópico com gel à base de arnica. Cada grupo tratado continha um controle interno, composto pela pata esquerda lesada e não tratada do mesmo animal. Um quarto grupo foi composto por animais que sofreram a lesão muscular, mas não receberam nenhum tratamento, tendo se formado, assim, o controle externo. As sessões de tratamento foram realizadas 24h, 48h, 72h e 96h após a lesão. Os grupos tratados com ultra-som receberam as ondas numa frequência de 1Mhz, intensidade de $0,5W/cm^2$, no modo pulsátil, por 9 minutos. Após o final de cada sessão, partes lesadas dos músculos foram obtidas e preparadas histologicamente para análise morfológica através de microscopia de luz e morfometria. Os resultados mostraram que houve redução gradual do processo inflamatório no grupo tratado com ultra-som e gel comercial e no grupo que recebeu aplicação de ultra-som e gel a base de arnica, quando comparados com seus respectivos controles internos e com o controle externo. Não foi observada no grupo tratado apenas com aplicação tópica de arnica, diminuição no processo inflamatório. Os controles internos dos grupos tratados com ultra-som e gel comercial e com ultra-som e gel de arnica tiveram um decréscimo no processo inflamatório quando comparados com o controle externo, o que confirma a atuação, no sistema imunológico, das ondas ultra-sônicas. O grupo tratado com ultra-som e gel de arnica apresentou significativa melhora na redução do edema, o que não foi observado nos outros grupos. Estes resultados permitem concluir que o ultra-som é um método efetivo na diminuição do processo inflamatório do tecido muscular pós-trauma agudo e que as propriedades antiinflamatórias da arnica agem de modo eficiente na diminuição do edema. Outra conclusão possível é que o ultra-som terapêutico possui uma provável ação no sistema imunológico podendo gerar resultados na diminuição do processo inflamatório em regiões distantes de sua aplicação e também que a fonoforese é um meio efetivo de entrega de fármacos nos tecidos subcutâneos, visto que apenas a aplicação tópica de gel de arnica não mostrou resultados semelhantes à aplicação do ultra-som terapêutico com gel de arnica, sobretudo, na diminuição do edema.

Palavras chaves: Ultra-som terapêutico; fonoforese; inflamação muscular aguda; arnica; *Lychnophora ericoides*; edema.

Abstract

Influence of the anti-inflammatory properties of the arnica (*Lychnophora ericoides*) in the treatment of muscular lesions associate to the use of the phonophoresis.

The proposal of this study is to evaluate the anti-inflammatory properties of the arnica (*Lychnophora ericoides*), associated to the use of the phonophoresis in rats Wistar in the treatment of muscular lesions. Three treatment groups were formed. A group received sonic application with commercial gel to the base of water. Another group received sonic application with gel to the arnica base. And a third group just topical treatment with gel to the arnica base. Each group treaty contained an internal control, composed by the harmed left paw and no treated of the same animal. A fourth group was composed by animals that suffered the muscular lesion, but they didn't receive any treatment, tends if formed, like this, the external control. The treatment sessions were accomplished 24, 48, 72 and 96 hours after the lesion. The groups treated with ultrasound received the waves in a frequency of 1Mhz, 0,5W/cm² intensity, in the pressed way, for 9 minutes. After the end of each session, harmed parts of the muscles were obtained and prepared histological methods for morphologic analysis through light microscopy and morfometry. The results showed that there was gradual reduction of the inflammatory process in the group treaty with ultrasound and commercial gel and in the group that received ultrasound application and gel the arnica base, when compared with their respective internal controls and with the external control. It was not observed in the group treated just with topical application of arnica, decrease in the inflammatory process. The internal controls of the groups treated with ultrasound and commercial gel and with ultrasound and arnica gel they had a decrease in the inflammatory process when compared with the external control, what confirms the performance, in the immunological system, of the ultrasonic waves. The group treaty with ultrasound and arnica gel presented significant it gets better in the reduction of the edema, what was not observed in the other groups. These results allow to conclude that the ultrasound is an effective method in the decrease of the inflammatory process of the muscle tissue after acute trauma and that the anti-inflammatory properties of the arnica act in an efficient way in the decrease of the edema. Another possible conclusion is that the therapeutic ultrasound possesses a probable action in the immunological system could generate results in the decrease of the inflammatory process in distant areas of his application and also that the phonophoresis is an effective middle of pharmaceuticals delivery in the subcutaneous tissue, because just the topical application of arnica gel didn't show results similar to the application of the therapeutic ultrasound with arnica gel, above all, in the decrease of the edema.

Key words: Therapeutic ultrasound; phonophoresis; muscle acute inflammation; arnica; *Lychnophora ericoides*; edema.

Lista de figuras

Figura 1 - principais substâncias isoladas de espécies do género <i>Lychnophora</i> .	32
Figura 2 – Mecanismo gerador da lesão por impacto segundo modelo de FILHO e colaboradores (2006).	45
Figura 3 – Animal anestesiado sendo submetido ao mecanismo gerador da lesão por impacto segundo modelo de FILHO e colaboradores (2006).	46
Figura 4 – Aspecto visual da lesão.....	53
Figura 5 – Aspecto visual da lesão após dissecação da pata lesada.....	54
Figura 6 – Fotomicrografias após 24h da lesão.	55
Figura 7 – Fotomicrografias após 48h da lesão..	57
Figura 8 – Fotomicrografias após 72h da lesão..	59
Figura 9 – Fotomicrografias após 96h da lesão.	61
Figura 10 – Fotomicrografias dos grupos tratados.	63
Figura 11 – Comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G1T, G2T e G3T.	64
Figura 12 – Comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G1T, G1C e G4.	65
Figura 13 – Comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G2T, G2C e G4.	66
Figura 14 – Comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G3T, G3C e G4.	67
Figura 15 – Comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G2C, G1C e G3C.....	68

Lista de tabelas

Tabela 1 – Nível de significância na comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G1T, G2T e G3T.64

Tabela 2 – Nível de significância na comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G1T, G1C E G4.65

Tabela 3 – Nível de significância na comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G2T, G2C e G4.66

Tabela 3 – Nível de significância na comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G3T, G3C E G4.67

Tabela 4 – Nível de significância na comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G1C, G2C e G3C.68

Lista de anexos

Anexo 1 – Declaração do comitê de ética e pesquisa.....97

Lista de abreviaturas

Ca⁺⁺ - íons cálcio

G1C – Grupo 1 controle interno

G1T – Grupo 1 tratado

G2C – Grupo 2 controle interno

G2T – Grupo 2 tratado

G3C – Grupo 3 controle interno

G3T – Grupo 3 tratado

G4 – Grupo 4 controle externo

HPETE - 5 Hidroxi Peroxi 6-8-11-14 Eicosa Tetra Enóico

Hz – Hertz

IL-1 – Interleucina 1

IL-6 - interleucina 6

kHz – Kilohertz

LPS – lipopolissacarídeo

m/s – metros por segundo

mg/kg – miligrama por quilo

MHz – Megahertz

mW/cm² – miliwatts por centímetro quadrado

PBS - tampão fosfato-salina

PGE - Prostaglandina E

PGE₂ - prostaglandina E₂

PGI₂ – prostaciclina

SATA – intensidade acústica temporal e espacial

TGFβ₁ – Fator de crescimento tumoral β₁

TNF – Fator de necrose tumoral

TNF α - fator de necrose tumoral α

TNFα - fator de necrose tumoral α

W/cm² - Watts por centímetro quadrado

µm – micrômetros

Sumário

RESUMO	IX
ABSTRACT	X
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS.....	XII
LISTA DE ANEXOS	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XIV
1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Inflamação.....	17
1.1.1. Fase aguda da inflamação	18
1.1.2. Fase crônica da inflamação	20
1.2. Tecido muscular.....	21
1.2.1. Mecanismos de lesão e inflamação muscular.....	23
1.2.2. Regeneração muscular	24
1.2.3. Tipos de lesão muscular	25
1.3. Arnica.....	28
1.3.1. A família Asteraceae.....	30
1.3.2. A química do gênero	30
1.4. Ultra-som	34
1.4.1. Princípios físicos do ultra-som.....	36
1.4.1.1. Correntes acústicas.....	36
1.4.1.2. Características das ondas ultra-sônicas	37
1.4.2. Efeitos biológicos do ultra-som	38
1.4.2.1. Fenômenos térmicos	39
1.4.2.2. Fenômenos atérmicos	40
2. JUSTIFICATIVA.....	42
3. OBJETIVOS.....	43
3.1. Objetivo geral	43
3.2. Objetivos específicos	43
4. MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1. Animais.....	44
4.2. Gel de arnica.....	44
4.3. Aparelho de ultra-som	44
4.4. Procedimentos	45
4.5. Microscopia óptica	48

4.6.	Morfometria	49
4.7.	Análise estatística.....	49
4.8.	Considerações sobre os materiais e métodos.....	49
5.	RESULTADOS.....	53
5.1.	Análise histológica por microscopia ótica	54
5.2.	Análise morfológica.....	64
6.	DISCUSSÃO	70
7.	CONCLUSÃO.....	77
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
	ANEXOS	97

1. INTRODUÇÃO

1.1. Inflamação

Inflamação é uma resposta do organismo à infecção ou à lesão; caracteriza-se por dilatação e aumento do fluxo sanguíneo local e da permeabilidade capilar com extravasamento de líquido para os espaços intersticiais. Em seguida a estes eventos, pode ocorrer a coagulação deste líquido, dependendo da quantidade de fibrinogênio e outras proteínas que atravessaram os capilares e da migração de granulócitos e monócitos para o tecido inflamado. A inflamação é classificada em aguda ou crônica, segundo a idade, duração ou tempode evolução do processo (MACINTYRE *et al.*, 1995).

Todo o organismo pode ser envolvido em um processo inflamatório, principalmente em situações onde o estímulo agressivo seja de alta intensidade. Nestes casos o sistema neuroendócrino é ativado e exerce mecanismos modulatórios de inibição do processo inflamatório, como, por exemplo, a produção de corticosteróides pelo córtex adrenal, ou, a facilitação do processo inflamatório pela insulina produzida pela porção endócrina do pâncreas (PORTH, 2004; ANDREAS *et al.*, 2007; PHILIP *et al.*, 2007).

Na maioria dos casos, o processo inflamatório age como uma defesa orgânica a uma injúria, isolando e/ou destruindo o agente agressor com o intuito final de facilitar o processo de reparação do tecido lesado seja por cicatrização ou por regeneração. Porém, em algumas situações a inflamação pode causar sérios danos ao organismo, visto que uma resposta exacerbada pode resultar em um mecanismo de auto lesão (ANDREAS *et al.*, 2007). A resposta orgânica a uma injúria, interna ou externa, pode-se dar pela liberação, ativação ou produção de uma série de mediadores químicos ou farmacológicos da inflamação que resultam em várias alterações locais, tais como: dilatação de vasos da microcirculação, aumento do fluxo sangüíneo e da permeabilidade vascular, extravasamento de líquido plasmático, formação de edema, diapedese de células para o meio extravascular, fagocitose, aumento da

viscosidade do sangue e diminuição do fluxo sangüíneo (SZANTO; ROSZER, 2007).

A intensidade do processo inflamatório, e o maior ou menor envolvimento de todo o organismo no seu reparo, dá-se de acordo a natureza do estímulo que inicia a inflamação, podendo este ser químico, físico ou biológico. O tipo de exsudado inflamatório agudo, se purulento, hemorrágico, fibrinoso, mucoso, seroso ou misto influenciará quanto ao curso da inflamação, que continuará aguda ou se poderá se tornar crônica. Mesmo a inflamação sendo local, todo o organismo é envolvido através do sistema nervoso e do sistema endócrino que agem na regulação do processo e na determinação do aparecimento de manifestações gerais, como a febre, leucocitose, taquicardia, fibrinólise e alterações bioquímicas do sangue (POTVIN *et al.*, 2007).

1.1.2. Fase aguda da inflamação

Na fase aguda da inflamação, as modificações do calibre e fluxo, aumento de permeabilidade e migração dos leucócitos são mais intensos e ocorrem concomitantemente com o aparecimento de dor, calor, rubor, edema e perda de função, considerados como os cinco sinais cardinais da inflamação (OLIVIER *et al.*, 2007; OREN *et al.*, 2007).

As alterações que ocorrem nos vasos sangüíneos da microcirculação nas primeiras horas após uma injúria subletal envolvem, em graus variados, a modificação no calibre dos vasos e no fluxo sangüíneo, o aumento da permeabilidade vascular e a exsudação de plasma e de células para o meio extravascular. Uma vez desenvolvida a reação inicial à injúria, a extensão da lesão local dependerá da intensidade, natureza e duração do estímulo lesivo, assim, se este for de curta duração, ou rapidamente anulado pelos mecanismos de defesa do organismo, as alterações inflamatórias sofrerão rápida resolução e/ou deixarão uma quantidade variável de tecido cicatricial na área lesada. Entretanto, muitos estímulos nocivos de duração mais longa podem fazer com que a injúria tissular continue além do período necessário para o desenvolvimento completo dos estágios iniciais do processo

inflamatório; neste caso as alterações subseqüentes na área afetada dependerão da natureza do agente lesivo (OLIVIER *et al.*, 2007; OREN *et al.*, 2007).

A inflamação aguda é de curta duração, podendo ser de alguns minutos ou horas a um ou dois dias, dependendo do estímulo causal, e suas principais características são a exsudação de fluidos e proteínas do plasma e migração de leucócitos, predominantemente neutrófilos. Por ser praticamente uniforme, pressupõe-se a participação de substâncias comuns no processo que são os mediadores químicos da inflamação (KLUFT; MAAT, 2002).

Dentre os mediadores químicos, destacam-se: as aminas vasoativas, como a histamina e a serotonina, que estão relacionadas com a primeira fase (aumento de permeabilidade capilar) e são normalmente estocadas em grânulos citoplasmáticos de mastócitos, basófilos e plaquetas, podendo causar vasodilatação; as proteases plasmáticas, como as do sistema complemento, que aumentam a permeabilidade vascular pela liberação da histamina de mastócitos e plaquetas representadas pelas anafilatoxinas C3a e C5a, inclusive, o C5a também ativa a via lipoxigenase em neutrófilos e macrófagos levando à formação de outros mediadores que aumentam a permeabilidade vascular; as cininas plasmáticas, formadas pela ativação do fator XII da coagulação sangüínea, ou de Hageman, levam à formação da bradicinina, potente agente vasodilatador e que aumenta a permeabilidade vascular (OLIVIER *et al.*, 2007; OREN *et al.*, 2007).

Os metabólitos do ácido araquidônico, pela via ciclooxigenase, também liberam mediadores químicos importantes na inflamação aguda, dentre eles destacam-se: a prostaciclina (PGI₂), que promove vasodilatação; o tromboxano A₂, que produz vasoconstrição e a prostaglandina E (PGE), que induz vasodilatação. Pela via lipoxigenase existem os endoperóxidos HPETE (5 Hidroxi Peroxi 6-8-11-14 Eicosa Tetra Enóico), que promovem vasoconstrição e aumento da permeabilidade vascular os leucotrienos C₄, D₄, E₄, responsáveis por vasoconstrição e aumento da permeabilidade vascular; e os leucotrienos

B4, que produzem aumento da permeabilidade vascular (KARIN *et al.*, 2007; MANTOVANI *et al.*, 2007).

Muitas respostas vasculares e celulares são mediadas por fatores químicos derivados da ação do estímulo inflamatório sobre células e plasma. Uma série desses mediadores, agindo em conjunto ou seqüencialmente, influencia a evolução da resposta inflamatória; porém, determinados estímulos, como toxinas, bactérias e isquemia, causam diretamente necrose celular, e o tecido necrosado, por sua vez, pode desencadear a secreção de mediadores da inflamação (MANTOVANI *et al.*, 2007).

1.1.2. Fase crônica da inflamação

A inflamação crônica caracteriza-se por ser menos uniforme e de duração mais longa, que pode ser de semanas a meses. Está associada à presença de linfócitos, macrófagos e plasmócitos, neoangiogênese e fibroplasia, além de destruição de tecidos. Geralmente tem seu início de forma insidiosa, ou seja, com baixo grau de resposta e de maneira assintomática, porém, em alguns casos, a inflamação crônica surge como conseqüência da inflamação aguda que não teve uma boa reparação (KLUFT; MAAT, 2002)

As inflamações crônicas inespecíficas podem ocorrer em virtude da persistência do estímulo causador da inflamação aguda ou por exposição continuada a agentes tóxicos, interferência no processo normal de cicatrização, devido a ataques repetidos de inflamação aguda e sob certas condições, como nas doenças auto-imunes (KLUFT; MAAT, 2002; MARTINDALE *et al.*, 2007).

No caso da inflamação muscular, o fator etiológico mais comum é o trauma, principalmente em esportes, sobretudo, naqueles em que ocorrem contatos entre participantes (FONTOURA; OLIVEIRA, 2005). Os mecanismos de lesão e inflamação muscular serão discutidos mais adiante.

1.2. Tecido muscular

O músculo é a estrutura motora do corpo humano e constitui 45% do peso corporal. Considerado o maior sistema orgânico dos mamíferos, é fundamental na homeostasia bioenergética, tanto em repouso como em exercício (GUYTON *et al.*, 1997; GROS *et al.*, 2005). Este tecido representa o principal local de transformação e de armazenamento de energia, sendo o destino final dos sistemas de suporte primários envolvidos no exercício, como o cardiovascular e o pulmonar (APPELL, 1990; GUYTON *et al.*, 1997; CAIOZZO, 2002; GROS *et al.*, 2005).

A fibra muscular é a unidade básica de organização histológica do músculo esquelético e se caracteriza por ser uma célula larga, cilíndrica, multinucleada e visível ao microscópio de luz (STEVENS; LOWE, 2001; RAMKUMAR, 2007). As fibras musculares agrupam-se formando fascículos visíveis a olho nu que, finalmente, se associam para formar os diferentes tipos de músculos. A fibra muscular isolada, o fascículo e o músculo no seu conjunto são revestidos por tecido conjuntivo, sendo que o ventre muscular por inteiro está envolvido por uma bainha conjuntiva denominada de epimísio. Membranas de tecido colágeno penetram do epimísio em direção ao interior do músculo, formando bainhas que rodeiam todos os fascículos chamadas de perimísio. Por sua vez, existe uma bainha delgada que reveste a fibra muscular individualmente, o endomísio (JUNQUEIRA, 2005; RAMKUMAR, 2007).

O tecido conjuntivo é importante na junção das unidades contráteis, pois forma, assim, grupos de unidades contráteis, o que possibilita a ação muscular e permite um grau de liberdade de movimentos entre elas. Esta arquitetura, possível pela presença do tecido conjuntivo, permite que as fibras musculares encontrem-se bem compactadas e ao mesmo tempo com certa independência uma das outras, sendo assim, cada fascículo pode movimentar-se de forma independente dos fascículos vizinhos.

Os vasos sanguíneos que irrigam o músculo esquelético seguem pelas membranas de tecido conjuntivo e ramificam-se para formar uma grande rede

de capilares em torno de cada uma das fibras musculares. Possuem uma estrutura sinuosa que permitem sua adaptação às alterações de comprimento das fibras, podendo alongarem-se, durante o alongamento muscular, e/ou tornarem-se sinuosos durante a contração (GUYTON *et al.*, 1997; LIEBER e FRIDÉN, 2001).

O diâmetro das fibras pode variar de 10 a 80 μ m, dependendo do músculo, podendo apresentar variações consideráveis dentro de um mesmo músculo. No processo fisiológico de crescimento, nota-se o aumento gradual do diâmetro nas fibras musculares. Porém este aumento também pode ser estimulado por trabalho muscular intenso; esta situação é conhecida como hipertrofia por uso. A hipotrofia por desuso é a situação inversa e resulta em adelgaçamento das fibras musculares, muito comum em músculos imobilizados (MCARDLE, 2003).

O sarcoplasma compõe uma matriz onde as miofibrilas encontram-se suspensas, é a estrutura responsável pelo fornecimento de energia às células musculares através da produção de adenosina-trifosfato, devido à grande quantidade de mitocôndrias nela encontrada. Outras organelas também são encontradas no sarcoplasma tais como o complexo de golgi e o retículo sarcoplasmático (HUARD *et al.*, 2002).

Cada fibra muscular contém milhares de miofibrilas de 1 a 2 μ m de diâmetro, onde se encontram dispostos, lado a lado, filamentos de miosina e actina. Estas fibras são revestidas por uma fina membrana chamada de sarcolema. Observa-se a presença de vários núcleos alongados provenientes dos mioblastos localizados na periferia das miofibrilas e também as chamadas células satélites, que são células não diferenciadas ou quiescentes localizadas entre a lâmina basal e a membrana plasmática (HUARD *et al.*, 2002). Estas células podem se diferenciar em mioblastos e assim permitir a regeneração muscular após a lesão (BISCHOFF, 1994).

1.2.1. Mecanismos de lesão e inflamação muscular.

Os traumas musculares são geralmente dolorosos; tornam o músculo lesado hipertônico e muito sensível, apresentando dor acentuada quando usado e certo alívio quando em repouso. Estes traumas são muito comuns em esportes profissionais e de recreação (CRISCO *et al.*, 1994), acontecendo mais nos membros superiores e inferiores (APPELL, 1990) por meio de vários mecanismos de lesão (PRISK; HUARD, 2003).

O contato ou impacto, a sobrecarga dinâmica e o uso excessivo (*over use*) são 3 mecanismos básicos de lesão (PRENTICE, 2002). Após a lesão muscular, uma série de eventos ocorrem em uma seqüência estereotipada e inter-relacionada. Considerando-se o aparelho locomotor, as lesões musculares são as mais comuns (CRISCO *et al.*, 1994) e são seguidas de degeneração da arquitetura muscular, rupturas de mitocôndrias e retículo sarcoplasmático, descontinuidade do sarcolema e necrose celular (TIDBALL, 1995).

Existem alguns métodos de indução de lesão como, por exemplo, por contusão (MINAMOTO; SALVINI, 2001; FILHO *et al.*, 2006), eletroestimulação (HILL *et al.*, 2003), exercícios físicos (SERRÃO *et al.*, 2003), desnervação (JAKUBIEC-PUKA *et al.*, 1999) e administração de miotoxinas (HILL *et al.*, 2003), que vêm sendo desenvolvidos na tentativa de entender as fases de degeneração das fibras musculares.

Ultra-estruturalmente, a lesão muscular é caracterizada por rompimento dos miofilamentos, anormalidade mitocondrial e do retículo sarcoplasmático, descontinuidade do sarcolema, desequilíbrio hidroeletrolítico, necrose celular reparo e produção de tecido fibroso (TIDBALL, 1995; SVERZUT; CHIMELLI, 1999; JÄRVINEM *et al.*, 2000; HUARD *et al.*, 2002).

A entrada excessiva de cálcio causada pela lesão do sarcoplasma ou do retículo sarcoplasmático, é considerada o principal mecanismo desencadeador

da lesão devido à perda da homeostase da fibra muscular e estímulo da proteólise cálcio-dependente (CHARGÉ; RUDNICKI, 2004). Imediatamente após a lesão observa-se a formação de edema e hematoma, o que dá início ao processo de regeneração dos tecidos. Há uma grande alteração de permeabilidade vascular em consequência da hemorragia e migração de células mononucleadas, macrófagos e linfócitos T, sendo que estes últimos secretam fatores de crescimento e citocinas que, dentre outras funções, aumentam a permeabilidade vascular (PRISK; HUARD, 2003).

O músculo lesado é caracterizado pela presença de infiltrado celular, sendo observados na fibra muscular basofilia, núcleos centralizados com nucléolos proeminentes e hipercontração dos miofilamentos pelo acúmulo de Ca^{++} (CARPENTER; KARPATI, 1984). As células inflamatórias mais comumente encontradas são os neutrófilos e os macrófagos, responsáveis pela fagocitose dos restos da necrose, o que geralmente ocorre de 6 às 24h após o trauma (HURME *et al.*, 1991).

1.2.2. Regeneração muscular

A liberação de fatores de crescimento, após a lesão muscular, promove a proliferação, diferenciação e fusão das células satélites (McLENNAN, 1996). As células satélites foram primeiramente relatadas por Mauro (1961), em estudo com músculos de sapos, quando detectou a presença destas células na periferia das miofibrilas, tornando-se este achado a base para confirmar que a fibra muscular possui capacidade de regeneração (CHARGÉ; RUDNICKI, 2004). No entanto, a resposta muscular à injúria vai depender do tipo do estímulo agressor e da extensão da lesão, podendo o músculo responder com a regeneração (JÄRVINEN *et al.*, 2000) ou formação de fibrose (KAARIAINEN *et al.*, 2000).

Para o sucesso da regeneração muscular, é importante que a lâmina basal, que separa o tecido epitelal do tecido conjuntivo subjacente e é rica em proteínas e polissacarídeos, esteja íntegra, pois ela servirá como base para a reconstrução da fibra muscular diminuindo a presença de fibroblasto e

colágeno para o desenvolvimento da nova fibra com o mínimo possível de fibrose. Havendo integridade da lâmina basal, o tempo em que a regeneração pode ocorrer é aproximadamente 7 dias, passando para 21 dias quando esta situação não ocorre (SVERZUT; CHIMELLI, 1999).

A secreção dos fatores de crescimento promove ainda a revascularização, passo importante no êxito da formação de nova fibra muscular (LEFAUCHEUR; SÉBILLE, 1995). Dentre os fatores de crescimento mais comuns, destacam-se o fator de crescimento fibroblástico básico e o fator de crescimento endotelial vascular, que permitem a proliferação da célula endotelial estimulada (MENETREY *et al.*, 2000).

Em termos gerais, o processo de regeneração, após a lesão muscular, pode ser didaticamente dividido em três fases. A primeira é a fase inflamatória, aguda ou de destruição, com duração de 0 a 7 dias, que apresenta edema no tecido, hematoma, exsudado fibrinoso e infiltrado inflamatório. Imediatamente após a lesão, há uma invasão de neutrófilos que promovem inflamação devido à liberação de citocinas seguidas do aumento no número de macrófagos que invadem o tecido muscular lesado realizando fagocitose. A segunda fase é a proliferativa, e dura de 7 a 21 dias, quando ocorre a fagocitose do tecido necrosado, coagulação de fibrina, proliferação de fibroblastos e crescimento sinovial e capilar. As sobras da fagocitose são eliminadas pelas células inflamatórias e há a produção de fibronectina, colágeno e de macrófagos, associada à regeneração muscular. A terceira fase é a da maturação e remodelamento, dura 21 dias ou mais e consiste de maturação das miofibras, diminuição gradual de capilares, organização das fibras de colágeno tipo I e restauração da capacidade funcional do músculo reparado (TIDBALL, 1995; JÄRVINEN *et al.*, 2000; KANNUS *et al.*, 2003).

1.2.3. Tipos de lesão muscular

Dependendo do mecanismo causador, vários tipos de lesão podem ser observados no sistema muscular. Dentre elas temos a distensão muscular, que caracteriza-se pelo alongamento exagerado do músculo, acompanhado de

algumas rupturas de fibras musculares, sendo uma lesão traumática aguda que envolve a unidade músculo-tendinosa. A força da lesão é indireta podendo ser por uso excessivo, mau uso ou hipercontração. Para ocorrer uma distensão, a falta de aquecimento e alongamento e o próprio cansaço muscular são fatores contribuintes, mas o agente causal é sempre um movimento forte de rápida contração ou um movimento exagerado contra uma grande resistência (APPELL, 1986; JÄRVINEN 2005).

As distensões são classificadas em distensão de primeiro grau, caracterizada por um trauma da unidade músculo-tendinosa, dor leve, edema e incapacidade que geralmente não prejudica a contração normal do músculo envolvido, embora esta seja dolorosa. A distensão de segundo grau é uma lesão moderada da unidade músculo-tendinosa, inclusive com laceração ou ruptura de um número pequeno de fibras musculares e tendinosas. Há o surgimento de dor moderada, edema e incapacidade devido à contração anormal, fraca e dolorosa do músculo envolvido. A distensão de terceiro grau mostra-se como uma ruptura completa da unidade músculo-tendinosa, a dor e o edema variam de mínimos a severos, sendo a contração do músculo afetado muito anormal, fraca ou inexistente e geralmente indolor (GARRETT 1996; MASSADA, 2003).

Já o estiramento muscular ocorre devido a um alongamento exagerado do músculo, sem rompimento de fibras, freqüentemente associado a uma dor muscular local que piora com o esforço, sendo que, na maioria das vezes, não há sinal de derrame sangüíneo. A falta de aquecimento e alongamento assim como as condições fisiológicas do músculo, contribui para a ocorrência do estiramento (ARMSTRONG, 1990; HUARD *et al.*, 2002).

Na ruptura muscular o rompimento das fibras musculares é total, sendo comum a perda de função do músculo, hipersensibilidade no ponto de ruptura e contração da massa muscular proxima ao rompimento. A dor na área lesada pode ser localizada ou irradiada para toda extensão do membro e o agente causal de uma ruptura é sempre um movimento forte de rápida contração ou

um movimento exagerado contra uma grande resistência (ARMSTRONG, 1990; HUARD *et al.*, 2002).

A contusão muscular é uma lesão traumática aguda decorrente de trauma direto aos tecidos moles provocando dor e edema, podendo ser leve ou chegar a uma grande infiltração de sangue nos tecidos circundantes. As contusões leves de músculos profundos provocam pouco edema e dor, com alguma rigidez, com movimentos normais da articulação acima e abaixo do músculo. As moderadas, quando ocorrem em músculos profundos, produzem edema moderado e dor, com limitação do ângulo de movimento articular acima e abaixo do músculo, geralmente deixando o músculo em espasmo. Nas contusões severas de músculos profundos, o edema é muito rápido e pode ser extremo em decorrência da hemorragia (MASSADA, 2003; TERO *et al.*, 2007).

1.3. Arnica

O uso das ervas medicinais é uma tradição antiga que independe de origem e cultura. Muito usado no oriente, difundiu-se pelo o ocidente, primeiramente para a Europa e depois para as Américas. No Brasil, a utilização de ervas medicinais também tem origem na cultura indígena e na influência afro-brasileira, além da tradição européia.

Existem hoje no mundo várias terapias que utilizam plantas medicinais, dentre elas podemos citar a homeopatia, a medicina tradicional chinesa, os florais de Bach, a aromaterapia etc. Atualmente, há evidências científicas da antiga crença dos ervanários de que as ervas são constituídas por complexos químicos mutuamente dependentes e que podem apresentar bons resultados quando suas partes ativas são usadas integralmente, ou em seu estado natural (STUART *et al.*, 1986).

O comércio destas plantas no Brasil ficou descoberto de controle legal até 1996, quando foi criada a Lei de Patentes (BRASIL 1996). Até então, as indústrias não se motivavam a pesquisar as plantas, visto que as descobertas e o desenvolvimento de medicamentos não poderiam ser seguramente explorados, mesmo porque não havia tecnologia para desenvolver este tipo de medicamento bem como a realização de estudos que garantissem a eficácia e a segurança destes tipos de fármacos (BRASIL, 2004).

A falta de estudos científicos, aliada ao alto preço de medicamentos no Brasil, faz com que as plantas medicinais coletadas no campo se tornem mais acessíveis a uma grande parte da população desprovida de poder aquisitivo. Outro fator importante é o fenômeno mundial da busca por medicamentos naturais aos quais se atribuem a vantagem, muitas vezes de uma forma enganosa, de que eles possuem menos reações adversas do que os medicamentos industrializados.

Estes fatores fazem com que, do ponto de vista científico, as plantas medicinais brasileiras se tornem bons objetos de estudo, pois carece-se de conhecimento científico (PINTO *et al.*, 2002).

O gênero *Lychnophora* pertence à família Asteraceae (ROBINSON, 1999), sendo natural do Cerrado brasileiro, comum nos estados de Goiás, Tocantins e Minas Gerais (SEMIR, 1991). Alguns autores sugerem que ela é exclusiva do Brasil (BOHMANN e ZDERO, *et al.*, 1980).

Pesquisas têm sido realizadas sobre a eficácia da arnica, principalmente na homeopatia (TETAU, 1987) e após procedimentos odontológicos, com a forma de tintura-mãe (FERNANDES, 1996; MACEDO, 1998). Estudos mostram também que o uso desta planta gera bons resultados na aceleração de processos cicatriciais (LUSSIGNOLI *et al.*, 1999; MIRANDA, 2001; FACURY NETO, 2001), como agente antimicrobiano (KOO *et al.*, 2000); como antiinflamatório, sendo utilizada em procedimentos odontológicos (MACEDO, 1998) e feridas cutâneas (MIRANDA 2001); como antifúngico; antiviral, na regeneração de tecidos (KOO *et al.*, 2000); em hematomas pós-operatórios (RAMELET *et al.*, 2000) e no controle da dor e do edema (FERNANDES, 1996).

Borsato e colaboradores (2000) utilizaram extrato diclorometano da raiz da *Lychnophora ericoides* (arnica), que continha lignana cubebina e metilcubebina, que são substâncias antitérmicas e analgésicas. Foi possível observar como resultado a analgesia no teste nociceptivo de contorções abdominais, induzidas por ácido acético em camundongos, justificando, desta forma, o uso popular da arnica. Todavia, estes compostos foram ineficazes para reduzir a febre induzida por injeção endovenosa de lipopolissacarídeo (LPS) e o edema produzido por injeção intraplantar de carragenina.

1.3.1. A família Asteraceae

A família Asteraceae é uma das maiores do reino vegetal, possui cerca de 1.530 gêneros e mais de 20.000 espécies, entre as quais se encontram árvores, arbustos, subarbustos e plantas herbáceas. Representa cerca de 10% da flora mundial e possui ampla distribuição em todos os continentes (BREMER, 1994). As propriedades medicinais encontradas nas plantas pertencentes a esta família têm despertado o interesse de estudiosos quanto à sua morfologia, anatomia, ontogenia, ecologia, fitoquímica, citogenética e estrutura macromolecular (BREMER, 1996; HIND; BEENTJE, 1996).

1.3.2. A química do gênero

A subtribo Lychnophorinae, pertencente à família Asteraceae e à tribo Vernonieae, possui alguns de seus gêneros endêmicos no Brasil, como *Eremanthus*, *Minasia* e *Lychnophora*.

Por ser facilmente encontrada em grande parte do território brasileiro, é possível afirmar que a *L. Ericoides* é a espécie mais utilizada no Brasil, porém, o uso indiscriminado, e certas vezes predatório, tornou-a uma espécie da flora brasileira ameaçada de extinção (BRASIL, 1992).

Nos últimos anos, várias substâncias ativas da arnica foram identificadas (DELGADO *et al.*, 2001). Substâncias de natureza terpenoídica (HERZ, 1996) e flavonoídica (KING, 1986) conferem à subtribo um perfil químico uniforme, tendo assim importante caráter quimiotaxonômico. Na maioria das espécies estudadas foram detectadas flavonas, flavonóis, lactonas e sesquiterpênicas, sendo mais comum as dos tipos furanoeliangolídeos e glaucolídeos.

Detectou-se também triterpenos, sesquiterpenos, açúcares, taninos, esteróides e ácidos graxos de cadeia longa e seus ésteres (BOHLMANN *et al.*, 1981; CUNHA, 1994; BAZON *et al.*, 1997; BORELLA *et al.*, 1998; BORSATO *et al.*, 2000; GOBBO-NETO, 2002; GRAEL, 2003; JORDÃO, 2003; SANTOS *et al.*, 2005).

Duarte (1993a) catalogou as principais substâncias isoladas de espécies do gênero *Lychnophora* (Figura 1).

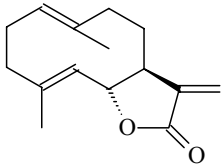
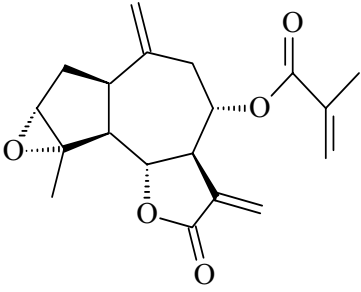
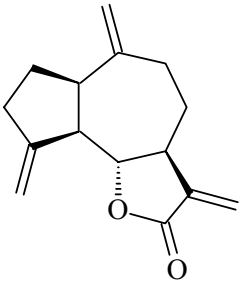
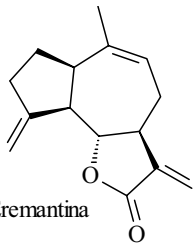
 <p>Costunolídeo</p>	<p><i>L. ericoides</i> Gardn. <i>L. haheafolia</i> Mart. <i>L. passerina</i> Gard.</p>
 <p>Estafantina</p>	<p><i>L. ericoides</i> Gardn. <i>L. salicifolia</i> Mart.</p>
 <p>Desidrocostunolactona</p>	<p><i>L. ericoides</i> Gardn. <i>L. salicifolia</i> Mart. <i>L. passerina</i> Gardn.</p>
 <p>Eremantina</p>	<p><i>L. rupestris</i> Semir; Leitão Filho <i>L. crisper</i> Mattf. <i>L. passerina</i> Mart. <i>L. ericoides</i> Gardn. <i>L. uniflora</i> Sch. Bip. <i>L. columnaris</i> Mattf.</p>

Figura 1 - principais substâncias isoladas de espécies do gênero *Lychnophora*

O extrato alcoólico ou glicólico são os mais utilizados na preparação de substâncias a base de arnica pelas empresas de fitoterápicos. Estes extratos são comercializados para fins analgésicos, principalmente de distúrbios musculares ou doenças reumáticas, e também como antiinflamatórios e cicatrizantes (KAZIRO, 1984; PINSENT *et al.*, 1984; GIBSON *et al.*, 1991; TETAU, 1993; BORSATO *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2005).

Santos, 2006, afirmam que as propriedades farmacológicas da arnica são distribuídas em partes distintas da planta, sendo que as raízes possuem propriedades analgésicas e as folhas possuem atividades analgésicas e antiinflamatórias. No mesmo trabalho, foi observado que o ácido clorogênico extraído da *L. ericoides* possui propriedade tanto analgésica como antiinflamatória, mas não antipirética.

1.4. Ultra-som

A utilização do ultra-som iniciou-se no começo do século XX com a criação dos sonares utilizados em manobras militares para a monitorização e detecção de submarinos. Esta técnica é denominada de método pulso-eco. Com o avanço das pesquisas e com a descoberta de que estas ondas produzem calor em tecidos biológicos, verificou-se a possibilidade do uso do ultra-som nas ciências da saúde e este passou então a ser utilizado como recurso terapêutico após 1930, sobretudo, com o intuito de gerar calor profundo (OKUNO; CALDAS; CHOW, 1986). Atualmente, é um dos recursos mais utilizados para o tratamento de lesões do sistema musculoesquelético dentro da fisioterapia (GUIRRO *et al.*, 2001).

O aparelho de ultra-som é capaz de gerar vibrações mecânicas inaudíveis, de alta frequência, que podem produzir efeitos fisiológicos térmicos e atérmicos (MARK *et al.*, 2002). São utilizadas as frequências de 0,7 a 5,0 MHz para fins terapêuticos no modo pulsado (com intervalos constantes de emissão da onda ultra-sônica) ou contínuo (PAULA, 1994).

A vibração de alta frequência (0,7 a 5,0 MHz) gerada pelo ultra-som tem dificuldade de deslocamento pelo ar, onde a velocidade do som é superior a 300m/s. Considerando-se que na água a velocidade do som é 5 vezes maior que no ar (1.500m/s), a onda ultra-sônica encontra neste meio maior facilidade de propagação (KITCHEN; BAZIN, 1998). Assim, forma mais utilizada como acoplante do cabeçote do aparelho de ultra-som é o gel a base de água pela sua alta capacidade de cessar as impedâncias causadas pelas interfaces transdutor-abertura gasosa-pele, evitando assim a reflexão das ondas ultra-sônicas (WILLIAMS, 1982; CASAROTTO, 1999).

Para que as ondas ultra-sônicas sejam formadas, o aparelho deve ser dotado de um gerador de radiofrequência responsável pela produção de correntes de alta frequência para excitar um transdutor. Este é formado por um cristal, situado entre eletrodos, capaz de converter energia elétrica em energia mecânica graças à deformação sofrida por este cristal pelo efeito piezoelétrico

(KOTTKE; LEHMANN, 1994; AGNE, 2006). A magnitude da frequência produzida será inversamente proporcional à espessura do material piezoelétrico utilizado como, por exemplo, o zirconato-titanato de chumbo, ocorrendo, portanto, maior frequência com cristais de menor espessura (GUIRRO; GUIRRO, 1996).

Quanto maior a frequência de ondas ultra-sônicas emitidas, maior a absorção destas pelos tecidos biológicos. Quando absorvidas, são convertidas em calor, responsáveis então pela sensação de aquecimento profundo quando utilizado o modo contínuo (KOTTKE; LEHMANN, 1994). Portanto, para que o ultra-som atinja os tecidos lesados, é necessário verificar a profundidade destes e ajustar o aparelho para uma frequência ideal (MERRICK *et al.*, 2002).

Segundo Kottke e Lehmann (1994), a intensidade ideal para que ocorra uma cicatrização uniforme de tecidos moles em menor tempo é de 0,5 W/cm² (SATA – intensidade acústica temporal e espacial). Já para Dyson (1990), uma intensidade mais baixa é suficiente para que ocorra o efeito fisiológico necessário, visto que altas intensidades podem resultar em lesões. Ainda conforme Kitchen e Basin (1998), o uso do ultra-som, mesmo o modo pulsado, no qual a geração de calor é menor quando comparada à mesma frequência com o modo contínuo, resulta na estimulação de efeitos fisiológicos e reparadores tais como reparo do tecido mole e aumento do fluxo sanguíneo em tecidos com isquemia crônica.

Saad e Atlas (1995) afirmam que o ultra-som pode ser utilizado com outras substâncias, principalmente com o intuito de administração de substâncias ativas antiinflamatórias. Este é o conceito de fonoforese que é uma variante do ultra-som terapêutico direto, no qual substâncias biologicamente ativas são combinadas ao ultra-som, para serem transportadas através dos tecidos. Em revisão de literatura, Saad e Atlas (1995) concluíram que parece haver elementos suficientes para que a fonoforese seja usada com confiança.

Devido à fonoforese, várias substâncias têm sido utilizadas como meio acoplante, como água, vaselina, óleo mineral e gel, as mais comumente utilizadas (CASAROTTO, 1999).

O uso de medicamentos, devidamente prescritos pelo médico responsável, em forma de pomadas, em sua maioria antiinflamatórios, como o diclofenaco de sódio, sobretudo no tratamento de inflamações musculares, tem aumentado (GAN AM; JOHANEN, 1995).

1.4.1. Princípios físicos do ultra-som

1.4.1.1. Correntes acústicas

As ondas ultra-sônicas, como toda onda mecânica, necessitam de matéria para transmitir sua energia. Quando em contato com a matéria, estas ondas causam uma oscilação nas posições de equilíbrio das suas partículas. Essa oscilação sofre resistência de forças elásticas, variáveis e dependentes da estrutura molecular desta matéria (FREDERICK, 1965; AGNE, 2006).

Com frequências variando de 20.000 a 20.000.000 Hz, estas ondas propagam-se como ondas de pressão e compressão capazes de causar oscilação molecular em todos os meios: sólido, líquido ou gasoso (TER HAAR, 1987).

Como os tecidos moles do corpo humano são considerados como fluido, somente um dos três tipos de onda produzidos pelo ultra-som (estacionária, transversal e longitudinal) é de interesse deste trabalho, que é a do tipo longitudinal, também conhecido como depressão. Elas causam oscilações nas moléculas na mesma direção de propagação da onda, sendo as únicas produzidas nos meios líquidos e gasosos (WELLS, 1977; CASAROTTO, 1999), isto é, quando um feixe de ondas atravessa várias interfaces e estas não sofrem resistência que as façam mudar sua direção, ocorrerá formação ou propagação de ondas longitudinais.

As ondas transversais são geradas devido a desvios da direção de feixes acústicos, causados pelo encontro destes feixes com uma superfície de importância acústica e de valor diferente, sendo que as ondas estacionárias originam-se do retorno de feixes acústicos que se encontram com uma superfície de impedância acústica de maior, menor ou de igual valor.

1.4.1.2. Características das ondas ultra-sônicas

As ondas ultra-sônicas possuem 6 características importantes:

1. **Frequência:** relativa ao número de vezes que uma molécula realiza um ciclo oscilatório por segundo ou por outra unidade de tempo.
2. **Potência** que é expressa em Watts correspondendo à energia total do feixe em um intervalo de tempo.
3. **Amplitude** que corresponde ao deslocamento máximo obtido por uma partícula tendo como referência sua posição de equilíbrio.
4. **Comprimento** correspondente à distância entre regiões adjacentes de compressão e rarefação máxima, cujas partículas encontram-se no mesmo estado de movimento, num dado instante de tempo.
5. **Período** corresponde ao intervalo de tempo necessário para que uma molécula realize um ciclo completo de movimento.
6. **Velocidade de propagação** que é a distância percorrida pela onda por unidade de tempo, dependendo do tipo de onda ultra-sônica e das constantes elásticas do meio em que se propaga (TER HAAR, 1987; GUIRRO; GUIRRO, 1996)

Nos tecidos moles do corpo humano esta velocidade é, em média, de 1500 m/s, sendo maior no meio gasoso e menor nos meio líquido e sólido (AGNE, 2006). A intensidade e campo acústico são as características pela qual uma partícula adquire energia cinética, para que isto ocorra é necessário que uma onda atravesse um meio onde esta partícula encontra-se e a faça vibrar, gerando esta energia. Quando um fluxo de energia atravessa uma determinada área, em um dado espaço de tempo, temos a intensidade acústica, que é medida em Watts/cm² (KITCHEN; BAZIN, 1998).

As formas de propagação dependem do tipo de geração de energia. Existem dois modos: o contínuo, no qual a energia depositada sobre o tecido não sofre interrupção, isto é, o fluxo longitudinal das ondas é contínuo (HIKES *et al.*, 1985; KITCHEN; BAZIN, 2003), e o intermitente ou pulsátil, em que a energia sofre interrupções freqüentes na sua propagação, sendo intercalada com pausas, de forma que o efeito térmico é minimizado por um atrito menos constante devido à interrupção da vibração; assim, o efeito mecânico do ultra-som pulsado é de maior magnitude do que o efeito térmico (HIKES *et al.*, 1985; KITCHEN; BAZIN, 2003).

Dependendo da constituição do tecido, as ondas ultra-sônicas penetram com mais ou menos facilidade; temos, assim, a impedância acústica que ocorre devido às diferentes densidades dos tecidos. Deste modo, quatro fenômenos podem ocorrer quando a onda ultra-sônica passa pelos tecidos. A reflexão, que ocorre quando uma onda sonora atinge o limite entre diferentes tecidos e reflete em direção negativa mantendo a mesma velocidade de propagação; a quantidade de energia refletida depende da impedância acústica específica de cada tecido e do ângulo de incidência. A refração, também chamada de transmissão, ocorre quando a onda sonora atinge o limite entre diferentes tecidos e continua propagando-se, porém com velocidade e sentido alterados devido às características do novo meio. A absorção ocorre quando o tecido absorve as ondas ultra-sônicas; as ondas de alta freqüência são absorvidas mais rapidamente que as de baixa freqüência; assim, em um aparelho com transdutor de 1 MHz, a onda ultra-sônica é absorvida entre 5 e 10cm de profundidade e no de 3 MHz ela é absorvida a mais ou menos 5cm de profundidade (HIKES *et al.*, 1985; YOUNG; DYSON, 1990; KITCHEN; BAZIN, 2003). A difração, que ocorre quando as ondas encontram algum obstáculo em sua trajetória, e sofre desvio sobre sua propagação (GUIRRO; GUIRRO, 1996).

1.4.2. Efeitos biológicos do ultra-som

Quando as ondas ultra-sônicas atravessam um tecido, parte delas é absorvida, podendo elevar a temperatura do tecido, promovendo uma resposta fisiológica idêntica à de outras situações em que ocorrem elevações da

temperatura, como nos processos inflamatórios. Este aumento de temperatura provoca respostas orgânicas que podem ser benéficas ou provocar lesões (DYSON; SUCKLING, 1987).

1.4.2.1. Fenômenos térmicos

O aumento da temperatura do tecido causado pela absorção das ondas ultra-sônicas provoca um ligeiro aumento na extensibilidade de estruturas ricas em tecido colágeno (tendões, ligamentos e cápsulas articulares), e, conseqüentemente, um relaxamento muscular, com aumento da circulação local, que resulta em diminuição do espasmo e da dor (DYSON; SUCKLING, 1987).

Algumas estruturas possuem maior capacidade de absorção devido a fatores como a composição do tecido. O tecido muscular, que é rico em proteínas, absorve mais energia que áreas subcutâneas, ricas em gordura. Quanto maior a irrigação sangüínea do tecido, maior a dissipação de calor; a taxa de absorção do ultra-som aumentam com sua freqüência (DYSON; SUCKLING, 1987), sendo assim, altas freqüências podem provocar lesões celulares e teciduais.

O efeito térmico do ultra-som, quando utilizado corretamente, é uma vasodilatação local, aumentando o fluxo sanguíneo e contribuindo para o tratamento de vários distúrbios; em contrapartida, a produção de calor exagerada, devido à absorção destas ondas, pode provocar queimaduras internas.

Segundo Williams (1982), o aumento de temperatura provocado pelas ondas ultra-sônicas depende do coeficiente de absorção do tecido, da intensidade, distribuição, propagação e freqüência da onda, do tempo e forma de aplicação (estacionária ou móvel) e do tamanho da superfície de aplicação.

1.4.2.2. Fenômenos atérmicos

Quando frequências mais baixas de ondas são utilizadas, minimizam-se os efeitos térmicos do ultra-som e outros mecanismos desta energia mecânica continuam atuando no tecido na ausência do calor (DYSON; SUCKLING, 1987).

Dentre os efeitos possíveis numa aplicação ultra-sônica existe a cavitação, termo usado para descrever a formação de cavidades ou bolhas no meio líquido que contem quantidades variáveis de gás ou vapor. No caso de tecidos biológicos ou macromoléculas em suspensão aquosa, o ultra-som pode alterá-las estruturalmente e/ou funcionalmente através deste fenômeno (FRIZZEL; DUNN, 1984).

Dentre os modos de cavitação, temos a transiente, que requer intensidades muito altas (10 W/cm^2) para ocorrer e é extremamente danosa (LEITE, 1989). A pressão negativa no tecido durante a rarefação pode fazer com que os gases dissolvidos ou capturados se juntem para formar bolhas. O colapso dessas bolhas libera energia, que pode romper as ligações moleculares, o que causa uma verdadeira implosão celular, provocando o surgimento de radicais livres H^+ e OH^- , capazes de provocar mudanças químicas pelo seu alto poder de reação (OKUNO *et al.*, 1986; TER HAAR, 1987).

A cavitação estável ocorre quando estas bolhas formadas pela passagem da energia ultra-sônica não se rompem, apenas oscilam. Esta oscilação é responsável pelo estímulo do tecido e, conseqüentemente, alteração na permeabilidade da membrana, sobretudo, com relação aos íons cálcio e sódio, favorecendo o reparo tecidual pelo estímulo à síntese protéica (YOUNG; DYSON, 1990; MORTIMER; DYSON, 1988).

HILL (1972) e HAAR e colaboradores (1982) determinaram a intensidade limiar de ocorrência de cavitação em meio aquoso ($0,1 \text{ W/cm}^2$) e “in vivo” ($0,2 \text{ W/cm}^2$) respectivamente.

Outro efeito biológico que pode ocorrer devido às forças de radiações geradas por fluxos e microfluxos que correspondem a movimentos em fluidos submetidos à energia ultra-sônica é a reorientação de partículas intercelulares ou mesmo células com relação às suas configurações normais. Isto facilita a permeabilidade da membrana contribuindo para a fase do reparo em uma lesão. Estas forças podem deslocar, distorcer e/ou reorientar ainda a movimentação, síntese, e secreção celular dependendo do tecido (DYSON; SUCKLING, 1987; HADAAD, 1992).

2. Justificativa

A importância deste trabalho dá-se pelo fato das propriedades antiinflamatórias da arnica e do uso do ultra-som terapêutico já terem sido comprovados individualmente, porém não foram encontrados trabalhos que utilizem as propriedades antiinflamatórias da arnica associadas ao ultra-som terapêutico na inflamação muscular aguda.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Avaliar as propriedades antiinflamatórias da arnica (*Lychnophora ericoides*), no tratamento de lesões musculares, associado ao uso da fonoforese em ratos Wistar.

3.2. Objetivos específicos

- Comparar a evolução do tratamento dos animais submetidos ao ultra-som terapêutico associado ao gel a base de arnica com a dos animais submetidos ao ultra-som com gel comercial e com a dos animais submetidos a aplicação tópica de gel a base de arnica, referente as características histopatológicas.

- Comparar se a evolução do tratamento dos animais submetidos ao ultra-som terapêutico associado ao gel a base de arnica com a dos animais submetidos ao ultra-som com gel comercial e com a dos animais submetidos a aplicação tópica de gel a base de arnica possuem as mesmas características histopatológicas do controle interno e externo.

- Avaliar a influência sistêmica do uso do ultra-som terapêutico no processo inflamatório agudo proveniente de uma lesão muscular.

4. Materiais e métodos

4.1. Animais

Ratos Wistar machos (n=48), pesando em média 325 gramas e com aproximadamente 75 dias de vida, adquiridos da empresa Bioagri localizada no município de Planaltina-DF. Os animais foram mantidos em biotério e ciclo claro/escuro de 12/12 horas. Todos os ratos tiveram livre acesso à água e à ração comercial da marca Purina[®]. Durante a pesquisa, os animais permaneceram no laboratório de histologia do Centro de Ensino Superior de Catalão – CESUC, onde foram mantidos em situação semelhante ao do biotério.

4.2. Gel de arnica

O gel de arnica foi manipulado a partir de extrato glicólico de arnica (*Lychnophora ericoides*) a 10%. pela farmácia Pharmantiga[®] localizada no município de Anápolis-GO. Foram utilizadas partes das folhas e das raízes da planta para a fabricação do extrato glicólico e optou-se pela concentração de 10% devido à viscosidade necessária para o uso do gel, visto que a 20% o gel tornava-se mais aquoso, dificultando a sua utilização acoplado ao cabeçote do aparelho de ultra-som.

4.3. Aparelho de ultra-som

O aparelho utilizado foi o modelo Sonopulse Special 1.0 Mhz e 3.0 Mhz, fabricado pela empresa Ibramed, que possui as seguintes características, conforme o fabricante: equipamento microcontrolado, com frequência de ultra-som de 1.0Mhz ou 3.0Mhz no mesmo cabeçote, emissão contínua e pulsada (razão de pulso de 1/5 a uma frequência de 100Mhz), intensidade regulável de 0,1 a 2W/cm² e ERA de 1cm. O aparelho foi devidamente calibrado pela fábrica e foi adquirido *para* ser utilizado exclusivamente *neste* trabalho.

Optou-se pelo ultra-som de 1MHz do modo pulsado (razão de pulso 1:5), intensidade de $0,5W/cm^2$ no modo estacionário, por ser o mais utilizado pelos fisioterapeutas segundo pesquisa de WANDER; MCMEEKEN (2002).

4.4. Procedimentos

Após anestesia intraperitoneal com Ketamina 10mg/kg e Xilazina 4mg/kg de peso corporal diluído em 1ml de solução fisiológica, os animais (n= 48) sofreram trauma muscular gerado pelo impacto de um peso de 300 gramas solto a 30 cm de altura no tríceps sural e isquiotibiais das patas traseiras (Figura 2 e 3).



Figura 2 – Mecanismo gerador da lesão por impacto segundo modelo de FILHO e colaboradores (2006).



Figura 3 – Animal anestesiado sendo submetido ao mecanismo gerador da lesão por impacto segundo modelo de FILHO e colaboradores (2006).

Todo o experimento foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética no uso animal – CEUA do instituto de ciências biológicas – IB da Universidade de Brasília – UnB (anexo 1).

A amostra foi composta de 4 grupos divididos da seguinte forma:

Grupo 1 (n=12): Neste grupo, após 24 horas da lesão, a pata direita do animal foi tratada com ultra-som terapêutico no modo pulsátil a uma frequência de 1 MHz com intensidade de 0,5 W/cm² por 9 minutos (conforme indicação do aparelho), 1 vez ao dia durante 4 dias seguidos (24, 48, 72 e 96 horas), utilizando como acoplante uma substância formada por gel ultra-sônico a base de água da marca carbogel. A pata esquerda serviu como controle interno e recebeu o acoplamento do cabeçote pelo mesmo tempo, porém com o aparelho desligado e sem a presença do gel, seguindo assim, o mesmo protocolo da pata tratada. Desta forma, para fins didáticos, o grupo foi subdividido em dois:

G1T = Grupo 1 tratado, refere-se a pata direita que recebeu tratamento com ultra-som e gel comercial

G1C = Grupo 1 controle, refere-se a pata esquerda que foi submetida ao uso do ultra-som desligado, controle interno.

O G1T e G1C pertencem portanto ao mesmo animal.

Grupo 2 (n=12): Neste grupo, após 24h da lesão a pata direita do animal foi tratada com ultra-som terapêutico no modo pulsátil a uma frequência de 1 MHz com intensidade de 0,5 W/cm² por 9 minutos, 1 vez ao dia durante 4 dias seguidos (24, 48, 72 e 96 horas), utilizando como acoplante uma substância formada por gel com extrato glicólico de arnica a 10%. A pata esquerda serviu como controle interno e recebeu o acoplamento do cabeçote pelo mesmo tempo, porém com o aparelho desligado e sem a presença do gel, seguindo assim, o mesmo protocolo da pata tratada. Desta forma, para fins didáticos, o grupo foi subdividido em dois:

G2T = Grupo 2 tratado, refere-se a pata direita que recebeu tratamento com ultra-som e gel com extrato glicólico de arnica a 10%.

G2C = Grupo 2 controle, refere-se a pata esquerda que foi submetida ao uso do ultra-som desligado, controle interno.

O G2T e G2C pertencem portanto ao mesmo animal.

Grupo 3 (n=12): Neste grupo, após a instalação da inflamação, a pata direita do animal foi tratada com aplicação tópica 1 vez ao dia durante 4 dias seguidos (24, 48, 72 e 96 horas) do gel de extrato glicólico de arnica a 10%. A pata esquerda serviu como controle interno e recebeu a aplicação tópica de gel a base de água da marca carbogel seguindo o mesmo protocolo da pata tratada. Desta forma, para fins didáticos, o grupo foi subdividido em dois:

G3T = Grupo 3 tratado, refere-se a pata direita que recebeu tratamento com aplicação tópica de gel com extrato glicólico de arnica a 10%.

G3C = Grupo 3 controle, refere-se a pata esquerda que foi submetida a aplicação tópica de gel a base de água da marca carbogel, controle interno.

O G3T e G3C pertencem, portanto ao mesmo animal.

Grupo 4 (n=12): Neste grupo, os animais não foram tratados (controle positivo) em nenhum momento após a lesão, didaticamente denominado de **G4**. As patas esquerdas destes animais não foram lesadas, e serviram de controle negativo por não apresentarem lesão.

Foi realizada a tricotomia da região glútea bilateral para a aplicação do tratamento em todas as patas lesadas dos grupos G1, G2 e G3.

Antes das sessões de tratamento, os animais eram anestesiados com solução de Ketamina 10mg/kg e Xilazina 4mg/kg de peso corporal diluídos em 1ml de solução fisiológica. Duas horas após o tratamento ocorria a coleta de sangue dos animais por punção cardíaca, havendo, posteriormente, o primeiro sacrifício de um animal de cada grupo. Este procedimento se repetiu após 48, 72 e 96 horas.

4.5. Microscopia óptica

Partes do músculo contendo a área lesada foram obtidas pela retirada, de tendão a tendão, do músculo inteiro (tríceps sural e isquiotibiais) em cortes medianos e posteriormente fixados em solução de formol em PBS a 10% durante 24h. Depois, desidratados em álcool a 70% por mais 24h. Após este período, continuou-se a desidratação dos tecidos em concentrações crescentes de álcool etílico, a saber, 80%, 85%, 90% e 95% durante 30 minutos em cada concentração e em 3 banhos a 100% de 30 minutos cada. Posteriormente foram submetidos a 3 banhos de xilol de 30 minutos cada, seguidos de 3 banhos de parafina de 30 minutos cada e incluídos em blocos individuais de parafina com o músculo disposto longitudinalmente. As peças foram cortadas em micrótomo Leica com 5 μ m de espessura, sendo as lâminas coradas pelo

método hematoxilina e eosina, para análise histológica e fotomicrografia, utilizando-se para isso, um microscópio da marca Zeiss.

4.6. Morfometria

A contagem de células inflamatórias foi realizada utilizando-se o software Imagepro 5.0. Para obtenção das imagens analisadas, foram confeccionadas 12 lâminas por pata lesada, cada uma delas com 3 cortes. As lâminas foram numeradas de 1 a 12, e após isto, ocorreu o sorteio de 4 lâminas de cada grupo. Separada as 4 lâminas de cada grupo, numerou-se os cortes de cada lâmina de 1 a 3 e sorteou-se 1 corte de cada lâmina, obtendo-se, assim, um total de 4 cortes por grupo de tratamento. Após separar os cortes sorteados, fotografou-se aleatoriamente os cortes na objetiva de 20x e as células inflamatórias foram contadas.

4.7. Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados por teste t de Student, a um nível de significância fixado em $P < 0,05$ (5%).

4.8. Considerações sobre os materiais e métodos

O modelo ideal de tratamento para a avaliação das propriedades antiinflamatórias da arnica (*Lychnophora ericoides*) no tratamento de lesões musculares através do uso da fonoforese é o humano, porém, as exigências dos padrões éticos para este tipo de trabalho dificultam muito a obtenção de resultados. Optou-se então pelo modelo animal, mais especificamente o rato por ser largamente utilizado em pesquisas científicas. Estudos-pilotos desenvolvidos com coelhos albinos e camundongos Balb C não apresentaram bons resultados; os coelhos apresentam um metabolismo muito acelerado, o que poderia mascarar os resultados, e os camundongos, pelo pequeno tamanho das patas, não permitiram uma boa acoplagem do cabeçote do ultrassom, o que poderia causar refração das ondas sonoras e prejuízo no tratamento.

O rato é muito utilizado em trabalhos que envolvem o emprego do ultra-som terapêutico (BASSOLI, 2001; KOEKE, 2004; YANG *et al.*, 2005; FILHO *et al.*, 2006; GABRIEL e DICKY 2007; FREITAS, 2007). O acesso a este modelo animal em laboratórios é relativamente fácil bem como o controle deles em cativeiro, fatores preponderantes para a escolha deste modelo nesta pesquisa.

Os animais adquiridos em laboratórios próprios para este fim eliminam uma gama de fatores que poderiam influenciar negativamente nos resultados, tais como imunodeficiência dos animais, diferenças de peso e estrutura corporal, acesso à alimentação e aspectos ambientais.

Os músculos escolhidos foram o tríceps sural e os isquiotibiais por seu volume e facilidade de acesso na geração da lesão. O grande volume deste grupo muscular permite a melhor acoplagem do cabeçote do ultra-som evitando assim a perda de ondas ultra-sônicas e a conseqüente refração inadequadas destas.

A escolha da lesão por, impacto e não por outros métodos como aplicação de substância química ou incisão cirúrgica, foi para que se tivesse uma situação mais o próximo possível das lesões musculares comuns, sobretudo as sofridas na prática esportiva, em jogos de contato corporal bem como em atividades de vida diária (YANG *et al.*, 2005; FILHO *et al.*, 2006). A aplicação de drogas para gerar a inflamação muscular não foi adotada, pois poderia afetar a velocidade de regeneração muscular devido à intensidade da lesão gerada, o que poderia alterar os resultados (BENOIT; BELT, 1970; ONO *et al.*, 1993). A incisão cirúrgica, utilizada em outros trabalhos (BASOOLI, 2001; KOEKE, 2004; FREITAS, 2007), também não foi adotada pelo risco de comprometer os resultados pelo fato da descontinuidade da pele que ocorreria neste ato, o que colocaria em risco a afirmação da eficácia da fonoforese quando da utilização do gel à base da arnica.

Como protocolo de anestesia, optou-se pela combinação dos compostos Ketamina 10mg/kg e Xilazina 4mg/kg de peso corporal diluídos em

1ml de solução fisiológica via intraperitoneal. O uso desta combinação tem mostrado bons resultados em ratos, bem como demonstra ser um método seguro (FREITAS, 2007).

A escolha do gel à base do extrato glicólico de arnica (*Lychnophora ericoides*) a 10% deve-se a sua grande aceitação e utilização popular e por ser natural do cerrado brasileiro, comum nos estados de Goiás, Tocantins e Minas Gerais (SEMIR, 1991). O extrato glicólico é mais utilizado para aplicação tópica por evitar o ressecamento do epitélio, comum em extratos alcoólicos.

É comum o uso de substâncias antiinflamatórias tópicas em forma de gel como acoplante no cabeçote do ultra-som, sob a hipótese de que as ondas ultra-sônicas favorecem a penetração destas substâncias na pele. Esta prática, conhecida como fonoforese, é motivo de controvérsias entre pesquisadores de todo o mundo. Parizotto e colaboradores (2003), na tentativa de elucidar estas controvérsias, realizaram uma meta-análise de 55 artigos, criteriosamente selecionados; publicados entre 1954 e 2001 e traçaram alguns requisitos básicos essenciais neste tipo de experimento.

O primeiro requisito é a presença do grupo controle, enfatizado por Dyson e Suckling (1987) sendo que o controle, segundo estes autores, minimiza a dúvida do efeito placebo.

A calibração do aparelho de ultra-som é outro requisito fundamental na elaboração deste trabalho (FAY *et al.*, 1994; McCABE; PYE, 1997 e ZEQUIRI, 1997). Em casos que o uso do aparelho é no modo contínuo, com geração de efeitos térmicos, estes podem ser extremamente danosos ao paciente se a potência que sai do cabeçote não se assemelha à mostrado no painel do aparelho. A maioria dos aparelhos pesquisados, que apresentaram divergência em relação a intensidade, mostraram um decréscimo nesta (STEWART *et al.*, 1994; ALLEN; BATTYE, 1978, FYFE; PARNELL, 1982; GUIRRO; SANTOS, 1997). Pesquisa realizada no Brasil por Guirro e Santos (1997) concluiu que metade dos equipamentos em uso nas clínicas de fisioterapia estão fora das especificações recomendadas pela *International Electrotechnical Commission* e

poderiam gerar resultados equivocados em pacientes ou em pesquisas científicas.

O modo de emissão das ondas acústicas do equipamento, seja contínuo ou pulsado pode influenciar o reparo do tecido, principalmente quando associado a uma substância ou fármaco de aplicação tópica. Vale ressaltar que, no modo contínuo, a emissão das ondas ultra-sônicas permanece constante sem intervalo de tempo, e no modo pulsátil existe há intermitência na emissão das ondas.

Optou-se pelo modo pulsátil, devido à menor geração de efeitos térmicos, visto que a presença de calor na inflamação aguda poderia aumentar este processo (HIKES *et al.*, 1985). Fang e colaboradores (1999) utilizando clobetasol 17-proprionato, concluíram que o ultra-som pulsado possui maior efetividade na permeabilidade deste fármaco, porém, o trabalho de Ciccone (1990) contradiz este resultado, o que mostra que os resultados sobre o modo de aplicação ainda não estão totalmente esclarecidos.

A frequência escolhida foi a de 1MHz, visto que ela é mais comumente usada na prática clínica, devido o conceito de que quanto maior a frequência menor a penetração de ondas ultra-sônicas na pele. Porém Meidan, e colaboradores (1999) concluíram em seus estudos que a penetração das ondas ultra-sônicas dos aparelhos de 1.1MHz ou 3.3MHZ são idênticas.

Quanto à intensidade, optou-se por $0,5 \text{ W/cm}^2$, no modo pulsado, pelas características do aparelho utilizado. Warden e Mcmeeken (2002) afirmam que a maioria dos fisioterapeutas usam o ultra-som pulsado na intensidade de $0,5 \text{ W/cm}^2$. Já Mitragotri e Kost (2000) em suas pesquisa concluíram que as respostas ao tratamento são dependentes da intensidade aplicada.

5. Resultados

Todos os 48 animais completaram o estudo não havendo óbito ou outro fator que impedisse a utilização dos dados obtidos.

O procedimento adotado para gerar a contusão muscular (FILHO *et al.*, 2006) mostrou bons resultados e atendeu às expectativas do trabalho.

A lesão pôde ser constatada por inspeção visual e por análise microscópica, o que confirmou a presença de processo inflamatório e hemorragia (Figuras 4 e 5).

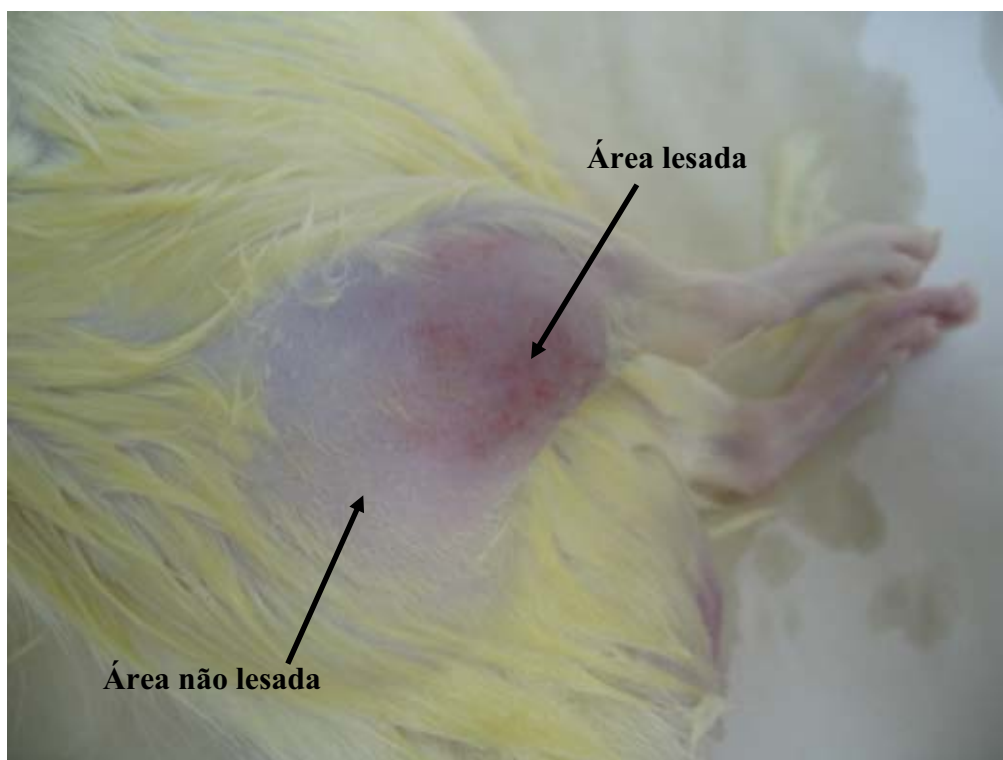


Figura 4 – Aspecto visual da lesão.

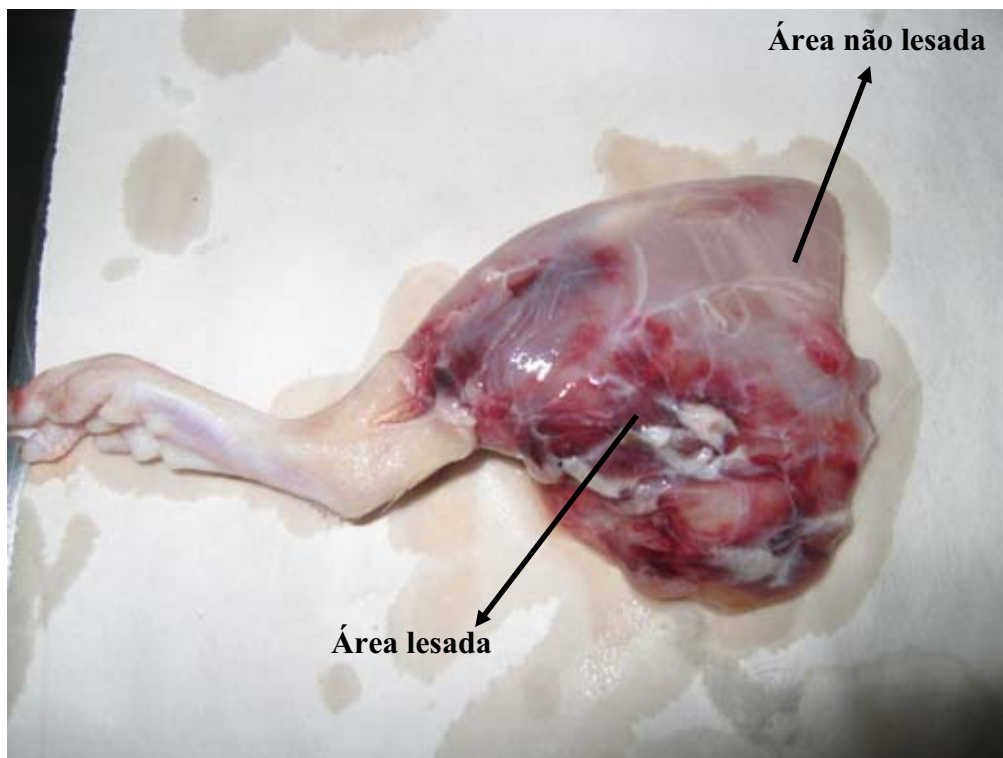


Figura 5 – Aspecto visual da lesão após dissecação da pata lesada.

5.1. Análise histológica por microscopia ótica

A Figura 6 mostra a comparação entre os grupos 1, 2, 3 e 4 após 24 horas de lesão. Observa-se na coluna da esquerda os grupos que receberam tratamento (G1T, G2T e G3T), na coluna da direita os respectivos controles internos (G1C, G2C e G3C) e na parte inferior da figura o controle positivo e o controle negativo. É possível observar intenso processo inflamatório em todos os grupos que sofreram lesão, bem como a presença de edema generalizado e alguns pontos de hemorragia, não havendo do ponto de vista morfológico diferença entre os tratamentos após 24h.

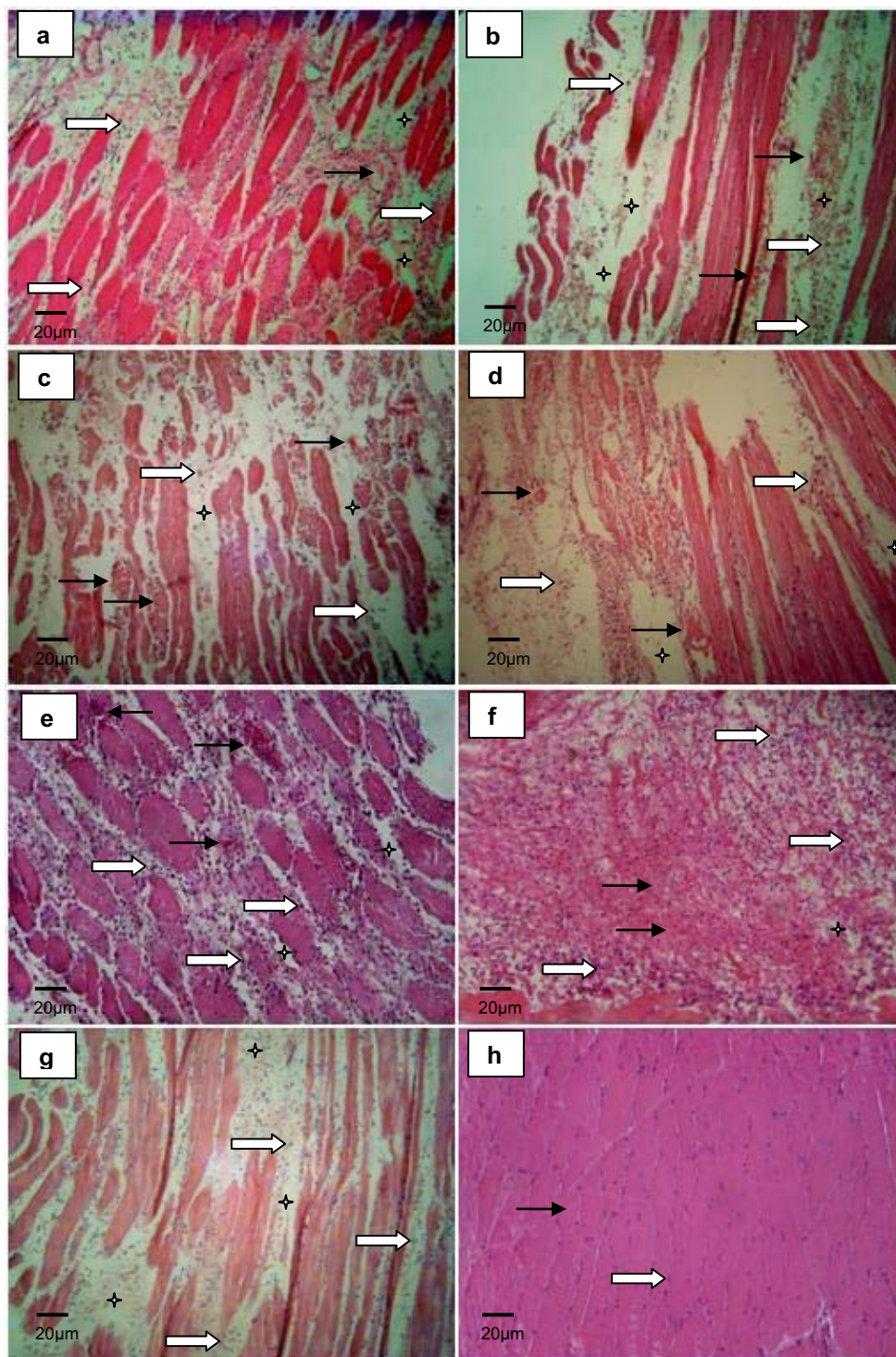


Figura 6 – Fotomicrografias após 24h da lesão. A imagem (a) corresponde ao **G1T**; observa-se infiltrado inflamatório (\Rightarrow), edema ($+$), vaso sanguíneo rompido (\rightarrow). A imagem (b) refere-se ao **G1C**; nota-se o infiltrado inflamatório (\Rightarrow), edema ($+$), hemorragia difusa (\rightarrow). A letra (c) refere-se ao **G2T** que apresenta infiltrado inflamatório (\Rightarrow), edema ($+$), vaso sanguíneo rompido (\rightarrow). A letra (d) corresponde ao **G2C**; onde se observa infiltrado inflamatório (\Rightarrow), edema ($+$), hemorragia difusa (\rightarrow). A imagem (e) corresponde ao **G3T**; nota-se infiltrado inflamatório (\Rightarrow), edema ($+$), hemorragia (\rightarrow). A imagem (f) refere-se ao **G3C**; onde se observa infiltrado inflamatório (\Rightarrow), edema ($+$), hemorragia difusa (\rightarrow). A imagem (g) corresponde ao **G4**; nota-se infiltrado inflamatório (\Rightarrow) e edema ($+$). A imagem (h) refere-se ao músculo normal, onde se observa núcleos (\Rightarrow) e células normais (\rightarrow) com espaços intersticiais preservados.

A Figura 7 mostra a comparação entre os grupos 1, 2, 3 e 4 após 48 horas de lesão. Na coluna da esquerda os grupos que receberam tratamento (G1T, G2T e G3T), na coluna da direita os respectivos controles internos (G1C, G2C e G3C) e na parte inferior da figura o controle positivo e o controle negativo. Destaca-se nesta figura o início de uma reorganização tecidual no grupo 2 tratado após 48h (G2T 48h), porém ainda com a presença de intensa inflamação.

Os outros grupos, independente de serem tratados ou controles, indicam um processo inflamatório mais severo, proveniente da lesão sofrida pelo músculo, sendo que no G4 48h (controle positivo) a inflamação é mais acentuada com a presença de hemorragia difusa. É possível observar do ponto de vista morfológico uma pequena melhora no aspecto estrutural do grupo 1, tanto o tratado como o controle.

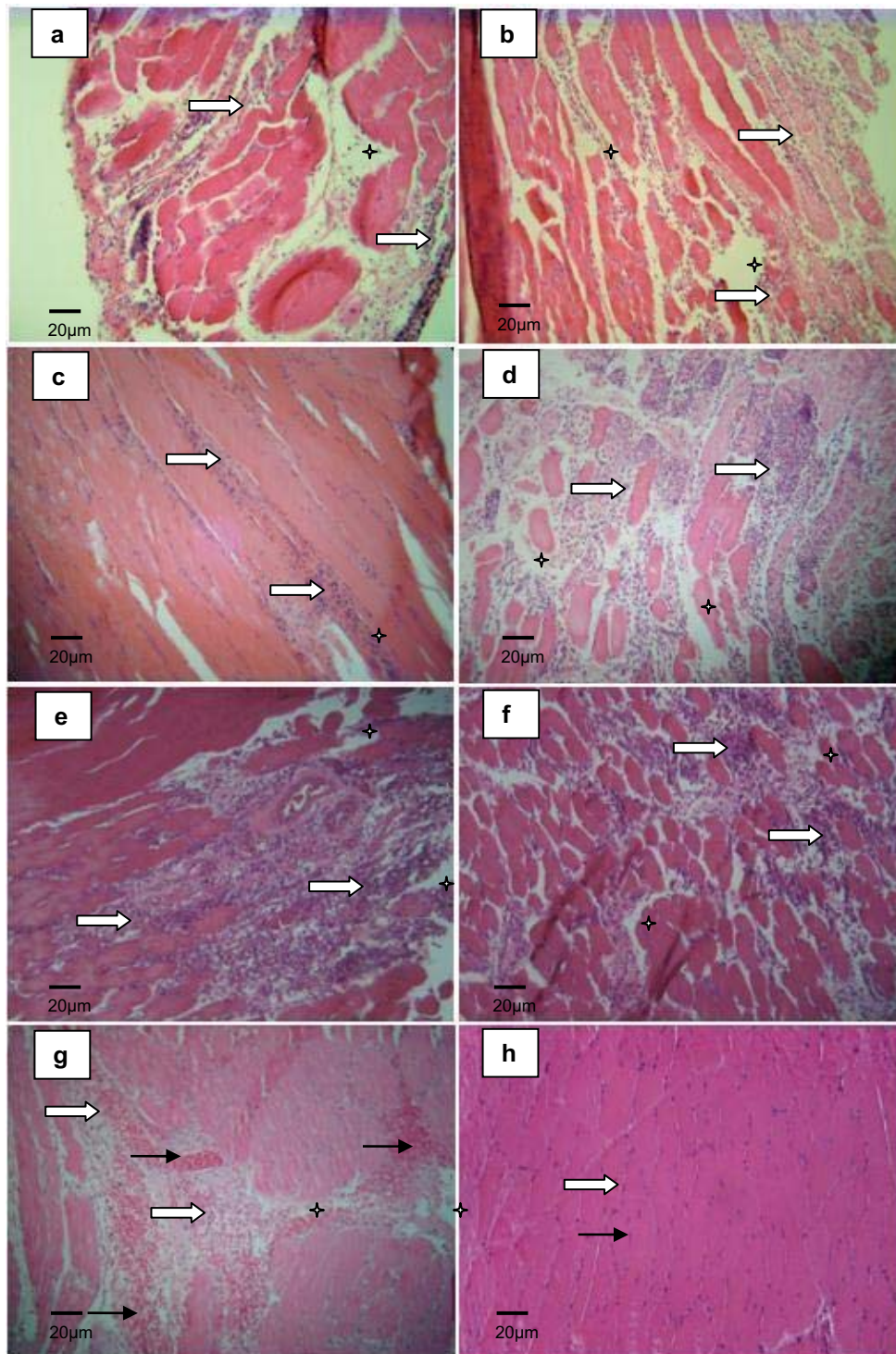


Figura 7 – Fotomicrografias após 48h da lesão. A imagem (a) corresponde ao **G1T**, observa-se infiltrado inflamatório (⇨) e edema (✦). A imagem (b) refere-se ao **G1C**, nota-se o infiltrado inflamatório (⇨) e edema (✦). A letra (c) refere-se ao **G2T** que apresenta infiltrado inflamatório (⇨) e pequeno edema (✦). A letra (d) corresponde ao **G2C**, onde se observa infiltrado inflamatório (⇨) e edema (✦). A imagem (e) corresponde ao **G3T**, nota-se infiltrado inflamatório (⇨) e edema (✦). A imagem (f) refere-se ao **G3C**, onde se observa infiltrado inflamatório (⇨) e edema (✦). A imagem (g) corresponde ao **G4**, nota-se infiltrado inflamatório (⇨), edema (✦) e hemorragia difusa (⇨). A imagem (h) refere-se ao músculo normal, onde se observa núcleos (⇨) e células normais (⇨) com espaços intersticiais preservados.

A Figura 8 mostra a comparação entre os grupos 1, 2, 3 e 4 após 72 horas de lesão. Observa-se na coluna da esquerda os grupos que receberam tratamento (G1T, G2T e G3T), na coluna da direita os respectivos controles internos (G1C, G2C e G3C) e o controle positivo na parte inferior da figura.

Após 72h, a reorganização continua, sobretudo no G2T onde a inflamação mostra-se menor quando comparada com os outros grupos. A hemorragia existente no G4 72h decresceu quando comparada com o G4 48h, porém o processo inflamatório está presente em todos os grupos, com menor intensidade no G2T 72h.

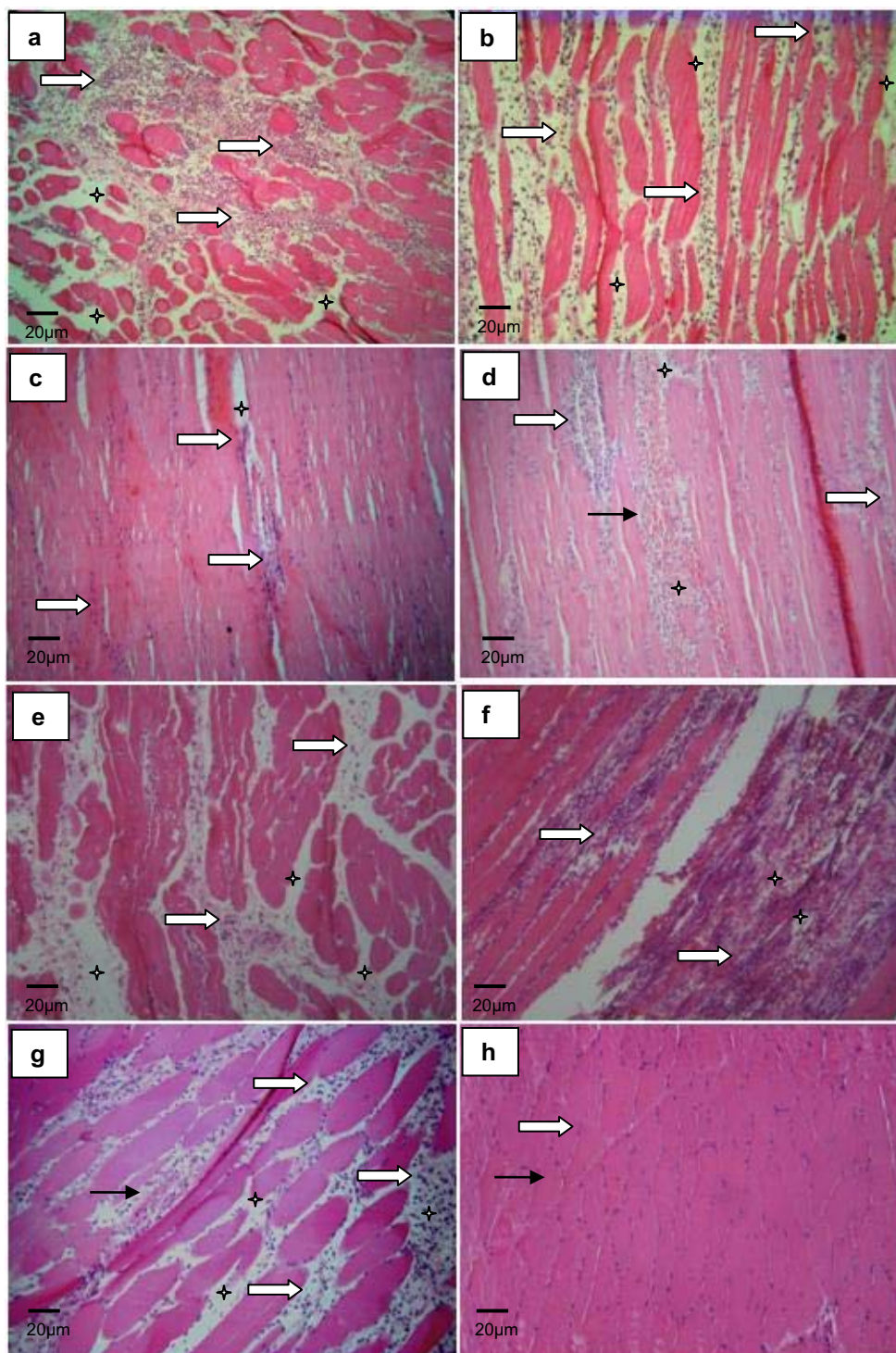


Figura 8 – Fotomicrografias após 72h da lesão. A imagem (a) corresponde ao **G1T**, observa-se infiltrado inflamatório (⇨) e edema (✦). A imagem (b) refere-se ao **G1C**, nota-se o infiltrado inflamatório (⇨) e edema (✦). A letra (c) refere-se ao **G2T** que apresenta infiltrado inflamatório (⇨) e diminuição do edema (✦) com maior reorganização das fibras musculares. A letra (d) corresponde ao **G2C**; onde se observa infiltrado inflamatório (⇨), edema (✦) e hemorragia difusa (⇨). A imagem (e) corresponde ao **G3T**, nota-se infiltrado inflamatório (⇨) e edema (✦). A imagem (f) refere-se ao **G3C**, onde se observa infiltrado inflamatório (⇨) e edema (✦). A imagem (g) corresponde ao **G4**, nota-se infiltrado inflamatório (⇨), edema (✦) e pequenos pontos de hemorragia (⇨). A imagem (h) refere-se ao músculo normal, onde se observa núcleos (⇨) e células normais (⇨) com espaços intersticiais preservados.

Após 96h de tratamento é possível observar uma intensa melhora no G1T e G2T. O G3T, G3C e G4 apresentam um intenso processo inflamatório o que indica que no grupo não tratado a inflamação continuou seu curso normal e que a aplicação tópica de arnica não permite que as propriedades antiinflamatórias da *Lychnophora ericoides* atuam na inflamação muscular (Figura 9).

Morfológicamente o G1T e o G2T após 96h apresentam resultados semelhantes, indicando uma intensa melhora do G1T na fase final do tratamento.

Particularmente o G2, tratado com ultra-som e gel a base de arnica, apresentou uma significativa diminuição dos espaços intersticiais, o que indicam uma efetiva diminuição do edema pós inflamatório.

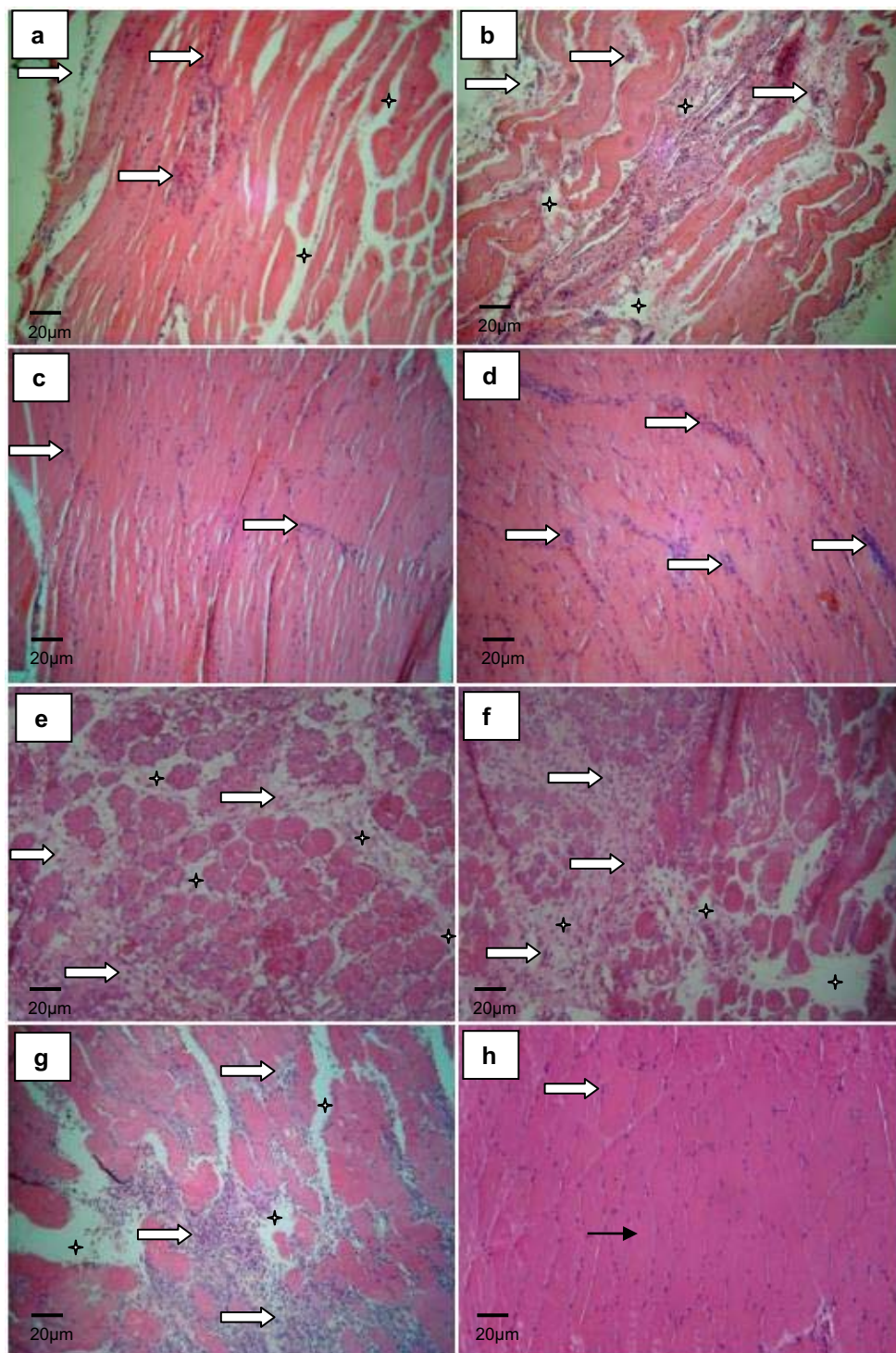


Figura 9 – Fotomicrografias após 96h da lesão, notar ausência de hemorragia em todos os grupos. A imagem (a) corresponde ao **G1T**, observa-se infiltrado inflamatório (⇨) e edema menos intenso (✦). A imagem (b) refere-se ao **G1C**, nota-se o infiltrado inflamatório (⇨) e edema (✦). A letra (c) refere-se ao **G2T** que apresenta infiltrado inflamatório (⇨) com diminuição importante do edema com maior reorganização das fibras musculares. A letra (d) corresponde ao **G2C**, onde se observa infiltrado inflamatório (⇨) e diminuição de edema. A imagem (e) corresponde ao **G3T**, nota-se infiltrado inflamatório (⇨) e intenso edema (✦). A imagem (f) refere-se ao **G3C**, onde se observa infiltrado inflamatório (⇨) e intenso edema (✦). A imagem (g) corresponde ao **G4**, nota-se infiltrado inflamatório (⇨) e intenso edema. A imagem (h) refere-se ao músculo normal, onde se observa núcleos (⇨) e células normais (⇨) com espaços intersticiais preservados.

A Figura 10 mostra a comparação entre os grupos tratados (patas direitas). É possível observar neste esquema a evolução entre os grupos e dentro do mesmo grupo. O G2, tratado com ultra-som e gel a base de arnica, morfologicamente mostrou a melhor evolução.

Com 48h após a lesão já é possível observar no G2 a diminuição do processo inflamatório, sobretudo do edema, o que se intensifica em 72h e 96h.

O G1, grupo tratado com ultra-som e gel comercial, não apresentou uma melhora considerável em 24h, 48h e 72h; porém em 96h houve uma melhora efetiva do processo inflamatório e do edema.

O G3, grupo tratado com aplicação tópica de gel a base de arnica, não apresentou evolução em nenhum dos tempos tratados (24h, 48h, 72h e 96h).

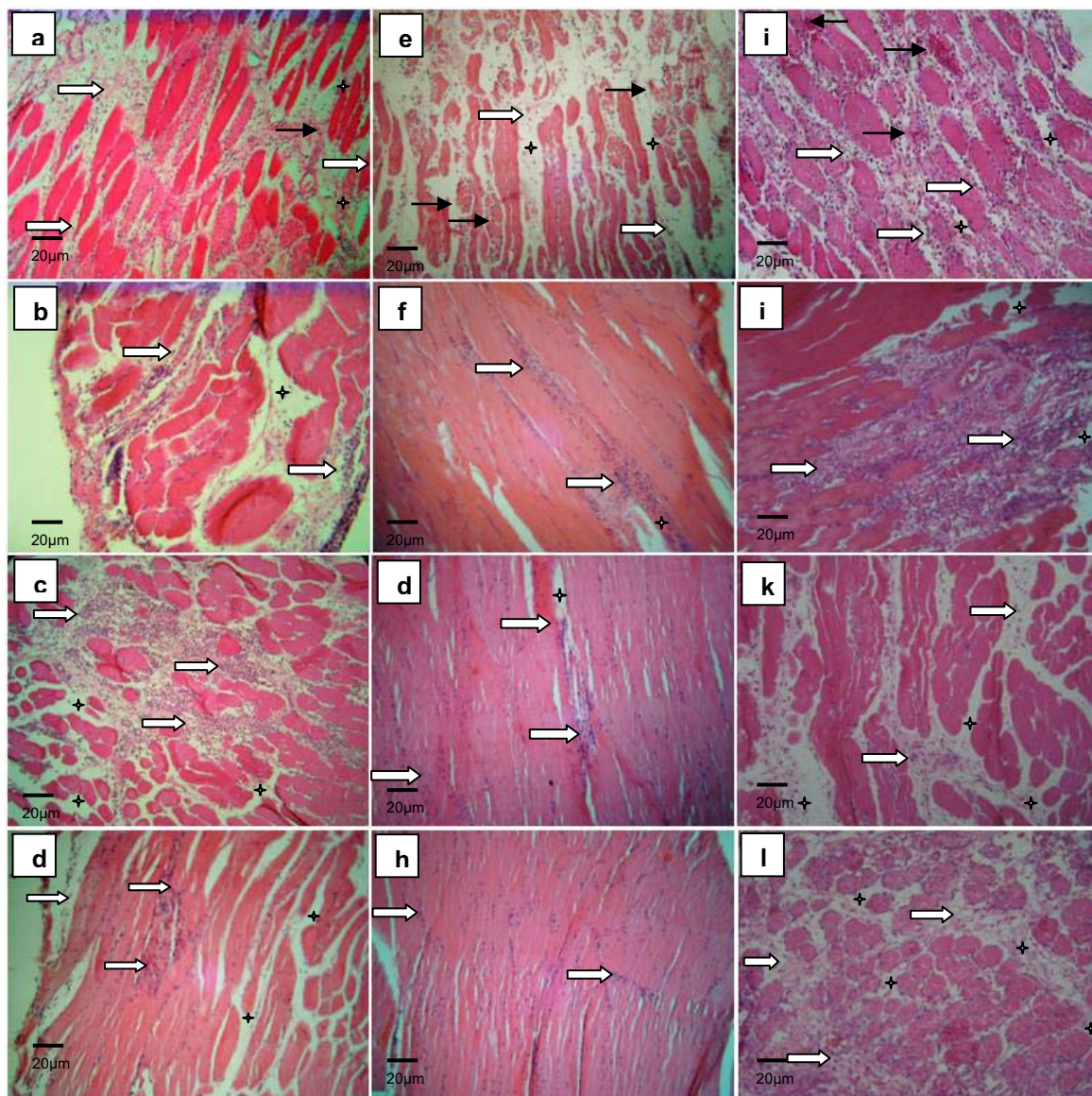


Figura 10 – Fotomicrografias dos grupos tratados. Imagem (a): **G1T 24h**; Imagem (b) **G1T 48h**; Imagem (c) **G1T 72h**; Imagem (d) **G1T 96h**; Imagem (e): **G2T 24h**; Imagem (f) **G2T 48h**; Imagem (g) **G2T 72h**; Imagem (h) **G2T 96h**; Imagem (i): **G3T 24h**; Imagem (j) **G3T 48h**; Imagem (k) **G3T 72h**; Imagem (l) **G3T 96h**. \Rightarrow Infiltrado inflamatório, + edema e \rightarrow hemorragia.

5.2. Análise morfométrica

Na comparação da contagem de células inflamatórias entre o tratamento usando o ultra-som com gel comercial (G1T) e o ultra-som com gel de arnica (G2T), os resultados foram semelhantes durante todo o tempo de tratamento, não havendo diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Ao comparar o tratamento com ultra-som com gel comercial e ultra-som com gel a base de arnica com a aplicação tópica de gel de arnica, há uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em todos os tempos, não tendo ocorrido portanto evolução no tratamento com aplicação tópica de gel de arnica, conforme mostra a Figura 11 e a Tabela 1.

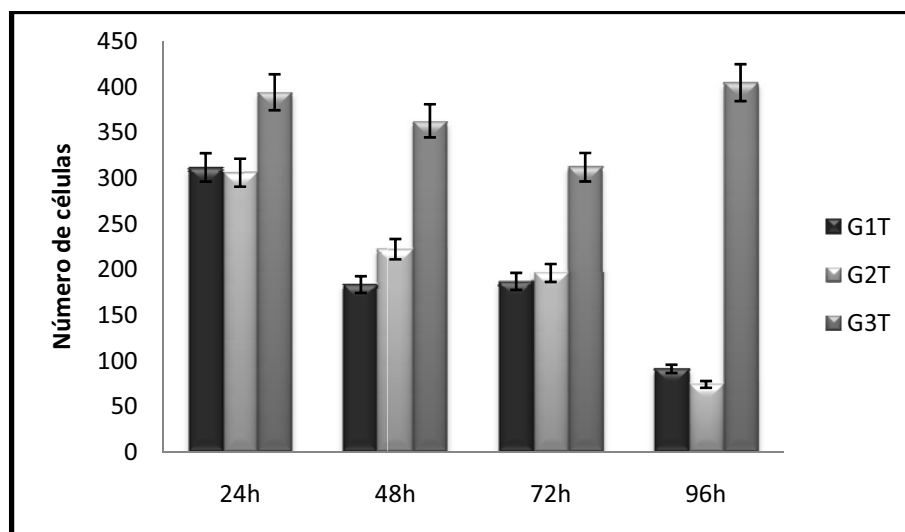


Figura 11 – Comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G1T, G2T e G3T.

Tabela 1 – Nível de significância na comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G1T, G2T e G3T.

Comparação	Nível de significância (p)
G1T 24h X G3T 24h	0,036*
G1T 48h X G3T 48h	0,026*
G1T 72h X G3T 72h	0,001*
G1T 96h X G3T 96h	0,002*
G1T 24h X G2T 24h	0,441
G1T 48h X G2T 48h	0,190
G1T 72h X G2T 72h	0,358
G1T 96h X G2T 96h	0,236
G2T 24h X G3T 24h	0,015*

G2T 48h X G3T 48h	0,004*
G2T 72h X G3T 72h	0,041*
G2T 96h X G3T 96h	0,003*

* Nível de significância menor que 0,05 ($p < 0,05$)

A comparação entre o tratamento com ultra-som com gel comercial e seu controle interno, isto é, a pata esquerda não tratada mostrou uma diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado após 72h e 96h de tratamento, sendo que o mesmo não ocorre quando comparado com 24h e 48h de lesão. Quando comparado com o controle positivo (animais que sofreram lesão muscular, mas não foram tratados), a diminuição ocorreu em todos os tempos testados. A comparação entre o controle interno e o controle positivo mostra que também houve uma melhora considerável ($p < 0,05$) em 24h e 96h de tratamento (Figura 12 e Tabela 2).

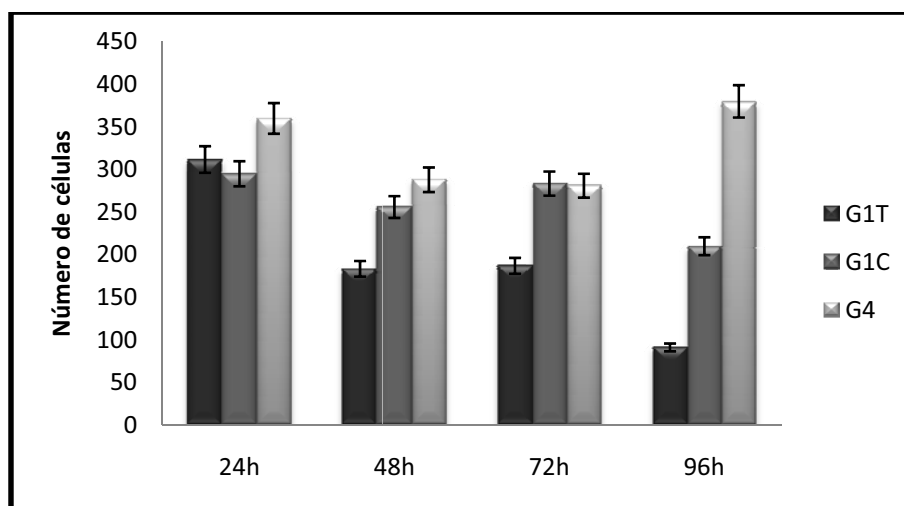


Figura 12 – Comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G1T, G1C e G4.

Tabela 2 – Nível de significância na comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G1T, G1C e G4.

Comparação	Nível de significância (p)
G1T 24h X G1C 24h	0,334
G1T 48h X G1C 48h	0,131
G1T 72h X G1C 72h	0,002*
G1T 96h X G1C 96h	0,004*
G1T 24h X G4 24h	0,009*
G1T 48h X G4 48h	0,006*
G1T 72h X G4 72h	0,010*

G1T 96h X G4 496h	0,021*
G1C 24h X G4 24h	0,009*
G1C 48h X G4 48h	0,081
G1C 72h X G4 72h	0,051
G1C 96h X G4 96h	0,021*

* Nível de significância menor que 0,05 ($p < 0,05$)

A análise dos dados obtidos no tratamento com ultra-som com gel de arnica comparado ao seu controle interno, isto é, a pata esquerda não tratada mostrou uma diferença significativa quando comparado após 24h e 96h de tratamento. A comparação entre o tratamento com ultra-som com gel de arnica e o controle externo mostrou uma diferença significativa ($p < 0,05$) em todos os tempos, sendo que na comparação entre o controle interno e o controle externo a diferença ocorre apenas em 96h (Figura 13 e Tabela 3).

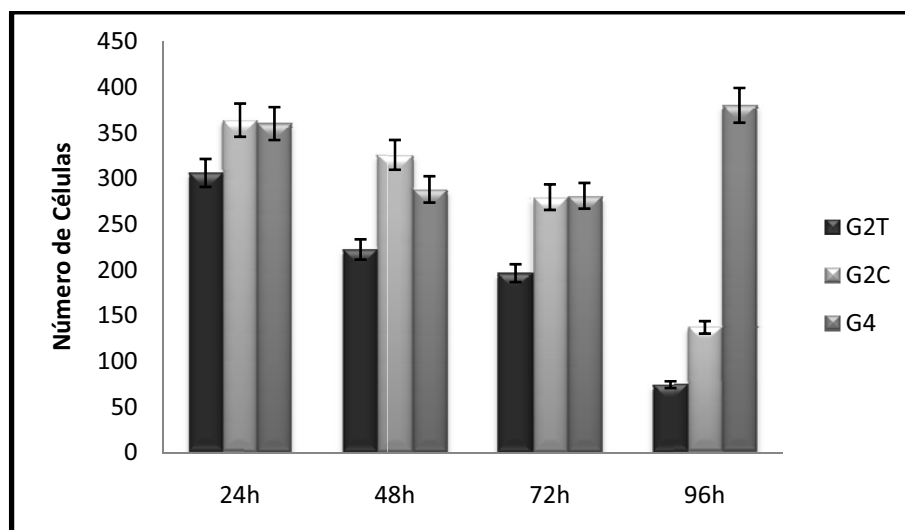


Figura 13 – Comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G2T, G2C e G4.

Tabela 3 – Nível de significância na comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G2T, G2C e G4.

Comparação	Nível de significância (p)
G2T 24h X G2C 24h	0,004*
G2T 48h X G2C 48h	0,051
G2T 72h X G2C 72h	0,087
G2T 96h X G2C 96h	0,001*
G2T 24h X G4 24h	0,007*
G2T 48h X G4 48h	0,022*

G2T 72h X G4 72h	0,023*
G2T 96h X G4 96h	0,002*
G2C 24h X G4 24h	0,321
G2C 48h X G4 48h	0,287
G2C 72h X G4 72h	0,154
G2C 96h X G4 96h	0,002*

* Nível de significância menor que 0,05 ($p < 0,05$)

A comparação das patas tratadas com a aplicação tópica de gel de arnica com o seu controle interno (pata esquerda do mesmo animal lesada e não tratada) e o controle positivo (animal lesado que não sofreu nenhum tipo de tratamento) não mostrou diferença estatisticamente significativa em nenhuma das comparações ($p > 0,05$), como mostra a Figura 14 e a Tabela 4.

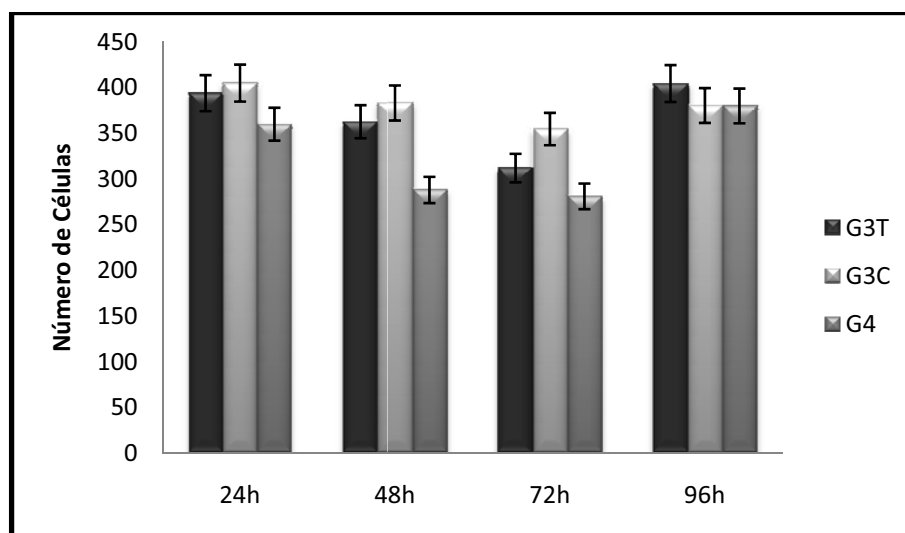


Figura 14 – Comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G3T, G3C e G4.

Tabela 3 – Nível de significância na comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G3T, G3C e G4.

Comparação	Nível de significância (p)
G3T 24h X G3C 24h	0,354
G3T 48h X G3C 48h	0,415
G3T 72h X G3C 72h	0,335
G3T 96h X G3C 96h	0,288
G3T 24h X G4 24h	0,208
G3T 48h X G4 48h	0,500
G3T 72h X G4 72h	0,185

G3T 96h X G4 96h	0,371
G3C 24h X G4 24h	0,208
G3C 48h X G4 48h	0,500
G3C 72h X G4 72h	0,185
G3C 96h X G4 96h	0,152

* Nível de significância menor que 0,05 ($p < 0,05$)

A comparação entre o controle interno do grupo tratado com ultra-som com gel comercial (G1C) e o controle interno do grupo tratado com ultra-som com gel de arnica (G2C) mostrou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em 24h e 96h. Quando comparado com o controle interno do grupo tratado com aplicação tópica de gel de arnica (G3C), houve diferença estatística ($p < 0,05$) para a comparação com o grupo tratado com ultra-som e gel comercial (G1C) em 24h e 96h. Já na comparação com o grupo tratado com ultra-som com gel a base de arnica (G2C) a diferença ocorreu apenas em 96h (Figura 15 e Tabela 5).

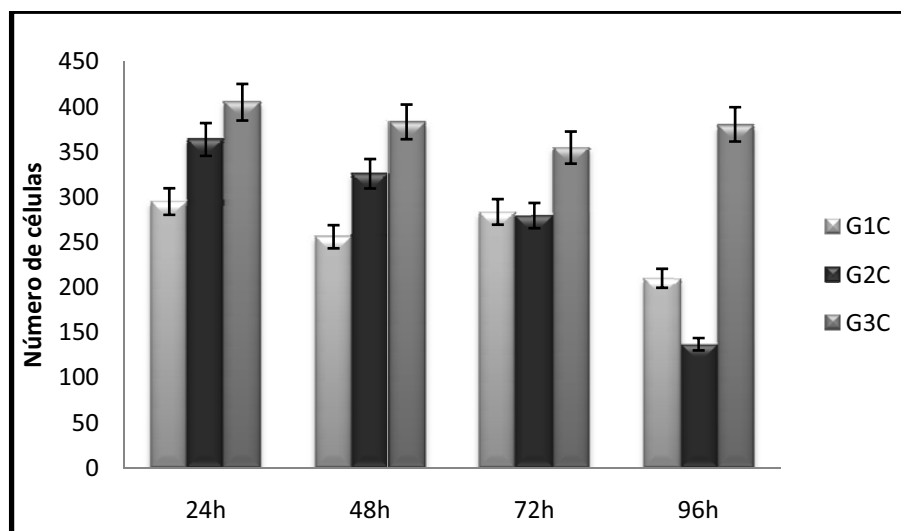


Figura 15 – Comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G2C, G1C e G3C.

Tabela 4 – Nível de significância na comparação da contagem de células inflamatórias dos grupos G1C, G2C e G3C.

Comparação	Nível de significância (p)
G1C 24h X G2C 24h	0,001*
G1C 48h X G2C 48h	0,237
G1C 72h X G2C 72h	0,477
G1C 96h X G2C 96h	0,026*
G1C 24h X G3C 24h	0,031*

G1C 48h X G3C 48h	0,092
G1C 72h X G3C 72h	0,164
G1C 96h X G3C 96h	0,029*
G2C 24h X G3C 24h	0,194
G2C 48h X G3C 48h	0,286
G2C 72h X G3C 72h	0,257
G2C 96h X G3C 96h	0,009*

* Nível de significância menor que 0,05 ($p < 0,05$)

6. Discussão

O tratamento muscular é uma prática muito comum nas clínicas de fisioterapia e, na sua grande maioria, os fisioterapeutas utilizam o ultra-som como principal recurso no auxílio da regeneração muscular. Para se compreender melhor a influência do ultra-som na regeneração muscular é importante entender o que ocorre com um músculo após a lesão.

Por se tratar de uma inflamação aguda, os efeitos térmicos, neste trabalho, foram minimizados pelo uso do ultra-som no modo pulsado; sendo assim, o aumento de temperatura local pode ser considerado (DUARTE, 1988; HADAAD, 1992).

É importante ressaltar que o tecido muscular é dotado da capacidade de se recuperar (BASSOLI, 2001), porém, após uma lesão aguda, algumas fibras entram em necrose e perdem a capacidade de se recuperar com funcionalidade (BROWN, 1997).

Após a lesão, pode haver um esvaziamento do sarcoplasma na região da necrose; e, a membrana sarcolemal, que envolve o sarcoplasma e permanece parcialmente preservada pode apresentar espessamento. O espaço que surge entre as fibras lesadas sofre imediatamente um edema, seguido ou não de hematoma, posteriormente invadido por um infiltrado celular inflamatório que migra para a área da lesão cerca de 12 horas após esta ter ocorrido. Existe a tendência da diminuição deste infiltrado celular após quatro dias da lesão, pois ocorre a substituição por macrófagos, que migram para a área lesada com o intuito de remover e fagocitar restos celulares da área necrosada (CHARGÉ; RUDNICKI, 2004).

O uso do ultra-som terapêutico pode influenciar de forma positiva na aceleração da recuperação deste processo inflamatório. Observou-se, no presente estudo, que as patas tratadas com o ultra-som terapêutico apresentaram importante melhora quando comparadas com os controles interno e externo. Este resultado vai ao encontro ao do de Gouvêa e

colaboradores (1998). Naquela pesquisa, eles utilizaram o ultra-som terapêutico pulsado com frequência de 1MHz e intensidade de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ durante cinco minutos na regeneração de fibras musculares do músculo tibial anterior de ratos, que foram submetidos a lesões incisivas. Os autores concluíram que o padrão histológico do músculo lesado e tratado com o ultra-som teve uma melhora significativa quando comparado com o do grupo controle, pois o processo inflamatório diminuiu pelo uso do ultra-som.

Bischoff e Heintz (1994) reiteram a tese de que o ultra-som pulsátil possui uma excelente capacidade de influenciar na regeneração muscular sob várias condições e aspectos, o que abre um leque para futuras finalidades de aplicação deste recurso.

Bassoli (2001), em estudo realizado com ultra-som pulsado na regeneração de músculos esqueléticos, obteve resultados semelhantes aos deste trabalho, com a utilização de uma técnica de incisão cirúrgica no músculo glúteo máximo para provocar a lesão, tratada com ultra-som terapêutico com intensidade de $0,5\text{ W}/\text{cm}^2$ acoplado a gel comercial à base de água durante 10 dias, tendo a pata direita tratada e a pata esquerda como controle. Bassoli (2001) concluiu que há uma regeneração precoce das fibras musculares, bem como uma intensa formação neovascular e diminuição no processo inflamatório.

No presente trabalho, a melhora no processo inflamatório mostrada através da morfometria, foi semelhante, não apresentando diferença estatisticamente significativa quando usado o gel à base de extrato glicólico de arnica a 10%, comparado ao uso do gel comercial ($p>0,05$), conforme mostram a Figura 11 e a Tabela 1. Porém, ao se comparar os tratamentos de ultra-som com gel comercial e de ultra-som com gel à base de arnica com a aplicação tópica de gel de arnica, há uma diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$), não tendo ocorrido, portanto, evolução no tratamento com aplicação tópica de gel de arnica do ponto de vista morfométrico, conforme mostram a Figura 11 e a Tabela 1.

Histologicamente houve uma diminuição do edema no grupo tratado com ultra-som e gel à base de arnica bem mais acentuada do que nos outros grupos. Este fato permite confirmar que as propriedades antiinflamatórias da arnica conseguem vencer a barreira natural imposta pelo tecido cutâneo e penetrar até o tecido lesado a partir da associação a um estímulo externo que neste caso foram às ondas sonoras (Figuras 6, 7, 8, 9 e 10).

Segundo Barry (2001), a otimização da passagem transcutânea de drogas é um fator importante nas terapias modernas. A diminuição dos efeitos colaterais tais como do sistema gastrointestinal, a diminuição das concentrações da droga e a velocidade de ação tornam esta via interessante do ponto de vista terapêutico.

A energia ultra-sônica de baixa frequência perturba a camada lipídica do extrato córneo da pele através de fenômeno de cavitação. As ondas ultra-sônicas criam bolhas de ar capazes de abrir lacunas na camada bimolecular, aumentando, assim, a penetração de droga no tecido, fenômeno este estudado por Menon e colaboradores (1994) e por Mitragotri e Kost (2000), e que explica a diminuição mais acentuada do edema no grupo tratado com ultra-som e gel à base de arnica pelo mecanismo da fonoforese.

Outras investigações já mostraram uma possível desativação de enzimas de pele pelo uso de ultra-som (HIKIMA *et al.*, 1998) e o uso da fonoforese na facilitação da passagem transcutânea de substâncias hidrófilas, via folículo piloso (MEIDAN *et al.*, 1998). Não foram encontrados trabalhos envolvendo o uso do ultra-som terapêutico com gel à base de arnica.

Considerando que a fonoforese é um mecanismo efetivo de passagem transcutânea de substâncias de uso tópico como forma de tratamento (ROSIM *et al.*, 2005; YANG *et al.*, 2005), os resultados do presente trabalho podem ser confirmados por Borsato e colaboradores (2000), que utilizaram extrato diclorometano da raiz da *Lychnophora ericoides* (arnica), contendo lignana cubebina e metilcubebina, que são substâncias antitérmicas, analgésicas e antiinflamatórias; todavia, a comparação é restrita, pois os trabalhos que

utilizam a arnica como antiinflamatório, em sua maioria, fazem-no com ingestão oral das substâncias, através de compostos homeopáticos (MIRANDA, 2001).

Os resultados, no presente trabalho, da aplicação tópica de gel à base de extrato glicólico de arnica a 10% contradizem Wagner e colaboradores (2006), que analisaram a penetração das substâncias antiinflamatórias da arnica através de adesivos na pele de porcos e concluíram que houve penetração, maior ou menor, dependendo da formulação da droga e não de sua concentração, e, como resultado, afirmam que houve diminuição do processo inflamatório dos animais tratados.

A comparação entre os grupos tratados com ultra-som, seja com gel comercial, seja com gel à base de extrato glicólico de arnica a 10%, e os respectivos controles internos e o controle externo mostrou melhora considerável nos grupos tratados conforme as Figuras 10, 12 e 13, não havendo, como já foi dito, uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados com ultra-som e gel à base de arnica e os com ultra-som e gel à base de água. Estes grupos apresentaram uma melhora considerável no processo inflamatório da pata esquerda (controle interno) que não sofreu tratamento direto, principalmente quando comparada com o controle externo, que não sofreu influência nenhuma, nem das ondas ultra-sônicas nem do extrato glicólico da arnica.

Esta constatação é corroborada por estudos que mostram que o ultra-som terapêutico pode influenciar o sistema imunológico, promovendo, assim, uma reação sistêmica do organismo contra o processo inflamatório.

A princípio acreditava-se que a penetração transcutânea da arnica pelo fenômeno da fonoforese seria responsável pela melhora no processo inflamatório da pata esquerda (controle interno), pois suas propriedades antiinflamatórias alcançariam a corrente sanguínea e promoveriam este efeito, porém, ao ser detectado que a melhora, do ponto de vista da morfometria, ocorreu nos dois grupos tratados, descartou-se esta como sendo a única possibilidade.

A influência no sistema imunológico ocorrida pela utilização do ultra-som terapêutico foi estudada por Li e colaboradores (2003). Nesse trabalho, os autores investigaram a hipótese de o uso do ultra-som terapêutico promover o crescimento de osteoblastos e a liberação de citocinas. Os resultados mostraram que a exposição ao ultra-som terapêutico no modo pulsado aumentou a população de osteoblastos, bem como a secreção de TGF β 1 e diminuiu as concentrações de interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral α (TNF α) em meio de cultura. Esses autores estudaram os efeitos do ultra-som pulsado sobre a prostaglandina E2 (PGE2) na indução da produção de osteoblastos e concluíram que o ultra-som pulsado de 1MHz influenciou a liberação de prostaglandina, o que explica a melhora do processo inflamatório dos animais que tiveram a pata lesada e não tratada diretamente pelo ultra-som, porém receberam sonificação na pata contra lateral.

Maddi e colaboradores (2006) não encontraram influências significativas da influência do ultra-som (45 kHz, intensidade 30 mW/cm²) no modo contínuo por 5 minutos na expressão do fator de necrose tumoral α (TNF α).

A influência sistêmica do ultra-som pulsado pode ser confirmada na Figura 15 e na Tabela 5, que mostram a comparação entre o controle interno dos grupos tratados e o controle externo. Nota-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os controles internos dos grupos que receberam as ondas ultra-sônicas, sobretudo, após 96h o que confirma que a pata não tratada também sofreu influências do ultra-som aplicado na pata direita.

Os animais que não foram submetidos ao ultra-som, isto é, o Grupo 3, tratado apenas com aplicação tópica de gel à base de arnica, e o Grupo 4, de animais que foram lesados e não tratados, não apresentaram redução do processo inflamatório nem na análise morfológica e nem na morfométrica, sendo que no Grupo 3 estes resultados são os mesmos para a pata tratada e para o controle interno (Figuras 14 e 15; Tabelas 4 e 5).

A análise morfológica corrobora os resultados da morfometria e ainda afirma que as propriedades antiinflamatórias da arnica atuaram de forma efetiva na diminuição dos espaços intersticiais, o que confirma a fonoforese (Figura 10). Imediatamente após a lesão traumática ocorrem alterações vasculares e do fluxo sanguíneo que se desenvolvem em vários graus, dependendo da intensidade do estímulo causal. Inicialmente há uma rápida vasoconstrição arteriolar, podendo desaparecer em três a cinco segundos em lesões mais brandas; neste caso, esta vasoconstrição parece estar associada à liberação de substâncias, como a adrenalina, atuando sobre a musculatura lisa vascular (PHILIP *et al.*, 2007; ANDREAS *et al.*, 2007).

Após a fase inicial da vasoconstrição, segue-se a vasodilatação, que envolve primeiro as arteríolas e depois resulta na abertura de novos leitos microvasculares na área, aumentando o fluxo sanguíneo local, fator responsável pelo rubor e calor, dois dos sinais cardeais da inflamação. Pode ocorrer aumento da pressão hidrostática local, causando extravasamento de fluido pobre em proteínas para o espaço extravascular. A liberação de alguns mediadores químicos, principalmente a histamina, é responsável pela dilatação das vênulas e o reflexo axônico antidrômico, que não chega ao sistema nervoso central, é o estímulo responsável pela dilatação arteriolar (ANDREAS *et al.*, 2007).

Nota-se a orientação periférica dos leucócitos, principalmente neutrófilos, ao longo do endotélio vascular, processo denominado de marginação leucocitária. Estes aderem à parede endotelial, migrando ativamente por diapedese pela parede do vaso, através das junções interendoteliais, em direção ao espaço extravascular, fenômeno denominado de migração leucocitária. Passivamente, ocorre a migração das hemácias, aproveitando a saída dos leucócitos (OLIVIER *et al.*, 2007; OREN *et al.*, 2007).

O aumento da permeabilidade vascular é observado clinicamente sob a forma de edema. A passagem de proteínas plasmáticas, como albumina, globulinas e fibrinogênio, para o meio extravascular altera a diferença entre as

pressões osmóticas intra e extravascular, favorecendo a saída de água e eletrólitos do vaso, levando ao aparecimento de edema (KARIN *et al.*, 2007).

Devido à exsudação, os vasos linfáticos terminais da área lesada ficam muito mais dilatados e proeminentes do que em tecidos normais. Existem filamentos finos que unem a superfície externa dos linfáticos a estruturas extravasculares; quando estas estruturas se distendem, como efeito da inflamação, os filamentos estiram-se e abrem lacunas no endotélio dos vasos linfáticos. O exsudado proveniente dos vasos sangüíneos inflamados entra nos linfáticos terminais através destas aberturas, aumentando, tanto em volume como em conteúdo protéico, a drenagem da área afetada. O edema surge quando a taxa de formação de exsudado dos pequenos vasos sangüíneos excede a capacidade de remoção do mesmo pelos linfáticos (BECHARA, 1986; RUBIN; FARBER, 2002; KARIN *et al.*, 2007).

Em conformidade com os resultados obtidos no presente trabalho, o trabalho de Santos (2006) avaliou a eficácia do extrato de *Lychnophora ericoides* em edema de pata de ratos Wistar induzida por carragenina. Santos (2006) comprovou uma significativa redução.

Contrera e colaboradores(1985) estudaram a tintura-mãe de raízes de *Lychnophora ericoides* em feridas cutâneas de ratos. Houve retardo na cicatrização das feridas e diminuição do edema nos animais submetidos ao tratamento com a tintura, com relação ao controle.

Yui e colaboradores (1998) estudaram a eficácia da tintura-mãe de arnica montana em edema na pata de ratos, induzido pela aplicação de formol. Os resultados mostraram efetiva melhora na redução do edema, analisado por deslocamento da coluna de mercúrio, 60, 120, 180 e 240 minutos após a injeção do agente flogístico. Após a primeira hora de administração da tintura-mãe, os resultados foram semelhantes ao de outro grupo tratado com corticoesteróides. Resultados semelhantes na diminuição do edema foram encontrados por Fernandes (1996) no uso de banho de tintura-mãe de arnica, após procedimentos odontológicos, como a extração dos terceiros molares.

7. Conclusão

Os resultados obtidos mediante análise histopatológica da evolução da regeneração do tecido muscular das patas dos ratos submetidos a trauma direto no grupo muscular isquiotibiais e tratados com ultra-som pulsado usando como acoplantes gel comercial e o gel à base de extrato glicólico de arnica a 10% por 4 sessões (24, 48, 72 e 96h) permitem concluir que:

1. Pela análise morfométrica não houve diferença estatisticamente significativa entre o G1T e o G2T, porém, quando comparado com o G3T, houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

2. Os animais dos grupos G1T e G2T apresentaram melhores resultados quando comparados com os seus respectivos controles internos e com o controle externo, o que indicou uma influência positiva do ultra-som nas lesões musculares.

3. Quando a comparação foi feita entre o grupo que recebeu aplicação tópica do gel de arnica, seus controles internos e o controle externo, não ocorreu melhora nos resultados em nenhum dos períodos analisados.

4. As patas esquerdas, usadas como controle interno, que, portanto, não receberam sonificação direta, obtiveram uma expressiva melhora quando comparadas com o controle externo, indicando, assim, uma influência das ondas ultra-sônicas no sistema imunológico, o que confirma dados da literatura.

5. A comparação entre as patas esquerdas, usadas como controle interno, dos grupos G1T e G2T apresentou resultados semelhantes, dando novamente indícios de que, pela análise morfométrica, as propriedades antiinflamatórias da arnica não influenciaram na regeneração dos tecidos dos músculos lesados.

6. Histologicamente é possível concluir que as propriedades antiinflamatórias da arnica agiram com sucesso na diminuição do edema, principalmente após 72h e 96h de aplicação. As fotomicrografias mostraram melhor organização das fibras musculares com diminuição dos espaços intersticiais, o que ocorreu em menor intensidade no grupo tratado com ultra-som e gel comercial. A diminuição do edema no grupo tratado com ultra-som e gel de arnica pôde ser observada no grupo tratado e também no controle interno, o que indica que a fonoforese foi efetiva neste caso, conforme dados da literatura científica.

7. O grupo que recebeu apenas aplicação tópica de gel de arnica não apresentou nenhuma melhora referente ao edema.

8. A associação de aplicação de ultra-som no modo pulsátil com frequência de 1MHz e intensidade de $0,5 \text{ W/cm}^2$ com o gel à base de arnica auxilia na diminuição do edema muscular.

9. O uso do ultra-som no modo pulsátil com frequência de 1MHz e intensidade de $0,5 \text{ W/cm}^2$ mostrou ser um método físico eficiente na organização e reparo dos tecidos pós-trauma direto.

Referências bibliográficas

AGNE, J. E. . **Eletrotermoterapia** Teoria e Prática. 2. ed. Santa Maria-RS: Orium Editora; Comunicação Ltda. v. 1. 336 p. 2006.

ALLEN, K.G.R.; BATTYE, C.K. Performance of Ultrasonic Therapy Instruments. **Physiotherapy**. V.64, n.6, pp. 174-179. 1978.

ANDREAS, L.; GLEN, A. F.; WILLIAM, G. Cheadle Systemic inflammation after trauma **Injury**, In Press, Corrected Proof, Available online 28 November 2007.

APPELL, H. J. Morphology of immobilized skeletal muscle and the effects of a pré and postimmobilization training program. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v.7, n.1, pp.6-12. 1986.

_____. Muscular atrophy following immobilization a review. **Sports Medicine**, Aukland, v.10, n.1, pp.42-58. 1990.

ARMSTRONG, R. B. Initial events in exercise-induce muscular injury. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. V. 22, pp. 429-435, 1990.

BARRY B.W., Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery, **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. V. 14, pp. 101–114, 2001.

BASSOLI, D. A. Avaliação dos efeitos do ultra-som pulsado de baixa intensidade na regeneração de músculos esqueléticos com vistas à aplicabilidade em clínica fisioterapêutica. **Dissertação de mestrado apresentada na Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos**. São Carlos SP, 2001.

BAZON, J.N.; CALLEGARI, J.L.; VICHNEWSKI, W.; DIAS, D.A.; *et al.*,
Cadinanes and other constituents from *Vernonia fruticulosa* and *Vernonanthura*
discolor. **Phytochemistry** V. 44, pp. 1535–1536, 1997.

BECHARA, G. H.; BATES, M. B.; DUNN, C. J.; WILLOUGHBY, D. A. a pro-
inflammatory role of lymphoid cells in acute pleurisy in rats. **International**
Archives of Allergy and Immunology, Basileia, v. 79, n. 1-2, pp. 419-422,
1986.

BENOIT, P. W.; BELT, W.D. Destruction and regeneration of skeletal muscle
after treatment with a local anaesthetic bupivacaine (Marcaine). **Jornal of**
Anatomy v.107.pp.547-566, 1970.

BISCHOFF R. The satellite cell and muscle regeneration. In: Engel AG,
Franzini-Armstrong C (eds), **Myology** 2nd edn. pp. 97–118. McGraw-Hill, New
York, 1994.

BOHLMANN and ZDERO, F. **Phytochemistry**. V. 19 p. 331, 1980.

BOHLMANN, F.; MÜLLER, L.; GUPTA, R.K.; KING, R.M.; *et al.*, Hirsutinolides
from *Vernonia* species. **Phytochemistry** V. 20, pp. 2233–2237. 1981.

BORELLA, J.C.; LOPES, J.L.; VICHNEWSKI, W.; CUNHA, W.R. *et al.*,
Sesquiterpene lactones, triterpenes and flavones from *Lychnophora ericoides*
and *Lychnophora pseudovilosissima*. **Biochemical Systematics and Ecology**,
Oxford, v.26, p.671-676, 1998.

BORSATO , MLC; GRAEL, CFF; SOUZA, GEP; LOPES NP Analgesic activity
of the lignans from *Lychnophora ericoides*. **Phytochemistry**, v.55(7) pp.809-
813, 2000.

BRASIL, Lei n 9.279, de 14 de maio de 1996. **Regula direitos e obrigações**
relativos à propriedade industrial. Diário Oficial da União, Brasília, DF.
Seção 1, p.1. 15 mai. 1996.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de vigilância sanitária.

Resolução RDC n. 48 de 16.03.04. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. In: site da Agência Nacional de Vigilância Sanitária ([HTTP://www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)). 2004

BRASIL. Instituto Brasileiro do meio Ambiente. **Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção.** Portaria n37-N de abril de 1992. Brasília, 1992.

BREMER, K. 1996. Major clades and grades of the Asteraceae. *In* Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference, Kew, (D.J.N. Hind; H.J. Beentje, eds.). **Royal Botanic Gardens, Kew**, V.1, pp.1-7, 1994.

BREMER, K. Asteraceae. Cladistics and Classification. **Timber** Press, Portland, 1994.

BROWN, S. J.; CHILD, R. B.; Day, S. H.; DONNELLY, A. E. . Exercise-induce skeletal muscle damage and adaptation following repeated bouts of eccentric muscle contractions. **The Journal of Sports Sciences**. v. 15, pp. 215-222, 1997.

CAIOZZO, V.J. Plasticity of skeletal muscle phenotype: mechanical consequences. **Muscle; Nerve**, New York, v.26, n.6, p.740-768, Dec. 2002

CARPENTER, S.; KARPATI, G. **Pathology of skeletal muscle**. New York: Churchill Livingstone, 1984.

CASAROTTO, R. A. Agentes acoplantes em fisioterapia: perdas acústicas e térmicas. **Apresentada a Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina para obtenção do grau de Doutor**. São Paulo; s.n. 51 p, 1999.

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

CICCONE, C. D.; WOLF, S.L. **Pharmacology in rehabilitation**. FA Davis Company, 1990.

CONTRERA, A.; BERNARDI, A.C.; POZETTI, G.L.; LOPES, R.A. *et al.*, Ação da tintura-mãe de *Lichnophora ericoides*, *Aristolochia esperanzae* e *Solidago microglossa*, em feridas cutâneas de ratos. **Revista da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas**. v. 11, pp, 157-60, 1985.

CRISCO, J.J.; JOKL, P.; HEINEN, G. T.; Connell, M.D. *et al.*, A muscle contusion injury model. Biomechanics physiology and histology. **American Journal of Sports Medicine**, Columbus, v.22, n.5, pp.702-710. 1994.

CUNHA, W. R. Estudo fitoquímico e ensaios biológicos de *Lichnophora rupestris* Semir e Leitão Filho (*vernoniae*, *Compositae*). **Tese de doutorado em química apresentado na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto**, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 166 f, 1994.

DELGADO G.; DEL SOCORRO, O. M.; CHÁVEZ, M.; RAMÍREZ-APAN, T. *et al.*, Antiinflammatory constituents from *Heterotheca inuloides*. **The Journal of Natural Products**. v. 64(7) pp, 861-864, Jul 2001.

DUARTE L. R. Estimulação ultra-sônica do calo ósseo. São Carlos. **Tese de livre docência** – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1993.

DUARTE, D.S. Estudo Químico Bio-Monitorado de *Lichnophora pinaster* Mart. **Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais**, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1993.

DUARTE, M. NAKAMURA, S.H. FERREIRA, Participation of the sympathetic system in acetic acid-induced writhing in mice, **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** v. 21, pp. 341–343, 1988.

DYSON, M. Role of ultrasound in wound healing, in Kloth, LC, Mculloch, JM, Feedar, JÁ (eds) Wound Healing: Alternatives in **Management**, pp. 259-285. PA Davis, Philadelphia, 1990.

DYSON, M.; SUCKLING, J. Stimulation of tissue repair by ultrasound: a survey of the mechanisms involved. **Physiotherapy**. v. 73 (3), PP. 116-120, 1987.

FACURY NETO, M. A. Uso sistêmico da arnica (*Solidago microglossa* DC) em cicatrização de feridas cutâneas abertas de ratos. **Apresentada a Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Curso de Medicina para obtenção do grau de Doutor**. São Paulo, s.n; 2001.

FANG, J.Y.; FANG, C. L; SUNG, K. C.; CHEN, H. Y. Effect of low frequency ultrasound on the vitro percutaneous absorption of clobetasol 17-propionate. **International Journal of Pharmaceutics**, v.9, p.33-42, 1999.

FAY, B.; RINKER, M; LEWIN, P.A. Thermoacoustic Sensor for Ultrasound Power Measurements and Ultrasonic Equipment Calibration. **Ultrasound in Medicine; Biology**, v.20, n.4, p.367-373, 1994.

FERNANDES, A. V. Avaliação da eficácia da *Lychnophora ericoides* 6CH no controle da dor, edema e trismo após extrações de dentes impactados: estudo clínico, randomizado, cruzado, duplo-cego e placebo controlado. **Apresentada a Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Odontologia de Araçatuba para obtenção do grau de Doutor**. Araçatuba; s.n;. 165 p. tab 1996.

FILHO.; SILVA.; BELLETI.; MACHADO.; SILVA. Efeito da Irradiação Laser de Baixa Potência Arseneto de Gálio Alumínio (ASGAAL) de 785nm sobre a Cicatrização de Lesão Muscular: estudo experimental. **Revista Univap**, v. 13 n. 23, 2006

FONTOURA, H. S.; OLIVEIRA, R. O. Prevalência de lesões no pé, tornozelo, joelho e coluna vertebral no latismo. **Lecturas educacion fisica y deportes** (Buenos Aires), <http://www.efdeportes.com/indi>, v. 10, n. 87, 2005.

FREDERICK, J.R. Ultrasonic engineering, Wiley, New York, 1965.

FREITAS, L. S.; FREITAS, T. P.; SILVEIRA, P. C. ROCHA, L. P. *et al.*, Effect of therapeutic pulsed ultrasound on parameters of oxidative stress in skeletal muscle after injury **Cell Biology International**, Volume 31, Issue 5, Pages 482-488, May 2007.

FRIZZEL, L. A.; DUNN, F. Biophysics of ultrasound. In: **Lehman J.F. Therapeutic heat and cold**. 3ed. London, Willians; Wilkins. Cap. 8-10, p. 353-562. 1984.

FYFE, M.C.; PARNELL, S. M. The effective transducer radiating in the testing and calibration of therapheutic ultrasonic instruments. **Health Phys** v. 43, n.3, p. 377-381, 1982.

GABRIEL, Y.F. N.; DICKY. T.C. F. The effect of therapeutic ultrasound intensity on the ultrastructural morphology of tendon repair **Ultrasound in Medicine Biology**, July 2007.

GAM AN, J. F. Ultrasound therapy in musculoskeletal disordes: meta-analysis. **Pain**; v, 63 pp,85-91. 1995.

GARRETT, W.E. Muscle strain injuries, **American Journal of Sports Medicine** v, 24, pp. S2–S8. 1996.

GIBSON, J H.Y.; LAURNESON, L.N.P.; PITT, R.R.M. Double-blind Trial of arnica in acute trauma patients. **Homeopathy**. v, 41 pp, 54-55. 1991.

GOBBO-NETO, L. Estudo fitoquímico do extrato polar das folhas de *Lychnophora ericoides* e avaliação de sua atividade antiinflamatória. 2002. 100 f. **Dissertação de Mestrado em Ciências farmacêuticas apresentada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo**, Ribeirão Preto, 2002.

GOUVÊA, C.M.C.P.; VIEIRAL, P.M.N.; AMARAL, A.C. Efeito do ultra-som na recuperação de músculo tibial anterior de rato lesado. **Revista da Universidade de Alfenas**, v.4, p.165-173, 1998.

GRAEL, C. F. F. Estudo químico e ensaios biológicos de *Lychnophora pohlii* Schultz-bip. (Vernonieae, Asteraceae). Tese de doutorado em ciências farmacêuticas apresentada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 187 f, 2003.

GROS, J.; MANCEAU, M.; THOME, V.; MARCELLE, C. A common somitic origin for embryonic muscle progenitors and satellite cells, **Nature** v, 435, pp. 954–958, 2005.

GUIRRO, E.; GUIRRO, R. **Fisioterapia em Estética**, 2º edição, São Paulo, Editora Manole, 1996.

GUIRRO, R.; CANCELIERI, A. S.; SANTANA, I. L.. Avaliação dos meios intermediários utilizados na aplicação do ultra-som terapêutico. **Revista Brasileira de Fisioterapia**. v, 5(2) pp, 49-52, jul.-dez.2001.

GUIRRO, R.; R.; SANTOS, S.C.B. A realidade da potência acústica emitida pelos equipamentos de ultra-som terapêutico: uma revisão. **Revista de Fisioterapia da Universidade de São Paulo**. v.4, n.2, p.76-82, 1997.

GUYTON, ARTHUR C, HALL, JOHN E. **Tratado de fisiologia médica**, 9. ed Guanabara Koogan São Paulo SP, 1997.

HADAAD S. Estímulo do testículo de ratos pré-púberes, púberes e adultos com ultra-som pulsado de baixa intensidade. Ribeirão Preto. **Dissertação de mestrado apresentada na faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**. 1992.

HERZ, W. A review of the terpenoid chemistry of Vernoniaeae. IN: D.J.N Hind; H.J. Beentje (eds) *Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference Kew, 1994.* **Royal Botanic Gardens**, Kew. P229251, 1996.

HIKES, D. L.; HEDRICK, W.R.; STARCHAMAN, D. E. *Ultrasound physics and instrumentations.* **New York, Churchill Livingstone.** 247p. 1985.

HIKIMA, T, HIRA.I Y and TOJO. K., The effect of ultrasound application on skin metabolism of prednisolone 21-acetate. **Pharmaceutical Research.** v, 15, pp. 1680–1683. 1998.

HILL, C.R. Ultrasonic exposure threshold for changes in cell tissues. **The Journal of the acoustical society of America**, v.52, p.667-72. 1972

HILL, M.; WERNIG, A.; GOLDSPIK, G. Muscle satellite (stem) cell activation during local tissue injury and repair. **Journal of Anatomy.** v. 203, n.1, p. 89-99, 2003.

HIND, D.J.N.; BEENTJE, H.J. 1996. *Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference, Kew,.* **Royal Botanic Gardens**, Kew. v.1, p.621-626. 1994.

HUARD, J. L.; FU,F.H. Muscle injuries and repair: current trends in research, **Journal of Bone and Joint Surgery** v, 84-A, pp. 822–832, 2002.

HURME, T.; KALIMO. H.; LEHTO, M.; JÄRVINEN, M. Healing of skeletal muscle injury: ultrastructural and immunohistochemical study. **Medicine and Science in Sports Exercise**, Madison, v.23, n.7, p.801-810. July, 1991.

JAKUBIEC-PUKA, A.;CIECHOMSKA, I.;MORGA, J.;MATUSIAK, A. Contents of myosin heavy chains in denervated slow and fast rat leg muscles. **Comparative Biochemistry and Physiology.** v. 122B, p. 355-362, 1999.

JARVINEN, T.A.; KAARIAINEN, M.; JARVINEN, M.; KALIMO, H. Muscle strain injuries. **Current Opinion in Rheumatology**. v.12, pp. 155-161, 2000.

JÄRVINEN, T.A.H.; JÄRVINEN, T.L.N.; KÄÄRIÄINEN, M. Biology of muscle trauma, **American Journal of Sports Medicine** v, 33, pp. 745–766, 2005.

JORDÃO, C. O. Estudo fitoquímico e ensaios biológicos de *Lychnophora gardneri* Schultz-Bip. **Tese de doutorado em ciências farmacêuticas apresentada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto**, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 178f, 2003.

JUNQUEIRA, L. C. U. **Biologia Estrutural dos Tecidos – Histologia**. Ed. Guanabara Koogan. São Paulo 2005.

KAARIAINEN, M.; JARVINEN, T.; JARVINEN, M.; RANTANEN, J.; KALIMO, H. Relation between myofibers and connective tissue during muscle injury repair. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**. v. 10, p. 332-337, 2000.

KANNUS, P.; PARKKARI, J.; JÄRVINEN, T.L.; JÄRVINEN, T.A. *et al.*, Basic science and clinical studies coincide: active treatment approach is needed after a sports injury. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**. v. 13, p. 150-154, 2003.

KARIN H. G.; MIEKE, A. D.; EMIEL, F.M. Wouters, Longitudinal follow-up of systemic inflammation after acute exacerbations of COPD, **Respiratory Medicine**. v.101(11), pp. 2409-2415. Nov. 2007.

KAZIRO, G.S.N. Metronidazole (Flagyl) and arnica montana in the prevention of post-surgical complications: a comparative placebo controlled clinical Trial. Br. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. v. 22, pp, 22-49. 1984.

KING, B. L. A systematic survey of the leaf flavonoids of *Lychnophora* (*Asteraceae*, *Vernonieae*). **Systematic Botany** v. 11(3), p. 414, 1986.

KITCHEN, S.; BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton**. 10^o ed, São Paulo, Editora Manole, 1998.

KITCHEN, S.; BAZIN, S. **Eletroterapia: Prática Baseada em Evidências - 11^a** ed, São Paulo, Editora Manole, 2003.

KLUFT, C.; MAAT, M. P. M. Sensitive markers of inflammation make it possible to study the chronic process: the rise of interest in low levels of C-reactive protein, *Vascular Pharmacology*. v. 39(3), pp. 99-104. Aug, 2002.

KOEKE, P.U. Estudo comparativo da eficácia da fonoforese, do ultra-som terapêutico e da aplicação tópica de hidrocortisona na tratamento do tendão de rato em processo de reparo tecidual. **Dissertação de mestrado apresentada na Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos**. São Carlos SP 2001.

KOO H; GOMES BP; ROSALEN PL; AMBROSANO GM; PARK YK; CURY JÁ. In vitro antimicrobial activity of propolis and *Lychnophora ericoides* against oral pathogens. **Archives of Oral Biology**. v. 45(2) pp.141-148. Feb, 2000.

KOTTKE; LEHMANN. **Tratado de Medicina Física e Reabilitação de Krusen**. 4^o edição, São Paulo, Editora Manolel, 1994.

LAWSON-SMITH, M. J.; McGEACHIE, J. K. The identification of myogenic cells in skeletal muscle, with emphasis on the use of tritiated thymidine autoradiography and desmin antibodies. **Journal of Anatomy**., v.192, pp.161-171. 1998.

LEFAUCHEUR, J.P.; SÉBILLE, A. The cellular events of injured muscle regeneration depend on the nature of the injury. **Neuromuscular Disorders**. v. 5, n. 6, pp. 501-509, 1995.

LEITE, A.J. Quantificação da ruptura celular produzida por ultra-som em eritrócitos do sangue humano. Ribeirão Preto. **Dissertação de mestrado apresentada na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da universidade de São Paulo**. 1989.

LI, J.K.; CHANH, W.H.; LIN, J.C.; RUAAN, R.C. *et al.*, Cytokine release from osteoblasts in response to ultrasound stimulation. **Biomaterial** v,24; p,2379-2385, 2003.

LIEBER, R.L.; FRIDÉN, J. Clinical significance of skeletal muscle architecture. **Clinical orthopaedics and related research**, Philadelphia, n.383, p.140-151, Feb. 2001

LOPES, N.P. A essência da arnica. **Fapesp Pesquisa** 64, 42-44, 2001.
LUSSIGNOLI, S.; BERTANI, S.; METELMANN, H.; BELLAVITE, P. *et al.*, Effect of Traumeel S, a homeopathic formulation, on blood-induced inflammation in rats. **Complementary therapies in medicine**. v. 7(4), pp.225-30, Dec. 1999.

MACEDO, S. B. Ação da *Lychnophora ericoides* 6 CH, no edema, abertura bucal e dor, em pacientes submetidos à extração de terceiros molares inferiores inclusos: avaliação clínica. **Apresentada a Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Odontologia de Araçatuba para obtenção do grau de Doutor**. Araçatuba; s.n;. 94 p. illus, tab. (BR) 1988.

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

MADDI, A.; HAI, H.; ONG, S.T.; SHARP, M.H. *et al.*, S. Long wave ultrasound may enhance bone regeneration by OPG/RANKL ratio in human osteoblast-like cells. **Bone**. v.39, pp.283-288, 2006

MANTOVANI, A.; GARLANDA,C.; LOCATI, M.; SAFIYE, T.V.R. *et al.*, Regulatory pathways in inflammation, **Autoimmunity Reviews**.V. 7, n. 1, pp. 8-11. Nov. 2007.

MARK, A.; MERRICK.; MATTHEW, R.; MIHALYOV. *et al.*, A Comparison of Intramuscular Temperatures During Ultrasound Treatments With Coupling Gel or Gel Pads. **Journal of orthopaedic and sports physical therapy**. v. 32(5). May, 2002.

MARTINDALE, J.C.; WILSON, A.W.; REEVE, A.J.; CHESSELL ,I.P. *et al.*, Chronic secondary hypersensitivity of dorsal horn neurones following inflammation of the knee joint. **Pain**. v. 133(1),pp. 79-86. Dec, 2007.

MASSADA, J. L. **Lesões Musculares no Desporto** Ed. Caminhos, Lisboa Portugal, 2003.

MAURO, A. Satellite Cell of Skeletal Muscle Fibers. **Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**. v. 19, pp. 493-495, 1961.

MCARDLE, W.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do Exercício - Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. Ed. Guanabara Koogan. São Paulo 2003.

MCCABE, M.; PYE, S. Therapeutic Ultrasound: Risk Associated with Poor Calibration. **Physioterapy**. v.83, n.5, p.228, 1997.

McLENNAN, I.S. Degenerating and regenerating skeletal muscle contain several subpopulations of macrophages with distinct spatial and temporal distributions. **Journal of Anatomy**, London, v.188(1), pp.17-28. Feb, 1996.

MEIDAN, M.; DOCKER, M., WALMSEY, A.D.; IRWIN, W.J. Low intensity ultrasound as a probe to elucidate the relative follicular contribution to total transdermal absorption. **Pharmaceutical Research**. v. 15, pp. 85–92, 1998.

MEIDAN, V.M.; WALMSLEY, A.D.; DOCKER, M.F.; IRWIN, W.J. Ultrasound enhanced diffusion into coupling gel during phonophoresis of 5-fluorouracil.

International Journal of Pharmaceutics, v.185, pp.205-213, 1999.

MENETREY, J.; KASEMKIJWATTANA, C.; DAY, C S.; BOSCH, P. *et al.*,

Growth factors improve muscle healing in vivo. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 2(1), pp. 131-137, 2000.

MENON, G.K.; BOMMANNAN, D.B.; ELIAS, P.M. High-frequency sonophoresis: permeation pathways and structural basis for enhanced permeation. **Skin Pharmacology**. v. 7, pp. 130–139, 1994.

MERRICK, M.A.; MIHALYOV, M.R.; ROETHEMEIER, J.L.; CORDOVA, M.L. *et al.*, A comparison of intramuscular temperatures during ultrasound treatments with coupling gel or gel pad. **Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy**.v. 32, pp. 216-220, 2002.

MINAMOTO, V. B.; SALVINI, T. F. O músculo como um órgão de secreção hormonal regulador pelo estímulo mecânico. **Revista Brasileira de Fisioterapia**. v. 5, n. 2, pp.87-94, 2001.

MIRANDA, L. T. G. S. Uso da tintura de arnica em feridas cutâneas abertas em ratos. **Apresentada a Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Curso de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental para obtenção do grau de Doutor**. São Paulo; s.n.; [38] p. illus, tab, 2001.

MITRAGOTRI, J.; KOST. Low frequency sonophoresis: a noninvasive method of drug delivery and diagnostics. **Biotechnology Progress**. v. 16, pp. 488–492, 2000.

MITRAGOTRI, S.; FARREL, J.; TANG, H.; TERAHARA, T. *et al.*, Determination of threshold energy dose for ultrasound-induced transdermal drug transport. **Elsevier Science BV**, v.43, pp. 41-52, 2000.

MORTIMER, A.J.; DYSON, M. The effect of therapeutic ultrasound on calcium uptake in fibroblasts. **Ultrasound in Medicine and Biology**. v. 14, pp. 499–506, 1988

OKUNO, E.; CALDAS, I.L.; CHOW, C. **Física para Ciências Biológicas e Biomédicas**, Harbra, Brasil, 1986

OLIVIER, M.; MIEKE, D.; DIDIER, C.; BRIGITTE, C. *et al.*, Evaluation of oral corticosteroids and phosphodiesterase-4 inhibitor on the acute inflammation induced by inhaled lipopolysaccharide in human, **Pulmonary Pharmacology; Therapeutics** v. 20(6), pp. 676-683. Dec, 2007.

ONO, K.; ABE, J.I.; KAGAWA, H.; HIZAWA, K. Immunohistochemical analysis of myoblast proliferation and differentiation in experimental skeletal muscle regeneration. **Zentralbl. Pathology**, v.139, pp.231-237. 1999

OREN, T.; ERAN, L.; RAM, R. High selenium diet protects against TNBS-induced acute inflammation, mitochondrial dysfunction, and secondary necrosis in rat colon. **Nutrition** v. 23(11-12), pp. 878-886 Nov-Dec, 2007.

PARIZOTTO, N. A., KOEKE, P. U., MORENO, B. G. D., LOURENCIN, F. T. C. Utilização da fonoforese em distúrbios músculo-esqueléticos: uma meta-análise. **Revista Brasileira de fisioterapia**, v. 7 (1) pp. 9-15, 2003.

PAULA, J. L.. Ultra-som: considerações gerais. **Fisioterapia em movimento**. v.7(1), pp. 9-16, 1994.

PHILIP, F. S.; WADE, R. S.; ERNEST, E. M. Role of biological modifiers regulating the immune response after trauma. **Injury** In Press, Corrected Proof, Available online 28 Nov, 2007.

PINSET, R. J. F. M.; BAKER, G. P. I.; IVES, G.; DAVEY, R. W. *et al.*, Does arnica reduce pain and bleeding after dental extraction **Midland Homeopathy Resource Group Newsletter**. v. 11, pp.71-72, 1984.

PINTO, C.A.; SILVA, S.H.D.; BOLZANI, S.V.; LOPES, P.N.; EPIFANIO, A. R.
Produtos Naturais: Atualidade, Desafios E Perspectivas. **Quimica. Nova**, v. 25
(1), pp. 45-61, 2002.

PORTH, C. M. **Fisiopatologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

POTVIN, S.; STIP, E.; SEPEHRY, A. A.; GENDRON, A.; BAH, R.; KOUASSI, E.
Inflammatory Cytokine Alterations in Schizophrenia: A Systematic Quantitative
Review **Biological Psychiatry**, 2007.

PRENTICE, W.E. Laser de baixa potência. **Modalidades terapêuticas em
medicina esportiva**. 4ed. São Paulo: Manole. Cap. 11, p.246-265. 2002

PRISK, V.; HUARD, J. Muscle injuries and repair: the role of prostaglandins and
inflammation. **Histology and Histopathology**, Murcia, v.18, n.4, p.1243-1256,
Oct, 2003.

RAMELET, A.A; BUCHHEIM, G; LORENZ P; IMFELD M. Homeopathic Arnica
in postoperative haematomas: a double-blind study. **Dermatology**. v. 201(4),
pp. 347-8, 2000.

RAMKUMAR, S.; SHAHRAGIM, T. Skeletal muscle stem cell birth and
properties, **Seminars in Cell Developmental Biology**. v. 18(6), pp. 870-882.
Dec, 2007.

ROBINSON, H. New species and new combinations of Neotropical Eupatorieae
(*Asteraceae*). **Phytologia** v. 84, pp. 347-353, 1999.

ROSIM, G. C.; BARBIERI, C. H.; LANÇAS, F. Mauro.; MAZZER, N. Diclofenac
phonophoresis in human volunteers. **Ultrasound in Medicine Biology**., v. 31
(3), pp. 337-343, 2005.

RUBIN, E.; FARBER, J. L. **Patologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SAAD, M.; ATLAS, S. Fonoforese: revisão de literatura. **Physical Medicine & Rehabilitation**. v.41, pp. 7-10, ago, 1995.

SANTOS, M. D. *Lychnophora ericoides* Mart: avaliação farmacológica e considerações sobre o metabolismo oxidativo das substâncias bioativas **Tese de doutorado apresentada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP) SP**. 2006

SANTOS, M. D.; GOBBO-NETO, L.; ALBARELLA, L.; SOUZA, G. E. P. *et al.*, Analgesic activity of di-caffeoylquinic acids from roots of *Lychnophora ericoides* (Arnica da serra) **Journal of Ethnopharmacology**, v.96 (3) pp 545-549. January, 2005.

SEMIR, J. Revisão taxonômica de *Lychnophora Mart. (Veroniaceae: Compositae)*. Campinas: UNICAMP. 515p. (**Tese doutorado**). 1991

Serrão, F. V.; Foerster, B.; Spada, S.; Morales, M. M. B. *et al.*, Functional changes of human quadriceps muscle injured by eccentric exercise. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 36, n. 6, pp. 781-786, 2003.

STEVENS, A.; LOWE, J. **Histologia Humana** – 2ª edição, Ed. Manole, São Paulo, 2001

STEWART, H. F.; HARRIS, G.R; HERMAN, B.A.; ROBINSON, R. A.; HARAN, M. E.; MCCALL, G. R.; CARLESS, G.; REES, D. Survey of use and performance of ultrasonic therapy equipment in pinellas county. Florida. **Physical Therapy**. v.54, pp.707-715, 1974.

STUART, I.M.; LOI, L.; FINCHER, G.B.; Development of (1→3,1→4)-β-D-glucan endohydrolase isoenzymes in isolated scutella and aleurone layers of barley (*Hordeum vulgare*). **Plant Physiology**. 80:310–314, 1986.

SVERZUT, A.C.M.; CHIMELLI, L. O papel das células satélites nas respostas adaptativas do tecido muscular esqueléticos. **Revista de Fisioterapia da Universidade de São Paulo**. v. 6, n. 2, pp. 132-139, 1999.

SZANTO, A.; ROSZER, T. Nuclear receptors in macrophages: A link between metabolism and inflammation, **FEBS Letters** In Press, Corrected Proof, Available online 20 November 2007.

TER HARR, G. Basic physics of therapeutic ultrasound. **Physiotherapy**, London, v. 73, n. 3, pp. 110-113, 1987.

TERO, A.H.; JÄRVINEN, T. L.N.; JÄRVINEN, M.; KÄÄRIÄINEN, V. Muscle injuries: optimising recovery Best Practice; Research Clinical **Rheumatology**. v. 21(2), pp. 317-331. Apr, 2007.

TETAU, M. **Matéria médica homeopática clínica e associações bioterápicas**. São Paulo: Andrei Editora. p.67-70 1987.


TETAU, M.. Arnica and injury, double blind clinical study. **The Homeopathic Heritage**. v. 18, pp. 625-627, 1993.

TIDBALL, J.G. Inflammatory cell response to acute muscle injury. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.27, n.7, p.1022-1032, July, 1995.

WAGNER, S.; HOFMANN, A.; SIEDLE, B.; TERFLOTH, L. *et al.*, Development of a structural model for NF-kappaB inhibition of sesquiterpene lactones using self-organizing neutral networks. **the Journal of Medicinal Chemistry**.v. 49, pp. 2241-2252, 2006.

WARDEN, S.J.; MCMEEKEN, J.M. Ultrasound usage and dosage in sports physiotherapy. **Ultrasound in Medicine Biology**., v.28, n.8, pp.1075-1080, 2002.

- WELLS, P.N.T. Biomedical ultrasonics. **Academic Press**, New York, 1977.
- WILLIAMS, R. A. Ultrasound: biological effect and potential hazards. **Academic Press**. London, 1982
- YANG, J. H.; KIM, D. K.; KIM, T. Y.; SHIN, S. C. Anti-inflammatory effects by transdermal application of triamcinolone acetonide gel using phonophoresis in rats. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 302 (1-2), pp. 39-46, 2005.
- YOUNG, S.R.; DYSON, M. Effect of therapeutic ultrasound on the breaking of fullthickness excise skin lesions. **Ultrasonic**, v.28, n.3, p.175-180, 1990.
- YUI, F.; LINARELLI, M. C. B.; ZELANTE, P. M. Atividade antiinflamatória da Arnica Montana. **Revista de ciências médicas** v. 7(1) pp. 21-26. jan.-abr, 1998.
- ZEQIRI, B. Calibration and Safety of Physioterapy Ultrasound Equipament. **Physiotherapy**. v.83, n.10, pp.559-560, 1997.


Anexos**Anexo I - Declaração do comitê de ética e pesquisa**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - IB
COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL - CEUA

Brasília, 06 de novembro de 2007

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado "INFLUÊNCIA DAS PROPRIEDADES ANTIINFLAMATÓRIAS DA ARNICA (*LYCHNOPHORA ERICOIDES*) NO TRATAMENTO DE LESÕES MUSCULARES ATRAVÉS DO USO DO ULTRA-SOM TERAPÊUTICO", UNBDOC nº 74664/2007, sob responsabilidade do Prof. Ricardo Bentes de Azevedo, foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.


Prof. Anamélia Lorenzetti Bocca
Coordenadora do CEUA