

Efeitos agudos do alongamento muscular do gastrocnêmio após contusão em ratos

Acute effects of gastrocnemius muscle stretching after contusion in rats

Efectos agudos del estiramiento muscular del gastrocnemio tras contusión en ratones

Ana Carolina Brandt de Macedo^{1,2}, Juley Leiko Ywazaki¹, Jaqueline Pacheco², Sibelly Gonçalves², Anna Raquel Silveira Gomes¹

RESUMO | O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos agudos do alongamento após contusão do gastrocnêmio de ratos. Foram selecionados 33 ratos *Wistar* machos (8 semanas, 219±35 g), que foram divididos em 4 grupos: Controle (GC, n=3) - intacto; Lesão (GL, n=10); Alongamento (GA, n=10); Lesão e Alongamento (GLA, n=10). O gastrocnêmio direito (GD) foi submetido à contusão. O alongamento do GD foi realizado manualmente, 4 repetições de 30 segundos, durante 5 dias, iniciado 72 horas após a lesão. Após uma semana, os ratos foram pesados, e os músculos de ambas as patas foram retirados para análise do peso e comprimento muscular, número e comprimento dos sarcômeros. O peso corporal final aumentou em todos os grupos. O peso, comprimento muscular e número de sarcômeros em série (NSS) do GL foram maiores que o GA. Porém, o NSS do GLA foi superior ao GA. O comprimento dos sarcômeros do GA foi maior que os demais grupos. Conclui-se que a contusão e o alongamento não interferiram no ganho de peso corporal. O alongamento induziu sarcomerogênese em músculos lesados, porém não modificou o músculo hígido.

Descritores | Músculo Esquelético/lesões; Exercícios de Alongamento Muscular/métodos.

ABSTRACT | The aim of this study was to evaluate the acute effects of stretching after gastrocnemius contusion in rats. Thirty-three male *Wistar* rats were selected (8 weeks, 219±35 g) and divided into 4 groups: Control (CG, n=3) - intact; Lesion (LG, n=10); Stretching (SG, n=10); Lesion and

Stretching (LSG, n=10). The right gastrocnemius (RG) was submitted to contusion. Stretching on RG was performed manually, with 4 repetitions of 30 seconds each day, for 5 consecutive days, beginning 72 hour after contusion. One week later, rats were weighed and both paws were removed for investigation of muscle length, serial sarcomere number and sarcomere length. The final body weight increased in all groups. The muscle weight and length, as well as the serial sarcomere number (SSN) of LG, were higher than SG. However, the SSN of LSG was higher than SG. The sarcomere length of SG was the highest among all groups. It was concluded that the contusion and stretching did not affect body weight gain. The stretching induced sarcomerogenesis in injured muscle, but did not modify the healthy muscle.

Keywords | Muscle, Skeletal/injuries; Muscle Stretching Exercises/methods.

RESUMEN | El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos agudos del estiramiento después de la contusión del gastrocnemio de ratones. Fueron seleccionados 33 ratos *Wistar* machos (8 semanas, 219±35 g), divididos en 4 grupos: Control (GC, n=3) - intacto; Lesión (GL, n=10); Estiramiento (GE, n=10); Lesiones y Estiramiento (GLE, n=10). El gastrocnemio derecho (GD) fue sometido a contusión. El estiramiento del GD se realizó manualmente, 4 repeticiones de 30 segundos durante 5 días comenzando 72 horas después de la lesión. Luego de una semana, las ratas fueron pesadas y se eliminaron los músculos de las patas para el análisis de peso y longitud muscular, número

Estudo desenvolvido nas Faculdades Integradas do Brasil (UniBrasil) - Curitiba (PR), Brasil.

¹Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Curitiba (PR), Brasil.

²Curso de Fisioterapia da UniBrasil - Curitiba (PR), Brasil.

y longitud de los sarcómeros. El peso corporal final aumentó en todos los grupos. El peso, la longitud muscular y el número de sarcómeros en serie (NSS) del GL fueron superiores al GE. Sin embargo, el NSS del GLE fue superior al GE. La longitud del sarcómero del GE fue más alta que la de los otros grupos. Se concluye que

la contusión y el estiramiento no afectaron a la ganancia de peso corporal. El estiramiento generó sarcomerogenesis en músculos lesionados, pero no modificó el músculo sano.

Palabras clave | Músculo Esquelético/lesiones; Ejercicios de Estiramiento Muscular/métodos.

INTRODUÇÃO

A contusão é uma lesão causada por trauma direto no músculo esquelético, de forma tangencial ou direta, e representa 60% das lesões esportivas¹. Pode ser dividida em leve, moderada e grave, e apresenta sinais e sintomas como dor, edema, limitações da amplitude de movimento, da força muscular, da função e da marcha, proporcional ao grau da lesão².

Depois de uma lesão muscular aguda, têm sido recomendados o princípio do repouso, a crioterapia/compressão/elevação e a mobilização precoce^{2,3}. Ainda, frequentemente, são prescritos anti-inflamatórios^{4,6}, injeções de actovegin, manipulações e exercícios, porém as revisões sistemáticas apontam para evidências científicas reduzidas sobre o tratamento^{7,8}.

Entre os diversos exercícios recomendados para o tratamento da contusão muscular, o alongamento muscular é comumente utilizado na reabilitação e na prática esportiva^{1,7}. No entanto, ainda não estão claros os efeitos desse exercício no processo de regeneração muscular⁹⁻¹¹. Segundo Kannus *et al.*¹², a movimentação livre e a mobilização na esteira melhoram a orientação das fibras de colágeno e a atrofia causada pela imobilização. Outros estudos com ratos reportaram que o alongamento muscular passivo estático pode reduzir a atrofia muscular¹³, aumentar a área de secção transversa das fibras musculares e o número de sarcómeros em série¹⁴.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos agudos do alongamento muscular após contusão do músculo gastrocnêmio de ratos.

METODOLOGIA

Animais e grupos experimentais

Após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética (CEEA) (491/2010), foram selecionados 33 ratos albinos jovens (8 a 9 semanas), com peso corporal inicial de 219±35 g. Os animais foram agrupados e mantidos em

gaiolas plásticas padrão, em condições ambientais controladas (luminosidade: 12 horas de ciclo claro/escuro) com livre acesso à água e ração peletizada.

Os animais foram divididos em quatro grupos: Grupo Controle (GC, n=3): o músculo gastrocnêmio não foi submetido à contusão e não recebeu nenhum tratamento; Grupo Lesão (GL, n=10): foi realizada a contusão do músculo gastrocnêmio direito (MGD), como descrito por Minamoto *et al.*¹⁵; Grupo Alongamento (GA, n=10): o MGD não foi submetido à contusão, porém 72 horas após a chegada do animal ao biotério foi iniciado o alongamento passivo do MGD, 1 vez por dia, durante 5 dias consecutivos. Foram realizadas 4 repetições de alongamento, com duração de 30 segundos cada, com intervalo de 30 segundos entre cada repetição¹⁶, repetido 4 vezes¹⁷; Grupo Lesão e Alongamento (GLA, n=10): o MGD foi submetido à contusão, e, após 72 horas, foi iniciado o alongamento, seguindo o mesmo protocolo descrito anteriormente. Todos os ratos de todos os grupos foram submetidos à ortotanásia no 8º dia (Figura 1).

Protocolo para promover a contusão muscular

Os animais foram anestesiados com Ketamina (95 mg/kg) e Xylazina (12 mg/kg) intraperitoneal e mantidos em decúbito ventral, com a pata direita posterior imobilizada manualmente, em extensão de joelho e flexão dorsal a 90º da articulação tíbio-társica. Com os animais sob efeito anestésico, a contusão seguiu o protocolo de Minamoto *et al.*¹⁵.

Protocolo para o alongamento do músculo gastrocnêmio

Para o alongamento do MGD, os animais foram imobilizados manualmente e foi realizada a dorsiflexão máxima da pata direita, por 30 segundos com intervalo de 30 segundos entre cada repetição¹⁶, repetido 4 vezes¹⁷. O alongamento foi iniciado 72 horas após a lesão, sendo realizado diariamente, uma vez ao dia, durante 5 dias consecutivos.

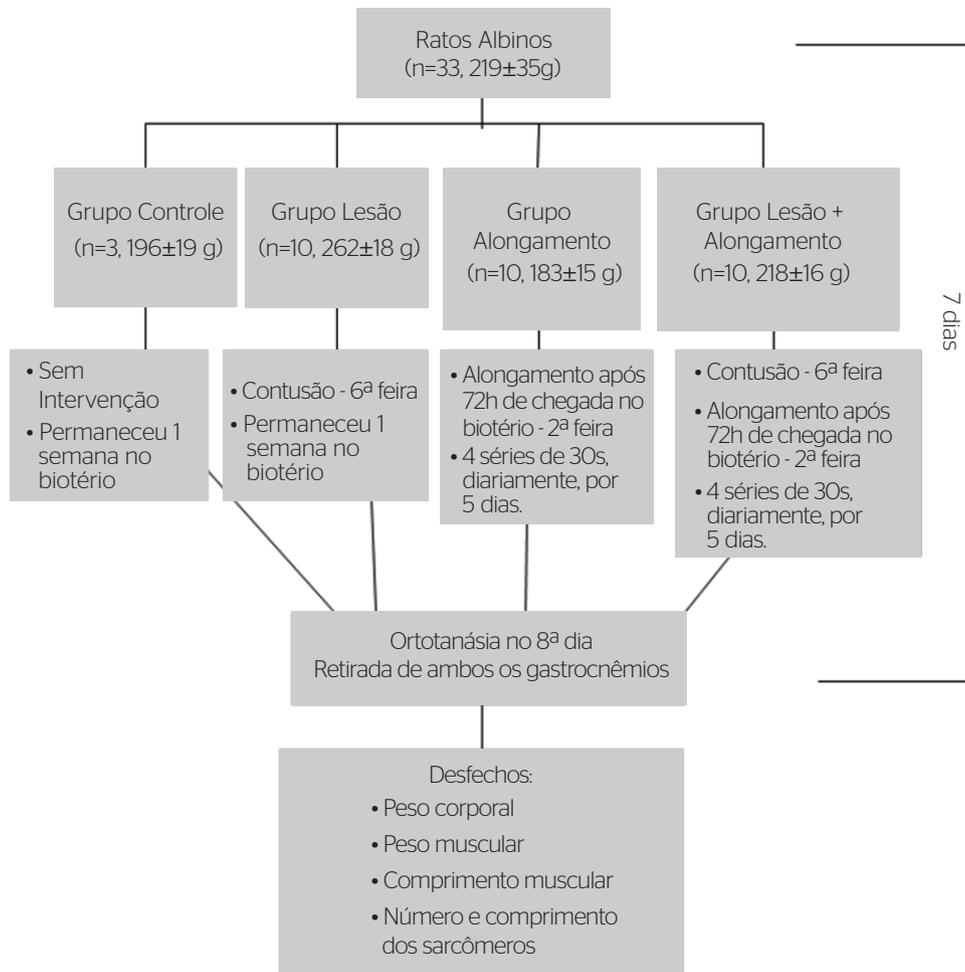


Figura 1. Fluxograma do estudo

Ortotanásia dos animais e retirada dos músculos

Após 24 horas do término do experimento, os animais receberam anestesia intraperitoneal (Ketamina, 95 mg/kg e Xylazina, 12 mg/kg) para a retirada dos músculos gastrocnêmios bilateralmente. Em seguida, os animais foram submetidos à ortotanásia com overdose anestésica.

Durante a dissecação, os músculos foram periodicamente gotejados com solução salina (NaCl 0,9%). Posteriormente, o músculo foi pesado em balança eletrônica de precisão, e depois disso foi mensurado o comprimento muscular por meio de um paquímetro digital. Em seguida, o músculo gastrocnêmio foi mergulhado em solução de glutaraldeído (2,5%) por 3 horas e então foi transferido para solução de ácido nítrico (30%) por 48 horas e posteriormente armazenado em glicerol (50%).

Estimativa de sarcômeros em série e comprimento dos sarcômeros

Para confecção das lâminas histológicas, cinco fibras musculares foram isoladas do ventre de cada músculo gastrocnêmio, direito e esquerdo. Em seguida, as fibras isoladas foram montadas em lâmina histológica, em meio contendo gelatina-glicerina (*Sigma*), e protegidas por uma lamínula. Em cada fibra muscular, o número de sarcômeros em série foi identificado ao longo de 300 μm , em microscópio de Luz (objetiva 100x, em imersão). A quantificação foi realizada em monitor de vídeo, com sistema de vídeo-imagem acoplado ao microscópio.

O número total e o comprimento dos sarcômeros, em cada fibra muscular isolada, foram estimados pela correlação entre o número de sarcômeros identificados ao longo de 300 μm da fibra e o comprimento total do músculo, como descrito por Williams e Goldspink¹⁸. Apesar de haver controvérsias na literatura, neste

estudo, o comprimento dos sarcômeros ao longo das fibras musculares foi considerado homogêneo¹⁴.

Análise estatística

Para avaliar a normalidade e a homoscedasticidade, foram realizados os testes Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. As estatísticas descritivas para os resultados paramétricos e não paramétricos estão expressas como a média±desvio padrão. As comparações intra e intergrupos foram realizadas por meio da ANOVA *post hoc Tukey unequal HSD* para valores paramétricos; quando não paramétricos, foi usado o *Kruskall Wallis*. Os valores foram considerados significativos quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Peso corporal

Foi encontrado aumento significativo entre o peso corporal inicial e o final em todos os grupos (intragrupo, $p < 0,05$, ANOVA *post hoc Tukey unequal HSD*). Em relação ao peso absoluto, o peso corporal final do GL foi maior que o GA (337 ± 28 versus 281 ± 28 g, $p = 0,008$) e GLA (337 ± 28 versus 275 ± 25 g, $p = 0,002$, ANOVA). Já em relação à diferença relativa no ganho de peso, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. Os resultados estão descritos na Tabela.

Peso muscular

Não foi encontrada nenhuma diferença significativa comparando-se o MGD e o esquerdo (MGE) (intragrupo, $p > 0,05$). Na comparação intergrupos, o peso muscular do MGD do GL foi maior que o GA ($1,89 \pm 0,17$ versus $1,33 \pm 0,13$ g, $p = 0,001$, *Kruskall-Wallis*). Os resultados estão demonstrados na Figura 2.

Tabela. Efeito do alongamento no peso corporal dos ratos

Grupos	Peso inicial (g) Média±DP	Peso final (g) Média±DP	Diferença relativa (%)	Valor p ANOVA
GC	196±19	286±19*	46,3	0,0006
GL	264±18	337±28**	28,6	0,0001
GA	190±12	275±25*	45,1	0,0001
GLA	197±21	281±28*	43,7	0,0001

Os resultados são média±desvio padrão. GC: Grupo Controle; GL: Grupo Lesão; GA: Grupo Alongamento; GLA: Grupo Lesão e Alongamento. *comparado com o peso corporal inicial; #comparado com GA ($p = 0,0008$) e com GLA ($p = 0,0002$)

Comprimento muscular do gastrocnêmio

Analisando o comprimento muscular do MGD e MGE, não foi observada diferença significativa intragrupo. Nas comparações intergrupos, o comprimento do MGD do GL foi maior em relação ao GA ($28,53 \pm 3,63$ versus $22,37 \pm 1,82$ mm, $p = 0,01$, ANOVA *post hoc Tukey unequal HSD*). Os dados estão apresentados na Figura 3A.

Estimativa do Número de Sarcômeros em Série

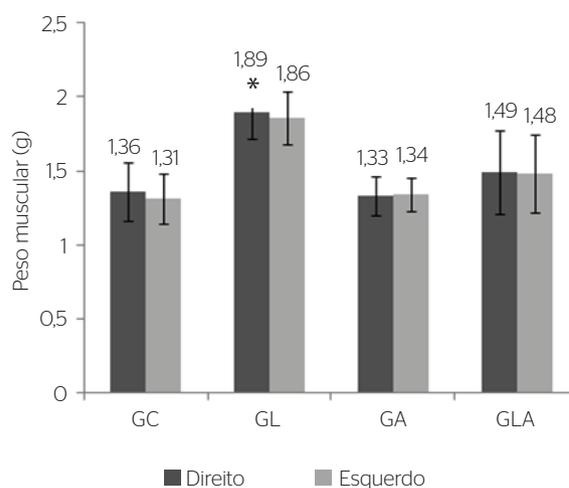
Na comparação entre o número de sarcômeros em série do MGD e MGE, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa (ANOVA *post hoc Tukey*).

Na comparação intergrupos do MGD, o GL foi maior que o GA (9.455 ± 1.540 versus 5.023 ± 1.188 ; $p = 0,0001$, ANOVA *post hoc Tukey unequal HSD*) e o GLA foi maior que o GA (9.123 ± 720 versus 5.023 ± 1.188 ; $p = 0,0002$). Os dados estão demonstrados na Figura 3B.

Comprimento dos sarcômeros

Em relação à comparação intragrupo, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa em nenhum grupo.

No comprimento dos sarcômeros do MGD, foi encontrado aumento significativo do GA em relação ao GL ($4,60 \pm 0,77$ versus $3,03 \pm 0,18$ μm , $p = 0,0008$), em relação ao GLA ($4,60 \pm 0,77$ versus $2,96 \pm 0,17$ μm , $p = 0,001$) e em relação ao GC ($4,60 \pm 0,77$ versus $2,95 \pm 0,03$ μm , $p = 0,001$) (ANOVA *post hoc Tukey unequal HSD*). Os dados estão apresentados na Figura 3C.

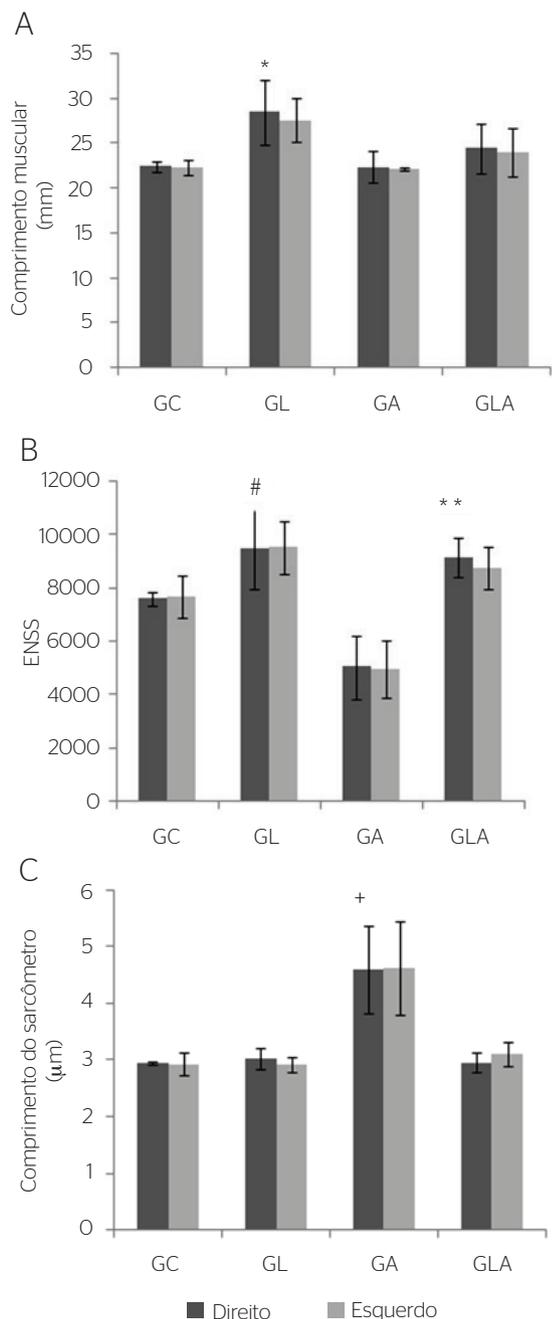


Os resultados são média±desvio padrão. GC: Grupo Controle; GL: Grupo Lesão; GA: Grupo Alongamento; GLA: Grupo Lesão e Alongamento. * $p = 0,001$ quando comparado ao GA. Direito: músculo gastrocnêmio direito; Esquerdo: músculo gastrocnêmio esquerdo

Figura 2. Efeito do alongamento no peso muscular do gastrocnêmio

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo mostraram um aumento do peso muscular, comprimento muscular e ENSS do GL em relação ao GA. O protocolo de alongamento no músculo lesado proporcionou um incremento no número de sarcômeros em relação ao grupo não lesionado.



Os resultados são média±desvio padrão. GC: Grupo Controle; GL: Grupo Lesão; GA: Grupo Alongamento; GLA: Grupo Lesão e Alongamento. ENSS: Estimativa do Número de Sarcômeros em Série. Direito: músculo gastrocnêmio direito; Esquerdo: músculo gastrocnêmio esquerdo. (A) * $p < 0,05$ comparado ao GA ($p = 0,03$); (B) # $p < 0,05$ comparado ao GA e **quando comparado ao GA ($p = 0,001$); (C) + $p < 0,05$ comparado ao GL ($p = 0,001$), GLA ($p = 0,001$) e GC ($p = 0,04$)

Figura 3. Comprimento muscular, estimativa do número e comprimento do sarcômero dos gastrocnêmios dos ratos

A fibra muscular tem grande propriedade de adaptação a novos estímulos, podendo alterar seu volume, comprimento muscular, número e comprimento dos sarcômeros¹⁹.

Em relação ao peso corporal final, foi observado aumento em todos os grupos, compatível com o ganho de peso corporal normal do animal¹⁴. No entanto, o GL apresentou peso corporal maior quando comparado ao GA e GLA. Esse desfecho sugere que o alongamento realizado diariamente poderia ter interferido no ganho de peso corporal. Porém, o ganho relativo de peso corporal não foi significativo entre os grupos, demonstrando que o alongamento não interferiu nessa variável.

O peso muscular do GL foi maior quando comparado ao GA, o que pode ter ocorrido em razão da fase aguda após a contusão, caracterizada por período inflamatório, na qual é comum a presença de edema, que pode ter acarretado o aumento do peso muscular²⁰.

O aumento de peso muscular após a lesão é divergente na literatura. Enquanto alguns autores encontraram achados semelhantes ao presente estudo, ou seja, aumento do peso muscular no músculo lesado²⁰⁻²², outros não encontraram qualquer aumento do peso do músculo gastrocnêmio, 48 horas após a lesão, justificando essa inalteração pela depleção proteica causada pela lesão²³.

Por outro lado, não se pode deixar de considerar que o ganho de peso corporal ocorreu em todos os grupos, e tanto o peso quanto o comprimento muscular aumentam com o incremento do peso corporal. Além disso, o comprimento muscular não é a melhor medida para estabelecer o comprimento longitudinal do músculo, sendo mais recomendada a contagem do número de sarcômeros em série.

No presente estudo, foi observado maior número de sarcômeros em série no MGD do GL quando comparados ao GA. Desse modo, supõe-se que o maior peso corporal final absoluto do GL pode ter causado aumento no peso e comprimento musculares, resultando em mais sarcômeros em série²⁴. Contudo, o ganho de peso relativo entre os grupos não apresentou diferença significativa. De qualquer forma, não se pode sugerir que a maior quantidade de sarcômeros em série do GL foi decorrente da contusão muscular.

Na análise do comprimento dos sarcômeros do GL, foi observado menor comprimento quando comparado ao GA. Esse achado corrobora com o estudo de Williams e Goldspink²⁵, que reportaram que modificações no número de sarcômeros em série implicam ajustes no comprimento dos sarcômeros. Dessa forma, o menor comprimento dos sarcômeros encontrado no

GL pode ter sido decorrente do maior número de sarcômeros em série, para que ocorresse a sobreposição ótima dos filamentos contráteis^{25,26}.

Por outro lado, o GLA apresentou maior número de sarcômeros em série quando comparado ao GA, porém esses grupos não apresentaram diferença estatística com o GC. Esse desfecho sugere que o músculo lesado pode responder diferentemente ao alongamento quando comparado ao músculo hígido. Outros pesquisadores avaliaram o efeito do alongamento, 2 vezes por semana, no músculo sóleo hígido de ratos e, após 3 semanas, observaram aumento do número de sarcômeros em série²⁷.

Pode-se supor, no presente estudo, que não houve tempo e estímulo suficientes para incrementar o número de sarcômeros em série nos músculos não lesados. Estudos anteriores mostraram que o estímulo do tipo imobilização dos músculos em posição alongada, por tempo de 3 a 4 semanas, acarretava aumento no comprimento muscular pela adição no número de sarcômeros em série^{28,29}. No entanto, no presente estudo, os músculos não foram imobilizados em posição alongada e também não permaneceram o período de 3 a 4 semanas, suficientes para adição importante no número de sarcômeros em série, mesmo quando o alongamento é realizado de forma intermitente, isto é, não mantidos imobilizados em posição de alongamento¹⁴.

Foi uma surpresa encontrar maior número de sarcômeros no GLA quando comparado ao GA. Até o presente momento, não foi encontrado nenhum artigo que avaliasse o número e o comprimento dos sarcômeros após lesão muscular. Além disso, não existem muitos artigos sobre os efeitos do alongamento após a lesão muscular.

Hwang *et al.*⁹ verificaram, em músculo de ratos, os efeitos do alongamento passivo (5 segundos de manutenção com 5 segundos de intervalo durante 15 minutos) nas fases inflamatória, regenerativa e proliferativa. Esses autores concluíram que todos os grupos submetidos ao alongamento (iniciados no 2º, 7º e 14º dia) apresentaram diminuição da fibrose, melhora significativa na regeneração e aumento da força muscular, mais expressivos no 14º dia.

Alguns estudos avaliaram os efeitos da mobilização no processo de regeneração muscular^{22,30}. Järvinen *et al.*²² reportaram que a mobilização induz a uma reepitelização mais rápida e mais intensa nas bordas da lesão principalmente nos estágios iniciais. Faria *et al.*³⁰ investigaram diferentes protocolos de mobilização após lesão muscular em ratos. Os protocolos propostos foram para mobilizar durante 5 a 8 dias, com sessões de

15 ou 45 minutos, iniciando 1 e 3 horas após a lesão. Concluíram nesse estudo que o processo de regeneração muscular está relacionado com o início e o tempo da mobilização, sendo maior nos grupos que a iniciaram mais precocemente e que, assim, tiveram maior tempo de mobilização.

Assim, a sarcomerogênese observada do GLA comparada ao GA pode ter respondido ao início precoce da mobilização, já que no presente estudo foi iniciado o alongamento 72 horas após a contusão. Quanto ao GA, como o músculo se apresentava em estado normal, não encurtado, não imobilizado, não lesado, supõe-se que o estímulo necessário para induzir a adição de sarcômeros em série deveria ser maior e por período mais prolongado, como realizado por outros estudos^{14,27}.

Foi encontrado no presente estudo maior comprimento dos sarcômeros no GA comparado ao GLA, concordando com a hipótese de que o ajuste do comprimento dos sarcômeros ocorre de acordo com o número de sarcômeros para que o músculo desenvolva a máxima tensão²⁵.

Podem ser indicadas algumas limitações do presente estudo, como a ausência da análise da área de secção transversa, do tecido conjuntivo, da expressão gênica e de proteínas, para investigar os mecanismos da plasticidade de músculos lesados em resposta ao estímulo de alongamento.

No presente estudo, foi observado que a contusão e o alongamento não interferiram no ganho de peso corporal final dos animais. Além disso, o protocolo de alongamento foi suficiente para induzir a sarcomerogênese em músculos lesados, sem interferir no músculo hígido. No entanto, os músculos apenas alongados, isto é, não lesados, apresentaram comprimento dos sarcômeros maior quando comparado aos demais grupos, demonstrando que a ausência de sarcomerogênese induz o aumento do comprimento dos sarcômeros.

CONCLUSÃO

Os desfechos do presente estudo indicam a importância do alongamento, mesmo na fase aguda após a contusão muscular, para ganho de sarcômeros em série. Com as devidas restrições de extrapolação, o protocolo de alongamento aplicado permite sugerir a indicação clínica para prevenção de perda de amplitude de movimento, comumente observada após a lesão muscular.

REFERÊNCIAS

- Smith C, Kruger MJ, Smith RM, Myburg KH. The inflammatory response to skeletal muscle injury: illuminating complexities. *Sports Med.* 2008;38(11):947-69.
- Järvinen TAH, Järvinen TLN, Kääriäinen M, Kalimo H, Järvinen M. Muscle injuries: biology and treatment. *Am J Sports Med.* 2005;33(5):745-64.
- Oliveira NML, Gava AD, Salvini TF. O efeito da crioterapia e compressão intermitente no músculo lesado de ratos: uma análise morfométrica. *Rev Bras Fisioter.* 2007;11(5):403-9.
- Lapointe BM, Frémont P, Côté CH. Influence of nonsteroidal anti-inflammatory drug treatment duration and time of onset on recovery from exercise-induced muscle damage in rats. *Arch Phys Med Rehabil.* 2003;84(5):651-5.
- Mendias CL, Tatsumi R, Allen RE. Role of cyclooxygenase-1 and -2 in satellite cell proliferation, differentiation and fusion. *Muscle Nerve.* 2004;30(4):497-500.
- Mackey AL, Mikkelsen UR, Magnusson SP, Kjaer M. Rehabilitation of muscle after injury- the role of anti-inflammatory drugs. *Scand J Med Sci Sports.* 2012;22(4):8-14.
- Reurink G, Goudswaard GJ, Tol JL, Verhaar JA, Weir A, Moen MH. Therapeutic interventions for acute hamstring injuries: a systematic review. *Br J Sports Med.* 2012;46(2):103-9.
- Mason DL, Dickens V, Vail A. Rehabilitation for hamstring injuries. *Scand J Med Sci Sports.* 2007;17(2):45-75.
- Hwang JH, Ra Y, Lee KM, Lee JY, Ghil SH. Therapeutic effect of passive mobilization exercise on improvement of muscle regeneration and prevention of fibrosis after laceration injury of rat. *Arch Phys Med Rehabil.* 2006;87(1):20-6.
- Kannus P. Immobilization or early mobilization after an acute soft-tissue injury? *Phys Sport Med.* 2000;28(3):1-8.
- Järvinen MJ, Lehto MU. The effects of early mobilisation and immobilisation on the healing process following muscle injuries. *Sports Med.* 1993;15(2):78-89.
- Kannus P, Jozsa L, Kvist M, Järvinen T, Järvinen M. Effects of immobilization and subsequent low-and high-intensity exercise on morphology of rat calf muscles. *Scand J Med Sci Sports.* 1998;8(3):160-71.
- Gomes ARS, Coutinho EL, França CN, Polonio J, Salvini TF. Effect of one stretch a week applied to the immobilized soleus muscle on rat muscle fiber morphology. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37(10):1473-80.
- Coutinho EL, Gomes ARS, França CN, Oishi J, Salvini TF. Effect of a passive stretching on the immobilized soleus muscle fiber morphology. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37(12):1853-61.
- Minamoto V, Bunho SR, Salvini TF. Regenerated rat skeletal muscle after periodic contusions. *Braz J Med Biol Res.* 2001;34(11):1447-52.
- Polizello JC, Carvalho LC, Freitas FC, Padula N, Shimano AC, Matiello-Sverzut AC. Propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas, imobilizado e posteriormente submetido a diferentes protocolos de alongamento. *Rev Bras Med Esp.* 2009;15(3):195-9.
- Taylor DC, Dalton JC, Seaber AV, Garret WE. Viscoelastic properties of muscle-tendon units. The biomechanical effects of stretching. *Am J Sports Med.* 1990;18(3):300-8.
- Williams PE, Goldspink G. Longitudinal growth of striated muscle fibers. *J Cell Sci.* 1971;9(3):751-67.
- Burkholder TJ, Lieber RL. Sarcomere number adaptation after retinaculum transection in adult mice. *J Exp Biol.* 1998;201(Pt 3):309-16.
- Crisco JJ, Jokl P, Heinen GT, Connell MD, Panjabi MM. A muscle contusion injury model. Biomechanics, physiology and histology. *Am J Sports Med.* 1994;22(5):702-10.
- Salvini TF, Coutinho EL, Russo TL, Deluca C. One-minute bouts of passive stretching after immobilization increase sarcomerogenesis in rat soleus muscle. *Braz J Morphol Sci.* 2006;23(2):271-7.
- Järvinen M. Healing of a crush in rat striated muscle. A histological study of the effect of early mobilization and on the repair processes. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1975;83(3):269-82.
- Fisher BD, Baracos VE, Shnitka TK, Mendryk SW, Reid DC. Ultrastructural events following acute muscle trauma. *Med Sci Sports Exerc.* 1990;22(2):185-93.
- Menon T, Casarolli LM, Cunha BC, Souza L, Andrade PHM, Albuquerque CE, *et al.* Influência do alongamento passivo em três repetições de 30 segundos a cada 48 horas em músculo sóleo imobilizado de ratos. *Rev Bras Med Esporte [on-line].* 2007;13(6):407-10.
- Williams PE, Goldspink G. Changes in sarcomere length and physiological properties in immobilized muscle. *J Anat.* 1978;127(3):459-68.
- Gordon AM, Huxley AF, JULIAN FJ. The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibers. *J Physiol.* 1966;184(1):170-19.
- Secchi KV, Morais CP, Cimatti PF, Tokars E, Gomes ARS. Effects of stretching and resistive exercise in rat skeletal muscle. *Rev Bras Fisioter.* 2008;12(3): 228-34.
- Williams PE, Goldspink G. Connective tissue changes in immobilised muscle. *J Anat.* 1984;138(2):343-50.
- Williams PE, Catanese T, Lucey EG, Goldspink G. The importance of stretch and contractile activity in the prevention of connective tissue accumulation in muscle. *J Anat.* 1988;158:109-14.
- Faria FET, Ferrari R, Distefano G, Ducatti AC, Soares KF, Montebelo MIL, *et al.* The onset and duration of mobilization affect the regeneration in the rat muscle. *Histol Histopathol.* 2008;23(5):565-71.