

TROFISMO E FORÇA MUSCULAR RELATIVA DE RATAS SUBMETIDAS À IMOBILIZAÇÃO

(Trophism and heart muscle strenght of rats submitted to immobilization)

Karla Camila Lima de Souza¹; Jefferson Pacheco Amaral Fortes¹; Pedro Cunha Lopes¹;
Patrícia Lima Pinheiro²; Yara Carliane de Abreu Mesquita³,
Antônio Nadson Modesto Filho¹, Francisco Fleury Uchoa Santos
Júnior^{1,2*}; Vânia Marilande Ceccatto¹

¹Universidade Estadual do Ceará (UECE), Laboratório de Bioquímica e Expressão Gênica. Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus Itaperi, Fortaleza-Ce. CEP: 60.740-000; ²Centro Universitário Estácio do Ceará; ³Acadêmica de Fisioterapia da Faculdade Maurício de Nassau, Fortaleza, Ce.

RESUMO

A imobilização é uma ferramenta ortopédica utilizada para tratar lesões traumáticas que comprometem estruturas osteomusculares. No entanto, esta prática pode produzir efeitos adversos à estrutura imobilizada, assim como em estruturas adjacentes. A fim de coibir os danos gerados pelo desuso a terapia aquática vem sendo utilizada para auxiliar nos ajustes fisiológicos do corpo. O presente estudo tem como objetivo analisar o trofismo e a força muscular relativa do músculo cardíaco, assim como de estruturas musculares de ratas submetidas à imobilização e recuperadas com terapia aquática. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará, sob o protocolo nº 1122178 de 05/10/2017. Foram utilizadas 32 ratas, fêmeas, Wistar, divididas em quatro grupos: Controle (CTR), Imobilizado (I), Terapia Aquática (TA) e Imobilizado/Terapia Aquática (ITA). A imobilização ocorreu no membro posterior direito, incluindo a pelve, o quadril, o fêmur, o joelho (extensão), a tíbia e o tornozelo (flexão plantar) durante duas semanas. A terapia aquática ocorreu durante seis dias por semana ao longo de duas semanas. Após esse período os animais foram sacrificados e dissecados as estruturas de interesse: coração, sóleo, extensor longo dos dedos (ELD) e tíbia. O trofismo muscular foi calculado pela razão entre o peso úmido do músculo de interesse (mg) e o peso corporal final (g) dos animais. A força muscular relativa foi delimitada pela razão entre o peso do músculo (mg) e o comprimento da tíbia (mm). Para análise estatística utilizou-se ANOVA One way com teste *Brown-Forsythe* e *Kruskal-Wallis*, considerando diferença com $p < 0,05$. Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média. Verificou-se que houve um decréscimo significativo da força muscular relativa do ELD no grupo imobilizado em comparação ao grupo CTR no membro contralateral. Entretanto, observou-se que o tratamento com exercício aquático sanou os danos ocasionados pelo desuso muscular no sóleo e no músculo cardíaco do grupo ITA, sendo um grande aliado na redução dos efeitos deletérios da imobilização.

*Endereço para correspondência:
drfleuryjr@gmail.com

Palavras-chaves: Imobilização, músculo, rato.

ABSTRACT

Immobilization is an orthopedic tool used to treat traumatic injuries that compromise musculoskeletal structures. However, this practice may produce adverse effects on the immobilized structure, as well as adjacent structures. In order to curb the damages generated by disuse, aquatic therapy has been used to assist in the physiological adjustments of the body. The present study aims to analyze the trophism and relative muscular strength of the cardiac muscle as well as the muscular structures of rats submitted to immobilization and recovered with aquatic therapy. The project was approved by the Committee of Ethics for the Use of Animals of the State University of Ceará, under the protocol nº 1122178 of 05/10/2017. Thirty-two female Wistar rats were divided into four groups: Control (CTR), Immobilized (I), Aquatic Therapy (TA) and Immobilized with Aquatic Therapy (ITA). Immobilization occurred in the right hind limb, including the pelvis, hip, femur, knee (extension), tibia, and ankle (plantar flexion) for two weeks. Aquatic therapy occurred for six days a week over two weeks. After this period the animals were sacrificed and the structures of interest were dissected: heart, soleus and the extensor digitorum longus. Muscle trophism was calculated by the ratio between the weight of the wet muscle (mg) and the final body weight (g) of the animals. The relative muscle strength was delimited by the ratio of muscle weight (mg) to tibial length (mm). Statistical analysis was used ANOVA One way with Brown-Forsythe and Kruskal-Wallis test, considering difference with $p < 0.05$. Results were expressed as average \pm standard error. It was found that there was a significant decrease in the relative muscle strength of the ELD in the immobilized group compared to the CTR group in the contralateral limb. However, it was observed that the aquatic exercise treatment remedied the damages caused by the muscular disuse in the soleus and cardiac muscle of the ITA group, being a great ally in reducing the deleterious effects of immobilization.

Key-words: Immobilization, muscle, rats.

INTRODUÇÃO

A imobilização é uma ferramenta ortopédica utilizada para tratar lesões traumáticas que comprometem estruturas osteomusculares. No entanto, esta prática pode produzir efeitos adversos à estrutura imobilizada, bem como em estruturas adjacentes (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2017).

Dentre os danos funcionais é possível destacar: alterações cardiorrespiratórias (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2010; SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2017), articular (KUNZ *et al.*, 2014), muscular (PETRINI *et al.*, 2017), ósseo (GOMES *et al.*, 2016), incluindo modificações no metabolismo hepático (FORTES *et al.*, 2017).

A fim de coibir, os danos gerados pelo desuso, a terapia aquática vem sendo incorporada na prática clínica para auxiliar no tratamento de alterações osteomusculares por meio dos efeitos físicos, fisiológicos e cinesiológicos provenientes da imersão do corpo na água (CARREGARO e TOLEDO, 2008; GOMES *et al.*, 2016).

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo analisar o trofismo e a força muscular relativa do músculo cardíaco, assim como de estruturas musculares de ratas submetidas à imobilização e recuperadas com terapia aquática, a fim preencher possíveis lacunas existentes na literatura.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (UECE), protocolo nº 1122178 de 05/10/2017. Sendo respeitados todos os princípios éticos sobre experimentação e manipulação animal.

Utilizou-se trinta e duas ratas, fêmeas, Wistar, idade média de 20 semanas, massa corporal entre 200±15g, oriundas do biotério da UECE. Durante o período experimental, os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro (12 /12 h), em ambiente com temperatura controlada entre 22 a 25 °C, recebendo ração e água *ad libitum*. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, cada um contendo (n=8): Controle (CTR), Imobilizado (I), Imobilizado/Terapia Aquática (ITA) e Terapia Aquática (TA).

A imobilização foi realizada conforme modelo proposto por Santos Júnior et al. (2010a). Inicialmente os animais foram anestesiados com Cetamina 60mg/kg e Xilasina 8mg/kg e depois foram utilizadas ataduras de algodão com 4 cm de largura nas articulações, para prevenir úlceras de pressão. Posteriormente os animais foram enfaixados com esparadrapo impermeável (marca Cremer®), com tiras diferentes de 5 cm de largura e 15 cm de comprimento, para o membro e o tronco. O membro posterior direito foi imobilizado incluindo a pelve, o quadril, o fêmur, o joelho (extensão), a tíbia e o tornozelo (flexão plantar) durante duas semanas.

A terapia aquática foi realizada dentro de um recipiente de plástico (PVC), com volume aproximado de 60 litros de água, a uma temperatura média de 33 °C. A fim de evitar flutuação do animal foi utilizada uma carga equivalente a 8,0% da massa corporal, atada ao dorso. Os exercícios na água foram realizados no período matutino, durante seis dias por semana ao longo de duas semanas, iniciando com 3 minutos, com acréscimo de três minutos por dia chegando à duração de 36 minutos no último dia de treino, conforme ilustrado na (Tab. 01) (GOMES *et al.*, 2016).

Tabela 01: Protocolo de Terapia Aquática.

	Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado
1ª semana	3 min.	6 min.	9 min.	12 min.	15 min.	18 min.
2ª semana	21 min.	24 min.	27 min.	30 min.	33 min.	36 min.

Fonte: Adaptada (GOMES *et al.*, 2016)

No final do período experimental, os animais foram anestesiados com Tiopental Sódico 150 mg/kg de acordo com a massa corporal, em seguida foram sacrificados por

decapitação para posterior dissecação do músculo sóleo, extensor longo dos dedos (ELD), miocárdio e tíbia. As estruturas citadas foram pesadas em balança de precisão (0,01g).

Análise do Trofismo Muscular e da Força Muscular Relativa

O trofismo muscular foi calculado pela razão entre o peso úmido do músculo de interesse (mg) e o peso corporal final (g) dos animais. Para determinar a força muscular relativa, ou seja, a força muscular do músculo de interesse sobre a tíbia realizou-se uma correção do peso da massa muscular em relação ao comprimento da tíbia homolateral descrita pela equação: $(mf = Pm/f)$, onde mf , representa a massa muscular, Pm representa o peso do músculo (mg) e f representa o comprimento do osso (mm) (ROCHA *et al.*, 2010).

Para a análise estatística foi utilizada a média \pm erro padrão da média, comparando os quatro grupos diferentes. Usou-se a análise de variância ANOVA ONE-WAY com teste de *Brown-Forsythe* e *Kruskal-Wallis* com nível de significância estatística considerada $p < 0,05$. As análises foram realizadas com o software *Graph Pad Prism* versão 7.0, San Diego Califórnia USA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo constatou-se que houve um decréscimo significativo da força muscular relativa do ELD no grupo I em comparação ao grupo CTR no membro contralateral (Fig. 1D). Entretanto, observou-se que o tratamento com exercício aquático sanou os danos ocasionados pelo desuso muscular no sóleo (Fig. 1A) e no músculo cardíaco do grupo ITA (Fig. 3A).

Tem sido relatado pela literatura, que as fibras musculares lentas (tipo I) predominantes no sóleo são mais propensas aos efeitos adversos da imobilização, devido às mudanças no seu metabolismo oxidativo (DURIGAN *et al.*, 2006; KUNZ *et al.*, 2014a).

Outro fator que pode estar relacionado à susceptibilidade do sóleo ao desuso, é a sua condição de músculo postural, que contribui para uma maior atividade basal em relação aos demais músculos (PLOUG *et al.*, 1995). Corroborando com essa afirmação, Lieber (2002) reporta que os músculos antigravitacionais e uniarticulares são constituídos em sua grande maioria por fibras do tipo I, vulneráveis aos danos gerados pela imobilização. Contudo, verificou-se que não houve alteração no sóleo no grupo I, contradizendo os achados da literatura.

Durigan *et al.*, (2006) observaram em seus estudos uma redução na ordem de 31% nas fibras musculares e um aumento de 279% na densidade do tecido conjuntivo intramuscular de animais imobilizados. Resultados semelhantes foram descritos por Lima *et al.*, (2007) que constataram um aumento no tecido conjuntivo de 50% a 132%, associado a uma redução no comprimento, número de sarcômeros e diminuição de 35% na massa muscular.

É provável que a redução da força relativa muscular no ELD observado na (Fig. 1D) esteja associado ao aumento de tecido conjuntivo intramuscular. Santos Júnior *et al.*, (2012) relatam uma redução de massa muscular aliada à perda de força nas primeiras setenta e duas horas, com índices que reduzem de 14% a 17%. Outros estudos demonstram,

que a imobilização gera perda de força muscular após períodos de imobilização, condizendo com os achados deste estudo (ROCHA *et al.*, 2010; GOMES *et al.*, 2016).

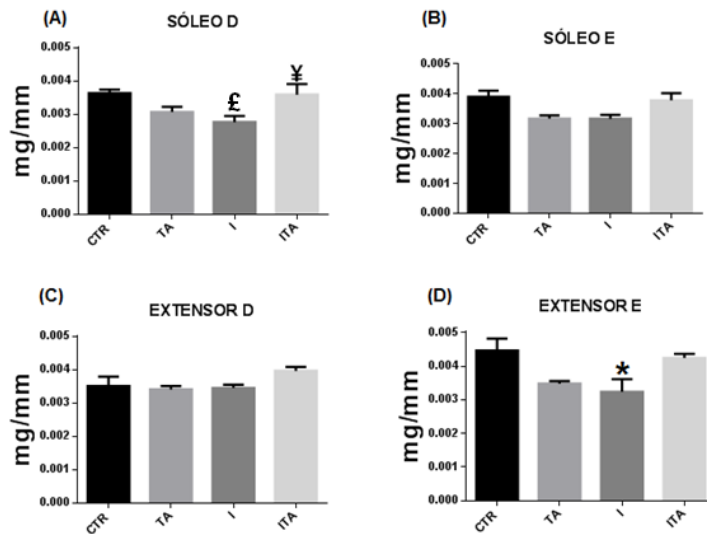


Figura 1: Força relativa muscular de sóleo e extensor longo dos dedos patas (direita e esquerda) de ratas.

Valores expressos como média \pm erro padrão da média. CTR = Controle; I = Imobilizado; TA = Terapia Aquática; ITA = Imobilizado/Terapia aquática. * $p < 0,05$ x CTR; † $p < 0,05$ x TA. ‡ $p < 0,05$ versus ITA.

Através dos resultados apresentados de trofismo (Fig. 2) verificou-se que não houve alterações tróficas significativamente expressivas nas musculaturas esqueléticas analisadas, que contradizem aos achados da literatura que demonstram perda de massa muscular (LIMA *et al.*, 2007; KUNZ *et al.*, 2014a) e trofismo muscular (GOMES *et al.*, 2016).

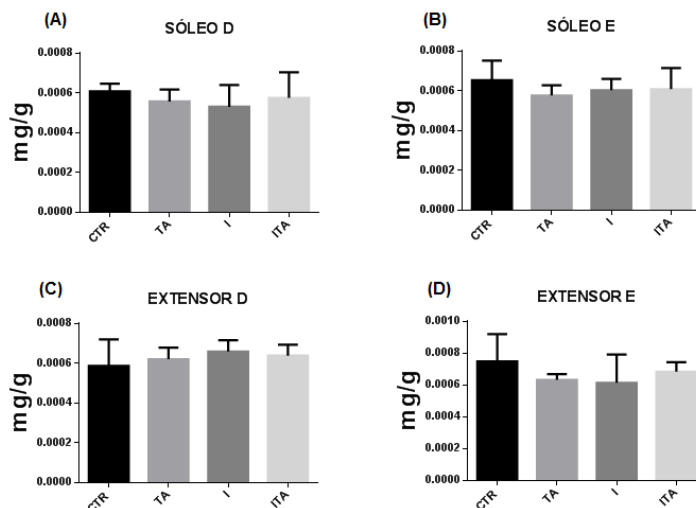


Figura 2: Trofismo muscular de sóleo e extensor longo dos dedos patas (direita e esquerda) de ratas.

Valores expressos como média \pm erro padrão da média. CTR = Controle; I = Imobilizado; TA = Terapia aquática; ITA = Imobilizado/Terapia aquática.

No que tange a musculatura cardíaca esta apresenta uma particularidade própria referente ao seu tipo de músculo refletindo um comprometimento sistêmico do animal em função da imobilização. Santos Júnior *et al.* (2010) observou que a imobilização não reduziu o peso do músculo cardíaco em comparação com o controle, condizendo com os achados do presente estudo que não verificou alteração trófica do músculo cardíaco.

Todavia, verificou-se no presente trabalho que houve um ganho de força relativa muscular no sóleo (Fig. 1A) e no miocárdio (Fig. 3A) em animais imobilizados e recuperados com terapia aquática, que corrobora com achados de outros autores (ROCHA *et al.*, 2010; GOMES *et al.*, 2016).

A literatura vem enfatizando os efeitos benéficos que o exercício no meio aquático promove na funcionalidade corporal. Inúmeras respostas fisiológicas são geradas em função das propriedades físicas da água com o corpo imerso, promovendo o reajuste de vários sistemas, dentre eles: circulatório (OVANDO *et al.*, 2009), respiratório (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2012), renal (CARREGARO e TOLEDO, 2008), hepático (FORTES *et al.*, 2017), articular (KUNZ *et al.*, 2014), ósseo (FALCAI *et al.*, 2015) e músculo esquelético (GOMES *et al.*, 2016; PETRINI *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2018).

Portanto, podemos sugerir que a intensidade, a duração e a frequência do treino promovida pelo protocolo proposto coibiram os danos causados a nível muscular e cardíaco, verificadas nas (Fig.1A) e (Fig.3A).

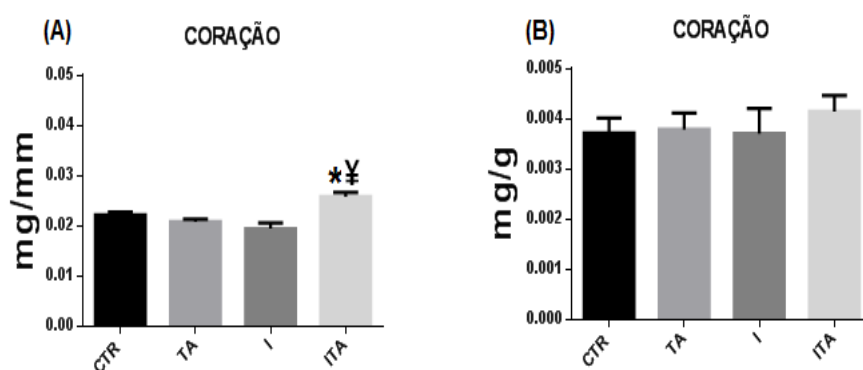


Figura 3: Força relativa muscular e trofismo do músculo cardíaco de ratas.

Valores expressos como média \pm erro padrão da média. Fig. 3A – Força Muscular Relativa; Fig. 3B – Trofismo Muscular. CTR = Controle; I = Imobilizado; TA = Terapia aquática; ITA = Imobilizado/Terapia aquática. * $p < 0,05$ versus TA; ¥ $p < 0,05$ versus I.

CONCLUSÃO

A imobilização por duas semanas foi capaz de reduzir a força relativa muscular do ELD do membro contralateral, associada à recuperação com exercícios aquáticos, que sanou os danos ocasionados pelo desuso no músculo cardíaco e no sóleo, sendo um grande aliado na redução dos efeitos deletérios da imobilização.

REFERÊNCIAS

CARREGARO, R.L.; TOLEDO, A.M. Efeitos fisiológicos e evidências científicas da eficácia da fisioterapia aquática. *Movimenta*, v.1, n.1, p.23-27, 2008.

DURIGAN, J.L.Q.; CANCELLIERO, K.M.; DIAS, C.N.K.; SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J.; POLACOW, M.L.O. Efeitos da imobilização articular aguda nos músculos do membro posterior de ratos: análise metabólica e morfométrica, *Fisioterapia e Pesquisa*, v.13, n.2, p.38-45, 2006.

FALCAI, M.J., ZAMARIOLI, A., LEONI, G.B., SOUSA NETO, M.D.D., VOLPON, J.B. Swimming activity prevents the unloading induced loss of bone mass, architecture, and strength in rats. *Biomed Research International*, v.2015, n.507848, p.1-8, 2015.

FORTES, J.P.A.; CARVALHO, F.L.; ALVES, J.O.; CHAVES, M.M.G.F.; CARNEIRO, M.R.A.; SOUZA, K.C.L.; SANTOS JÚNIOR, F.F.U.; CECCATTO, V. M. Hepatic glycogen levels in female rats submitted to aquatic therapy after muscle disuse. *Motricidade*, v.13, n.3, p.53-58, 2017.

GOMES, N.M.A.; SOUZA, K.C.L.; RABELO, M., FORTES, J.P.A.; BARBOSA, L.S.; CRAVEIRO, R.M.C.B.; VASCONCELOS FILHO, F.S.L.; SANTOS JÚNIOR, F.F.U.; CECCATTO, V.M. Aquatic therapy in bone mineral density in rats after paw disuse by Immobilization. *International Journal of Therapies & Rehabilitation Research*, v.5, n.5, p.161-169, 2016.

KUNZ, R.I.; CORADINI, J.G.; SILVA, L.I.; BERTOLINI, G.R.F.; BRANCALHÃO, R.M.C.; RIBEIRO, L.F.C. Effects of immobilization and remobilization on the ankle joint in Wistar rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.47, n.10, p.842-849, 2014.

KUNZ, R.I.; CORADINI, J.G.; SILVA, L.I.; KAKIHATA, C.M.M.; BRANCALHÃO, R.M.C.; BERTOLINI, G.R.F.; RIBEIRO, L.F.C. Morfologia dos músculos sóleo e tibial anterior de ratos Wistar imobilizados e remobilizados em meio aquático. *ConScientiae Saúde*, v.13, n.4, p.595-602, 2014a.

LEE, S.Y.; HAN, E.Y.; KIM, B.R.; IM, S.H. The Effects of a Motorized Aquatic Treadmill Exercise Program on Muscle Strength, Cardiorespiratory Fitness, and clinical function in Subacute Stroke Patients Randomized Controlled Pilot Trial. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*. v.97, n.8, p.533-540, 2018.

LIEBER, R.L. Skeletal muscle structure, function, and plasticity, the physiological basis of rehabilitation. 3ª ed. Philadelphia: Lippincott, 2002. 369p.

LIMA, S.C.; CAIERÃO, Q.M.; DURIGAN, J.L.Q. Curto período de imobilização provoca alterações morfológicas e mecânicas no músculo de rato. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, v.11, n.4, p.297-302, 2007.

OVANDO, A.C.; EICKHOFF, H.M.; DIAS, J.A.; WINKELMANN E.R. Efeito da temperatura da água nas respostas cardiovasculares durante a caminhada aquática. *Revista Brasileira Medicina do Esporte*, v.15, n.6, p.415-419, 2009.

PETRINI, A.C.; RAMOS, D.M.; OLIVEIRA, L.G.; SILVA, C.A.; PERTILLE, A. Prior swimming exercise favors muscle recovery in adult female rats after joint immobilization. *Journal of Physical Therapy Science*, v.28, n.7, p.2072-2077, 2016.

PLOUG, T.; OHKUWA, T.; HANDBERG, A.; VISSING, J.; GALBO, H. Effect of immobilization on glucose transport and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology*, v.268, p.980-986, 1995.

ROCHA, W.A.; GOBBI, G.A.; ARAÚJO, V.D.F.; ARAUJO, V.F.; SANTUZZI, C.H.; COUTINHO, G.C.; NOGUEIRA, B.V. Alterações morfofuncionais musculares em resposta ao alongamento passivo em modelo animal de imobilização prolongada de membros posterior. *Revista Brasileira Medicina do Esporte*, v.16, n.6, p.450-454, 2010.

SANTOS JÚNIOR, F.F.U.; SOUZA, K.C.L.; SERRA, D.S.; CECCATTO, V.M.; CAVALCANTE, F.S.A. Analysis of pulmonary function and micromechanics structure after 14 days of movement restriction in female rats. *Fisioterapia e Pesquisa*, v.24, n.2, p.205-210, 2017.

SANTOS JÚNIOR, F.F.; SOUZA, A.L.O.; FRANCO, F.G.S.; ANDRÉ, N.M.; CECCATTO, V.M. Reabilitação diafragmática de ratos pós-imobilização com terapia aquática. *Fisioterapia Brasil*, v.13, n.6, p.419-423, 2012.

SANTOS JÚNIOR F.F.U.; ALVES, J.S.M.; CARLOS, P.S.; FORTE, F.E.S.; BARBOSA, R.; CECCATTO, V.M. Alterações morfométricas no miocárdio pós imobilização. *Revista de Terapia Manual*, v.8, n.S1, p.45-49, 2010.

SANTOS JÚNIOR, F.F.U.; ALVES, J.S.M.; MACHADO, A.A.N.; CARLOS, P.S.; FERRAZ, A.S.M.; BARBOSA, R.; LEAL-CARDOSO, J.H.; CECCATTO, V.M. Alterações morfométricas em músculo respiratório de ratos submetidos à imobilização de pata. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.16, n.3, p.215-218, 2010a.