MAURÍCIO NUNES DOURADO ROCHA

**Propriedades mecânicas do músculo esquelético de ratas wistar pós
imobilização e exercício físico em esteira**

Dissertação apresentada ao programa de
pós graduação Interunidades em
Bioengenharia- Escola de Engenharia de São
Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão
Preto/ Instituto de Química de São Carlos, da
Universidade de São Paulo, para a obtenção
do título de mestre em Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. José B. Volpon

SÃO CARLOS
2006

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca - EESC-USP**

Rocha, Mauricio Nunes Dourado

Propriedades mecânicas do músculo esquelético de ratas wistar pós
imobilização e exercício físico em esteira.
Maurício Nunes Dourado Rocha.- São Carlos, 2006.

Dissertação (Mestrado). - Área Interunidades em
Bioengenharia da EESC/FMRP/IQSC - Universidade de São
Paulo, 2006.

Orientador: Prof. Dr. José B. Volpon

1. Imobilização. 2. Propriedades mecânicas. 3. Músculo. 4.
Rato. 5. Exercício. I. Título.

DEDICATÓRIA

A meus pais, irmãos e esposa minha mais profunda gratidão pelos gestos e palavras de apoio, incentivo e consideração, tão importantes para a realização desta obra.

AGRADECIMENTOS

Aos Fisioterapeutas Cleber Sady, Thelso de Jesus e Helena Maia, pela formação humana e profissional.

Aos Fisioterapeutas Valdeci Dionísio e Cristiane Graminha, pelo auxílio e estímulo para o meu ingresso no mestrado.

Ao Prof. Dr. José B. Volpon, pela presteza, clareza e objetividade dos ensinamentos técnicos científicos e pelo exemplo de retidão de caráter.

Aos funcionários do Laboratório de Bioengenharia da FMRP, Terezinha, Luis Henrique, Francisco Mazzocato, Carlos Alberto Moro e Reginaldo Trevilato, bem como ao Prof. Dr. Antonio Carlos Shimano, pelo companheirismo e prestatividade.

Aos amigos que me auxiliaram na minha estadia em Ribeirão Preto, especialmente Emílson S. Mendonça Jr. e Ricardo Goes de Aguiar.

Aos Colegas de pós-graduação pela convivência.

**"A vida só pode ser compreendida
olhando-se para trás; mas só pode ser
vivida olhando-se para frente."
(Soren Kierkegaard).**

RESUMO

ROCHA, M.N.D. **Imobilização, exercício físico por esteira e algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético do rato.** 2006. 69f. Dissertação (mestrado) - Interunidades em Bioengenharia- Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, 2006.

A imobilização produz efeito deletério sobre a musculatura estriada. A avaliação das propriedades mecânicas do músculo esquelético é um parâmetro de mensuração para elucidar se o exercício físico pode constituir importante forma de prevenção ou reversão dos défices decorrentes da imobilização. Seis grupos (GC1, GI, GC2, GIL, GIE, GE), com dez animais cada, foram utilizados com o objetivo de avaliar a interferência do exercício físico por esteira em algumas propriedades mecânicas de modelos animais sujeitos previamente à imobilização do membro posterior. Os animais dos grupos GI, GIL e GIE foram submetidos a vinte e um dias de imobilização gessada do membro posterior direito. Os animais dos grupos GIE e GE foram submetidos a protocolo de treino em esteira por vinte e um dias. Os grupos GC1 e GC2 serviram como controle. Após alcançarem a idade ideal, os animais sofreram eutanásia e os gastrocnêmios das patas direitas foram submetidos a ensaios de tração para análise da carga máxima suportada, deformação na carga máxima e tensão. Os resultados obtidos mostraram que a imobilização exerce papel deletério sobre as propriedades mecânicas do músculo esquelético, a tensão não apresenta necessariamente correlação com a carga máxima e que o protocolo de exercícios adotado neste estudo não foi capaz de restaurar todas as propriedades mecânicas, principalmente a carga máxima.

Palavras-chave: Imobilização. Propriedades mecânicas. Músculo. Rato. Exercício.

ABSTRACT

ROCHA, M.N.D. **Immobilization, treadmill running and some mechanical properties of rat's skeletal muscle.** 2006 69p. Dissertation (M. Sc.) - Interunidades em Bioengenharia- Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, 2006.

Immobilization has a deleterious effect on skeletal muscles. The evaluation of the mechanical properties of the skeletal muscle is a parameter used to elucidate if physical activity may prevent or revert the deficits caused by immobilization. Six groups (GC1, GI, GC2, GIL, GIE, GE), with ten animals each, were used to assess the interference of treadmill running on mechanical properties of animal models submitted to plaster cast immobilization of the right hind limb. The animals in groups GI, GIL and GE were submitted to twenty-one days of right hind limb immobilization. Animals in groups GIE and GE were submitted to a treadmill running protocol for twenty-one days. The groups GC1 and GC2 served as controls. The animals underwent euthanasia after reaching the age limit and the gastrocnemius of the right hind limb was submitted to a traction test to analyze the ultimate load, ultimate load deformation and tension. The results showed that immobilization caused a deleterious effect on the muscle's mechanical properties and the tension is not necessarily correlated with maximum load. Furthermore the running protocol as used in this study was not able to restore all the normal muscle mechanical properties, mainly the maximum load.

Key-Words: Immobilization. Mechanical properties. Muscle. Rat. Exercise.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Disposição e estrutura dos miofilamentos de actina e miosina.....	4
Figura 2: Interação entre os componentes dos miofilamentos de actina e miosina para realizar a contração muscular.	5
Figura 3: Representação dos três miofilamentos e suas respectivas distribuições no sarcômero.	6
Figura 4: Curva força x deformação. (C _{máx}) força máxima. (C _{prop}) força no limite de proporcionalidade. (D _{prop}) deformação no limite de proporcionalidade. (D _{máx}) deformação na força máxima. (LM) limite máximo. (LP) limite de proporcionalidade.	17
Figura 5: Músculos do quadril e membro posterior de ratos wistar. 1) Gluteo superficial 2) Gluteo médio 3) Piriforme 4) Semitendinoso 5) Biceps femoral 6) Semimembranoso 7) Vasto lateral 8) Gastrocnêmio	22
Figura 6: Paquímetro adaptado em duas vistas e seus componentes. (A) Fio de nylon. (B) Peça de acrílico (C) Régua milimetrada (D) Braço móvel com mola adaptada.	25
Figura 7: Complexo fêmur-gastrocnêmio-calcâneo posicionado para o ensaio de tração.	27
Figura 8: Curvas força x deformação do grupo controle 1.....	31
Figura 9: Curvas força x deformação do grupo imobilização.	31
Figura 10: Curvas força x deformação do grupo controle 2.....	32
Figura 11: Curvas força x deformação do grupo imobilização exercício.....	33
Figura 12: Curvas força x deformação do grupo imobilização liberação.....	33
Figura 13: Curvas força x deformação do grupo exercício.	34

Figura 14: Valores da deformação na força máxima dos grupos e suas medianas.	35
Figura 15: Valores da deformação máxima dos grupos 102 dias e suas medianas.	36
Figura 16: Valores da deformação na força máxima dos grupos 123 dias e suas medianas.	37
Figura 17: Valores da força máxima dos grupos e suas medianas.	38
Figura 18: Valores da força máxima dos grupos 102 dias e suas medianas.	39
Figura 19: Valores da força máxima dos grupos 123 dias e suas medianas.	40
Figura 20: Valores das tensões máximas dos grupos e suas medianas.	41
Figura 21: Valores de tensão para os grupos 102 dias e suas medianas.	42
Figura 22: Valores de tensão máxima para os grupos 123 dias e suas medianas.	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Médias / medianas / desvios padrões das variáveis de entrada.	30
Tabela 2: Valores para deformação na força máxima dos grupos 102 dias.	36
Tabela 3: Valores para deformação na força máxima nos grupos 123 dias.	36
Tabela 4: Valores da força máxima para os grupos 102 dias.	39
Tabela 5: Valores da força máxima para os grupos 123 dias.	40
Tabela 6: Valores de tensão máxima para os grupos 102 dias.	42
Tabela 7: Valores para tensão máxima dos grupos 123 dias.	43
Tabela 8: Correlações não paramétricas entre força máxima e tensão dos grupos.	44
Tabela 9: Variáveis de entrada do grupo controle1 com média e desvio padrão.	58
Tabela 10: Variáveis de entrada do grupo imobilização com média e desvio padrão....	59
Tabela 11: Variáveis de entrada para o grupo controle 2 com média e desvio padrão. .	60
Tabela 12: Variáveis de entrada para o grupo imobilização liberação com media e desvio padrão.	61
Tabela 13: Variáveis de entrada do grupo exercício com media e desvio padrão.....	62
Tabela 14: Variáveis de entrada do grupo imobilização exercício com média e desvio padrão.	63
Tabela 15: Valores de carga e deformação aproximados para os animais do grupo controle 1.	64
Tabela 16: valores aproximados de carga e deformação para os animais do grupo imobilização.	65
Tabela 17: Valores aproximados de carga e deformação para os animais do grupo controle 2.	66
Tabela 18:Valores aproximados de carga e deformação para os animais do grupo imobilização liberação.....	67

Tabela 19: Valores aproximados para carga e deformação dos animais do grupo Esteira.

..... 68

Tabela 20: Valores aproximados de cargas e deformação dos animais do grupo

imobilização esteira. 69

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 MÚSCULO ESQUELÉTICO.....	2
1.2 IMOBILIZAÇÃO	9
1.3 EXERCÍCIO FÍSICO	12
1.4 ENSAIO MECÂNICO	14
1.4.1. ENSAIO DE TRAÇÃO.....	15
1.4.2 TENSÃO \ DEFORMAÇÃO	15
2. OBJETIVOS	19
2.1. Geral	19
2.2. Específicos.....	19
3. MATERIAL E MÉTODO	20
3.1 ANIMAIS	20
3.2. OBTENÇÃO DE AMOSTRAS	21
3.3. IMOBILIZAÇÃO DOS ANIMAIS.....	22
3.4. EXERCÍCIOS EM ESTEIRA	23
3.5. ROTINA DE ENSAIO MECÂNICO.....	24
3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
4. RESULTADOS	29
4.1. MEDIDAS DOS MÚSCULOS	29
4.2. CURVAS (FORÇA X DESLOCAMENTO)	30
4.3. ANÁLISE DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	34
4.3.1. DEFORMAÇÃO NA FORÇA MÁXIMA.....	35
4.3.2. FORÇA MÁXIMA.....	38

4.3.3. TENSÃO	41
4.3.4. ANÁLISE DE VARIÂNCIA E CORRELAÇÕES	44
5. DISCUSSÃO	45
6. CONCLUSÕES	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
8. ANEXOS.	56
ANEXO A	57
ANEXO B.....	58
ANEXO C.....	64

Esta dissertação foi elaborada conforme as **Diretrizes para apresentação de dissertação e teses da USP: documento eletrônico e impresso** – São Paulo – 2003 <<http://www.teses.usp.br/info/diretrizesfinal.pdf>>. Acesso em 12 de junho de 2005.

1. INTRODUÇÃO

A imobilização exerce efeito deletério sobre a musculatura estriada (Booth, 1982; Booth, Kelso, 1973; Fitts *et al.* 1986; Sakakima *et al.*, 2003). A avaliação das propriedades mecânicas do músculo esquelético é um parâmetro de mensuração para investigar se o exercício físico pode constituir importante forma de prevenção ou reversão dos défices decorrentes da imobilização.

Os organismos vivos possuem a capacidade inerente de alterar as propriedades funcionais e estruturais dos seus sistemas orgânicos mediante as condições do meio ambiente. No tecido muscular essa propriedade é conhecida como plasticidade muscular e ocorre por meio de alterações na quantidade e tipos de proteínas constitutivas dos diversos componentes subcelulares, em resposta a qualquer estímulo que perturbe a homeostase (Baldwin, Haddad, 2002; Itai, Kariya, Hoshino, 2004; Pottle, Gosselin, 2000).

No músculo esquelético, as respostas adaptativas podem ocorrer mediante estímulos intrínsecos ou extrínsecos, tais como obesidade, sensibilidade à insulina, hormônios, atividade neural e sobrecarga mecânica (Suwa, Nakamura, Katsuta, 1999; Huijing, Jaspers, 2005). Assim, as alterações decorrentes da prática de atividades físicas, ou da ausência destas, serão pronunciadas sobre o tecido muscular esquelético.

A adaptação morfofuncional do tecido muscular tem sido alvo de inúmeras pesquisas científicas avaliando a atuação dos fatores neurais, hormônios, da hipoatividade ou imobilização e da atividade física na plasticidade muscular (Convertino, Sandler, 1995; Itay, Kariya, Hoshino, 2004; Huijing, Jaspers, 2005; Pottle, Gosselin, 2000).

A necessidade de avaliar as propriedades mecânicas do tecido muscular em estado pós-imobilização e após treino em esteiras, em modelos animais, pode ser entendida com a afirmação de Norman *et al.* (2000) de que a maior parte da compreensão sobre as adaptações mecânicas dos ossos e músculos humanos são de estudos conduzidos com outros animais, primordialmente ratos.

1.1 MÚSCULO ESQUELÉTICO

O músculo esquelético é o agente do movimento ativo. É por meio da sua atuação nas alavancas formadas por ossos, tendões ligamentos e articulações, sob o controle do sistema cérebro-espinhal, que os animais vertebrados executam funções (Fawcett, Raviola, 1994; Grounds, Sorokin, White, 2005). Essa atuação advém da capacidade do músculo em transformar a energia contida na adenosina trifosfato (ATP) em energia mecânica.

Lieber (1992) sustenta que o músculo esquelético é a representação clássica da correlação entre estrutura e função, existindo nos níveis macro e microscópicos uma disposição de elementos própria para gerar força e movimento.

Por isso, a composição dos músculos exerce importante papel nas suas propriedades mecânicas, sendo necessária uma breve revisão descritiva dos componentes musculares e suas estruturas.

Existe na fibra muscular uma organização hierarquizada dos filamentos contráteis que estão distribuídos ao longo da mesma. A maior unidade funcional dos filamentos contráteis é a miofibrila. As miofibrilas são constituídas de sarcômeros arranjados em série, envoltas por uma camada de tecido conjuntivo, conhecida por endomísio. O diâmetro da miofibrila fica em torno de 1µm. (Lieber, 1992; Fawcett, Raviola, 1994).

A disposição das diversas miofibrilas em paralelo forma uma fibra muscular. Os grupos de fibras musculares são envoltos por uma camada de tecido conjuntivo, chamado perimísio, e dispostos em feixes chamados fascículos. Estes, por sua vez, são envoltos por uma outra camada de tecido conjuntivo, chamada de epimísio, que envolve o músculo propriamente dito. Essas camadas de tecido conjuntivo ajudam também a propagar as tensões ao longo dos músculos (Grounds, Sorokin, White, 2005).

A menor unidade estrutural funcional das miofibrilas é o sarcômero, composto de três principais miofilamentos contráteis. Os miofilamentos espessos são compostos por polímeros de miosina e os miofilamentos menos espessos, chamados de finos são compostos por polímeros de actina e titina. A faixa escura dos músculos (anisotrópica) contém miofilamentos de actina e miosina e é chamada de faixa A. Esta faixa possui uma zona intermediária, parcialmente isotrópica, a zona H, que contém apenas filamentos de miosina. A faixa mais clara e isotrópica, chamada de faixa I, contém apenas actina e é bi-seccionada transversalmente pela linha Z. A região compreendida entre duas linhas Z constitui um sarcômero, que é a unidade contrátil funcional do músculo. Esses três miofilamentos apresentam um arranjo espacial hexagonal e as interações entre eles é que permite que o sarcômero e, conseqüentemente, o músculo se encurtem.

Os miofilamentos finos, chamados de filamentos de Actina, são compostos por polímeros de proteínas esféricas, também chamadas actina, que se dispõem de modo helicoidal. Como resultado da forma e disposição espacial dos monômeros, a fibra helicoidal apresenta sulcos onde se fixa uma proteína regulatória chamada tropomiosina. Existe ainda uma terceira proteína, chamada troponina, que é responsável pelo desencadeamento do processo de contração muscular. Sua subunidade Tn –T mantém a união com a tropomiosina, a segunda, Tn- C, é um sítio receptor de cálcio

durante a contração, enquanto que a Tn- I exerce função inibitória sobre a tropomiosina na ausência de cálcio (Lieber, 1992).

Figura 1: Disposição e estrutura dos miofilamentos de actina e miosina

< http://www.besthealth.com/besthealth/bodyguide/reftext/images/actin_myosin.jpg >

Os miofilamentos grossos, chamados de filamentos de miosina, são compostos por moléculas de proteínas relativamente grandes, chamadas de Cadeia Pesada de Miosina. Essas proteínas agrupam-se para formar o miofilamento propriamente dito, com a forma aproximada de um bastão (Baldwin, Haddad, 2002). Segundo Fawcett e Raviola (1994), em certas circunstâncias a molécula de miosina pode ser cindida em dois fragmentos, um tendo o dobro do peso do outro. O bastão mais leve, chamado meromiosina leve, é responsável pelas propriedades de auto – agregação da miosina. A parte pesada do bastão, cuja forma se assemelha à quarta parte distal de um taco de golfe, é chamada de meromiosina pesada, cujas atribuições são decompor a adenosina trifosfato (ATP) em adenosina difosfato (ADP) e fosfato (PO_4) mais energia. Existem diversas projeções de meromiosina pesada ao longo do eixo longitudinal do miofilamento de miosina, dispostas de forma transversal e com padrão helicoidal. Esse mecanismo permite que a meromiosina pesada se ligue a sítios específicos no miofilamento de actina, permitindo

que haja movimento relativo entre os miofilamentos, ou seja, a contração muscular propriamente dita (Koh, 1995).

Figura 2: Interação entre os componentes dos miofilamentos de actina e miosina para realizar a contração muscular.

< <http://www.edcenter.sdsu.edu/cso/paper/image005.jpg> >

O terceiro grupo de miofilamentos, a titina, se estende da linha Z até a linha M. Composto por proteínas cito - esqueléticas chamadas conectina, este mio filamento possui duas porções distintas. A porção associada à banda I é extensível, enquanto que a porção associada à zona A é ancorada ao longo do miofilamento de Miosina e é praticamente inextensível. É atribuída a titina participação na tensão de repouso muscular, bem como participação na produção de força ativa e a responsabilidade na manutenção da estabilidade estrutural do sarcômero. Alterações nas isoformas de titina podem causar perda da extensibilidade muscular, déficit no desenvolvimento de força e alterações da estrutura da Zona A (Kasper, Xun, 2000; Fry *et al*, 1997; Knupp, Luther, Squire, 2002).

Figura 3: Representação dos três miofilamentos e suas respectivas distribuições no sarcômero.

<http://io.uwinnipeg.ca/~jfranck/Bio3221_Pwrpt_lectures/Nov19_lecture_files/slide0020_image022.jpg>

A análise da organização do tecido muscular, do menor nível para maior nível seria assim descrita: agrupamento dos miofilamentos em inúmeros sarcômeros origina as miofibrilas, que se agrupam para originar as fibras musculares. Estas, por sua vez, são sincícios multinucleados.

A literatura consultada reporta que o comprimento das fibras pode variar entre 10-30 cm (Fawcett, Raviola, 1994), e o diâmetro de uma fibra varia entre 0,1 0,5 mm.

O suprimento sanguíneo dos músculos esqueléticos ocorre através da ramificação dos vasos no epimísio e posterior penetração, através dos septos do perimísio, formando no endomísio uma rede de capilares que circundam as fibras musculares individualmente. O trajeto dos capilares é suficientemente tortuoso para permitir que, ao ocorrerem mudanças no comprimento da fibra, possam se retrair ou alongar, acompanhando as deformações (Fawcett, Raviola, 1994).

Os miofilamentos que constituem um determinado músculo não são idênticos, variando em diâmetro e em propriedades fisiológicas e citoquímicas. A classificação principal divide as fibras em rápidas e lentas. As fibras rápidas são as que propagam potenciais de ação e respondem com as contrações tudo ou nada. As fibras lentas, também chamadas de tônicas, não são aptas a propagarem potenciais de ação e requerem uma série de impulsos nervosos (Fawcett, Raviola, 1994).

Existe, também, uma designação numérica para identificar os diferentes tipos de fibras. Neste caso, as fibras lentas são chamadas I, as rápidas II, e aparecem ainda subdivisões das fibras rápidas que são designadas por II, seguidas de letras (a, b, c) (Suwa, Nakamura, Katsuta, 1999).

As fibras tipo I, lentas, são oxidativas, isto é, obtêm ATP através da redução total da glicose. Apresentam coloração avermelhada devido ao alto conteúdo de mioglobina e possuem diâmetro relativamente pequeno. Possuem grandes concentrações de mitocôndrias no sarcolema e entre as miofibrilas. São inervados por pequenos axônios com terminações nervosas pequenas e simples (Fawcett, Raviola, 1994). As unidades motoras constituídas por fibras vermelhas apresentam contração mais lenta e maior resistência à fadiga, o que as tornam eficazes na manutenção postural.

As fibras IIa, intermediárias, de coloração rosada, têm capacidade de obter ATP tanto por via glicolítica, como oxidativa. Apresentam alta densidade capilar e mitocondrial, além de velocidade de contração rápida e preferência pelas vias aeróbias de obtenção de energia (via oxidativa), similarmente às fibras I, porém com fadigabilidade intermediária entre as fibras I e IIb.

As fibras IIb, predominantemente brancas, são glicolíticas, ou seja, degradam incompletamente a glicose por via anaeróbia. Apesar de apresentarem diâmetro maior do que as outras fibras apresentam pequenas concentrações de mitocôndrias. Essa virtual desvantagem na formação de ATP é compensada por um abundante depósito de glicogênio no sarcoplasma. Sua contração é rápida com geração de picos de força, porém são rapidamente fadigáveis. A alta velocidade de contração se deve à inervação por motoneurônios calibrosos, com placas motoras apresentando aproximadamente o dobro do tamanho das fibras vermelhas (Fawcett, Raviola, 1994).

A diferenciação das fibras musculares nos tipos vermelha, branca e intermediária é controlada pelos nervos. Quando se cortam experimentalmente os nervos das fibras brancas e vermelhas e se faz reimplante cruzado, as fibras musculares mudam seu caráter durante a regeneração, seguindo a nova inervação recebida. A simples desnervação de um músculo leva a sua atrofia e conseqüente paralisia (Falempin, Mounier, 1998).

As proporções dos perfis de fibras por músculo são relativamente constantes, mas não imutáveis. Algumas condições podem levar as fibras rápidas a se tornarem lentas e vice-versa. Uma destas condições é o exercício físico (Huijing, Jaspers, 2005).

Neste estudo foram utilizados músculos gastrocnêmios de ratas que, de acordo com as análises de Armstrong e Phelps (1984), pode ser dividido em uma camada mais profunda, com predomínio de fibras lentas e intermediárias (I e IIa), e uma camada mais superficial, com predomínio de fibras rápidas (IIb). O quadro a seguir ilustra a concentração das fibras no músculo gastrocnêmio:

Quadro 1:Concentrações percentuais dos tipos de fibras no gastrocnêmio (Armstrong & Phelps, 1984).

	Fibras Lentas Oxidativas (I)	Fibras Intermediárias (IIa)	Fibras Rápidas Glicolíticas (IIb)
Gastrocnêmio porção vermelha	30 $\pm$ 2	62 $\pm$ 3	8 $\pm$ 4
Gastrocnêmio porção branca	0	16 $\pm$ 3	84 $\pm$ 3
Gastrocnêmio Total	7 $\pm$ 1	28 $\pm$ 5	65 $\pm$ 5

Esse perfil de distribuição das fibras é determinado geneticamente, mas sofre influência de fatores externos como estimulação crônica, imobilização e atividade física (Muñiz *et al.* 2001).

1.2 IMOBILIZAÇÃO

Em algumas situações, como fraturas ósseas ou lesões de partes moles, pode ser necessário adotar a imobilização de determinado segmento corporal como medida terapêutica, de modo a impedir o aumento das lesões dos tecidos e propiciar o restabelecimento mais rápido.

No entanto, associadas a essas características terapêuticas, o uso da imobilização resulta também em certo grau de iatrogenia, ao causar alterações no trofismo das camadas tissulares envolvidas (Booth, 1982; Sakakima *et al.*, 2003; Pottle, Gosselin, 2000; Machida, Booth, 2004).

Os efeitos deletérios da imobilização são amplamente relatados na literatura. As publicações de Booth (1982), Booth e Kelso (1973) Kasper e Xun (2000) e Machida e Booth (2004) afirmam que as fibras podem se tornar estreitas em músculos imobilizados por longos períodos, o que se denomina atrofia por desuso. Norman *et al.* (2000) afirmam que a atrofia da musculatura esquelética resultante da ausência de cargas é uma das maiores mudanças associadas com o descondicionamento físico.

Segundo Booth (1982) Falempin e Mounier (1998) e Machida e Booth (2004) a perda de massa muscular associada à perda de força é uma das primeiras e mais óbvias modificações que ocorrem como resultado da imobilização. Isso se correlacionaria com a redução no tamanho do músculo e uma queda na tensão por unidade de área transversal do músculo. Essa perda é mais acentuada nas primeiras setenta e duas horas, com índices de 14 a 17%. Tendo decorrido aproximadamente uma semana, o ritmo de perda parece diminuir.

A perda de trofismo ocorre em ambos os tipos de fibras. De acordo Pottle e Gosselin (2000) e Falempin e Mounier (1998) os efeitos deletérios da imobilização são mais pronunciados nas fibras de contração lenta em comparação com as rápidas. Neste

mesmo sentido, Fitts *et al.* (1986) e Machida e Booth (2004) afirmam que sob os modelos de imobilização ou suspensão, as fibras do tipo I, predominantes em músculos antigravitacionais são, aparentemente, mais afetadas do que as fibras do tipo II.

Outras alterações decorrentes da imobilização são de caráter histoquímico como redução dos níveis de ATP, ADP, creatina, fosfo-creatina, glicogênio, e maiores índices de lactato mediante as solicitações. A velocidade de síntese protéica começa a declinar seis horas após o início da imobilização. A consequência direta é o aumento da fadigabilidade devido à menor capacidade oxidativa. Um dos possíveis mecanismos de disparo das mudanças musculares subseqüentes à imobilização é a modificação do grau de atividade neural sobre o tecido muscular (Falempin e Mounier, 1998).

Os resultados da imobilização sobre o músculo foram assim resumidos:

1. Diminuição no tamanho das fibras musculares
2. Redução em tamanho e número de mitocôndrias
3. Redução no peso total do músculo
4. Aumento no tempo de contração muscular
5. Redução na tensão muscular produzida
6. Queda nos níveis de repouso de glicogênio e ATP
7. Queda mais rápida no nível de ATP com o exercício
8. Aumento na concentração de lactato com o exercício
9. Redução na síntese protéica

Outro fator que exerce influência sobre a atrofia muscular é a posição de imobilização. Os músculos imobilizados em posição de encurtamento perdem sarcômeros em série, ao passo que os músculos imobilizados com certo estiramento podem ganhar sarcômeros em série. O resultado é que no músculo imobilizado em posição de alongamento o comprimento das fibras musculares, juntamente com o tecido

conjuntivo, aumenta. Entretanto, no músculo imobilizado em posição encurtada ocorre diminuição no comprimento das fibras pela redução dos sarcômeros em série e aumento do tecido conjuntivo, acarretando uma diminuição da extensibilidade muscular.

Baseado nesse princípio, Booth (1982) afirma que músculos imobilizados em posições menores do que as posições de repouso fisiológico são utilizados para estudar as condições de atrofia que ocorrem sem que haja presença de lesão neural. Como exemplo de aplicações desses estudos existem a cadeira de rodas, a imobilização de um membro, a restrição ao leito prolongada e as condições de ausência de peso.

Atualmente, ao induzir atrofia muscular que se aproxime das condições de restrição ao leito e hipoatividade dois modelos são considerados mais apropriados: a suspensão e a imobilização. Em estudo comparativo dos modelos de imobilização, Fitts *et al.* (1986) afirmam que ambos os modelos produzem reduções significativas na massa do músculo Sóleo, duração da contração isométrica e pico da tensão tetânica.

Segundo Booth e Kelso (1973) e Itay, Kariya e Hoshino (2004) as técnicas de inervação, transecção de raiz neural ou medular, tenotomia, fixação das articulações com pinos e castração utilizadas para mimetizar a hipoatividade apresentam particularidades que podem alterar os índices de atrofia quando comparados aos dois previamente citados.

Nesse mesmo estudo, é relatado que a utilização de imobilização gessada permite a integridade dos nervos, músculos e tendões, não é invasiva e não permite que ocorra a descarga de peso sobre os membros imobilizados, tornando possível estudar os efeitos da diminuição do trabalho muscular em se opor à gravidade, além de ser um procedimento que se aproxima das condições deparadas na prática clínica e permitir mais facilmente que se estudem os acontecimentos decorrentes do retorno às atividades.

1.3 EXERCÍCIO FÍSICO

As indicações para a realização de exercícios físicos são extensas, abrangendo desde o simples lúdico até programas voltados para melhoria de desempenho ou reaquisição da função. A adoção de um programa de fortalecimento e condicionamento, controlado e planejado, ajuda a aumentar a força, potência e resistência muscular e diminuir os riscos de lesões. A importância do controle e do planejamento do programa de exercício é reforçada pela afirmação de Pottle e Gosselin (2000) de que o retorno de um músculo às atividades contráteis após período de inatividade é similar, em muitos aspectos, a um treino de sobrecarga.

Segundo Convertino e Sandler (1995), o exercício representa a primeira contrapartida a ser adotada. É aplicado na tentativa de amenizar ou reverter as perdas de massa muscular e cálcio da matriz óssea e prevenir o descondicionamento.

Inúmeras são as adaptações no tecido muscular decorrentes da adoção de um programa de exercício físico. Segundo Fleshner *et al.* (2000) períodos repetidos de exercícios produzem adaptações fisiológicas que permitem a um organismo realizar quantidades maiores de esforços com eficácia aumentada. Essas mudanças são chamadas de adaptações do treinamento.

Ishihara *et al.* (1998) Muñiz *et al.* (2001) e Kenneth e Haddad (2002) afirmam que as adaptações decorrentes da prática de exercícios são específicas ao tipo e quantidade de exercício. Exercícios de baixa intensidade e longa duração mostram adaptações relacionadas à resistência muscular, incluindo frações aumentadas de fibras oxidativas, aumento da capacidade oxidativa, maiores níveis de mioglobina, maiores concentrações de mitocôndrias, e aumento da capilaridade. Em contrapartida, exercícios de alta intensidade e curta duração, como treinos de força ou potência, resultam em poucas alterações metabólicas, mas ocasionam maior hipertrofia.

A hipertrofia é outra importante adaptação decorrente do exercício. É caracterizada pelo aumento da área de secção transversal, que fornece o potencial para o músculo desenvolver maior força (Pottle, Gosselin, 2000). Isso ocorre devido ao aumento do número de ligações (pontes) de actina e miosina. No entanto, a hipertrofia não aparenta ocorrer de modo uniforme entre os diversos tipos de fibras. Fibras de contração rápida (IIb) respondem mais à hipertrofia do que fibras de contração lenta (I) (Ishihara *et al.* 1998). Segundo Pottle e Gosselin (2000) e Ishihara *et al.* (1998) é dedutível que o músculo que apresenta uma proporção relativamente baixa de fibras musculares de contração rápida terá menor potencial para desenvolver aumento da massa muscular.

O tipo de contração realizada durante a atividade física acarreta em diferentes respostas adaptativas do músculo. Nesse sentido, Lynn, Talbot e Morgan (1998) e Armstrong, Oglieve e Schwane (1983) sustentam que ratos treinados em declividade, realizando prioritariamente contrações excêntricas, apresentam, em média, doze por cento mais sarcômeros em séries do que os ratos treinados em inclinação positiva, que evoca principalmente contrações concêntricas.

Existem vários relatos de utilização de esteira como agente do exercício físico em ratos (Lynn, Talbot, Morgan, 1998; Norman *et al.* 2000; Armstrong, Oglieve, Schwane, 1983; Muñiz *et al.* 2001). Mas não aparenta haver uma uniformização na elaboração dos protocolos. Enquanto alguns autores posicionam a esteira de modo paralelo ao solo, outros impõem aos animais corridas em auge ou declive. Outra variação encontrada diz respeito à velocidade. Por exemplo, o protocolo de Norman *et al.* (2000) utiliza velocidade constante de 17m/min. Enquanto que o treino proposto por Muñiz *et al.* (2001) a velocidade era de 60m/min.

A importância desses estudos pode ser compreendida pelas afirmações de Flesher *et al.* (2000) e de Ishihara *et al.* (1998) de que a corrida em esteiras é um método

comum de treinamento utilizado por pesquisadores ao investigar adaptações fisiológicas produzidas pelo exercício, pois torna possível propor uma padronização dos esforços aplicados ao animal. Entretanto, os autores consideram que o fato do exercício ser induzido no tempo, duração, intensidade e modo de execução podem desencadear nos animais respostas adaptativas ao estresse.

1.4 ENSAIO MECÂNICO

Os ensaios mecânicos têm sido utilizados há longa data para determinar as propriedades mecânicas dos materiais, principalmente dos metálicos. No entanto, é crescente seu emprego em materiais biológicos. Segundo Black (1999) a integridade mecânica é um requerimento universal para os biomateriais, sendo necessária haver uma coesão molecular para executar a função requisitada.

Os ensaios são agrupados em: destrutivos e não destrutivos. Os primeiros compreendem os ensaios de tração, flexão, impactação, fadiga, dobramento, torção, cisalhamento, compressão, dentre outros. O segundo grupo, não destrutivo, contém ensaios com raios-X, ultra-som, magnaflux, que conservam as propriedades dos materiais testados. A escolha do método de teste é baseada no tipo do material a ser testado, das forças que atuam sobre o material, e das propriedades do corpo do espécime que se objetiva mensurar (Souza, 1974).

A forma da amostra a ser testada depende da geometria do material e das suas propriedades (Brown *et al*, 1999). Alguns materiais biológicos possuem anisotropia, ou seja, diferentes amostras possuem diferentes comportamentos mecânicos. Outra consideração importante é de que se o corpo de amostra for diminuído, desconsiderando-se as dificuldades do procedimento, pode-se assumir que cada

elemento de mesma dimensão suporta a mesma intensidade de carga e deforma-se da mesma forma.

Por isso, a forma do material, assim como o tamanho e a quantidade de amostras, devem sempre objetivar uma padronização para ofertar representatividade e impossibilitar vieses.

1.4.1. ENSAIO DE TRAÇÃO

O ensaio de tração consiste na aplicação de uma força paralela ao eixo da amostra, tendendo a aumentá-la. A seguinte definição é dada por Souza (1974):

“... o ensaio é realizado num corpo de provas de formas e dimensões padronizadas, para que os resultados obtidos possam ser comparados ou, se necessário, reproduzidos. Este corpo de prova é fixado a uma máquina de ensaio que aplica esforços crescentes na sua direção axial, sendo medidas as deformações por meio de um aparelho especial...”.

A resultante da aplicação do ensaio é uma relação carga/deformação ou, tensão/deformação; as cargas, e, conseqüentemente, as deformações, serão distribuídas ao longo do material, até se atingir um ponto crítico. A partir do ponto crítico o comportamento do material não será mais uniforme, não ocorrendo mais uma proporcionalidade entre tensão (ou carga) e deformação. A maneira otimizada de avaliar os resultados do ensaio é utilizar o gráfico (curva) tensão/deformação.

1.4.2 TENSÃO / DEFORMAÇÃO

A forma mais comum de apresentação de um ensaio de tração é a curva tensão deformação.

Por meio desse gráfico podem-se determinar alguns pontos que são representativos no estudo do comportamento dos materiais.

A definição de tensão é a resistência de um corpo a uma força externa aplicada em função da sua área.

$$\sigma = F / A$$

Onde σ é a tensão, F é a força aplicada e A é a área.

A deformação ε resultante da aplicação da tensão sobre o corpo é expressa da seguinte forma:

$$\varepsilon = \Delta L / L_0$$

Onde ΔL é a deformação sofrida e L_0 é o comprimento inicial do corpo de prova

A parte inicial do gráfico tensão/ deformação é uma reta linear definida pela equação:

$$E = \sigma / \varepsilon$$

Essa equação fornece o módulo da elasticidade, cuja constante de proporcionalidade (E) é a expressão da lei de Hooke, ou módulo de Young. A partir do ponto crítico A, a linearidade desaparece e o material ultrapassa seu limite elástico, isto é, a partir desse ponto, mesmo retiradas às cargas que atuavam sobre o corpo, alguma deformação residual será observada. Esse ponto A é denominado limite elástico.

Figura 4: Curva força x deformação. ($C_{máx}$) força máxima. (C_{prop}) força no limite de proporcionalidade. (D_{prop}) deformação no limite de proporcionalidade. ($D_{máx}$) deformação na força máxima. (LM) limite máximo. (LP) limite de proporcionalidade.

Na Figura 4 está representada uma curva força x deformação clássica de um material ideal, onde o trecho do gráfico compreendido entre a origem e o limite elástico é denominado zona elástica. Enquanto o material estiver nessa fase do gráfico, terá um comportamento elástico e obedecerá à lei de Hooke (Souza, 1974).

Após a zona de deformação elástica ocorre a zona de deformação plástica, onde o material já não apresenta proporcionalidade entre tensão e deformação e, cessadas as cargas que atuavam no corpo, o material que se encontrar neste estágio apresentará deformação permanente.

Do gráfico carga ou de tensão x deformação são extraídos o Limite de Proporcionalidade, que determina o fim do comportamento elástico do material pelo ponto formado pela Deformação no Limite de Proporcionalidade e a Carga correspondente, o Limite Máximo, que é determinado pela carga (tensão) máxima e a deformação correspondente, a Rigidez do material, obtida pela tangente do ângulo θ na

fase elástica do material e a Resiliência, que é a energia absorvida pelo material também durante a fase elástica, e é representada pela área do triângulo abaixo do gráfico carga (tensão) x deformação (Souza, 1974).

Outra variante possível de ser determinada diretamente é o alongamento total:

$$A = (L - L_0 / L_0) \times 100$$

Onde L_0 é o comprimento inicial do corpo de prova, e L é o comprimento final após o término do ensaio. O resultado é obtido em percentil. Existe ainda a estricção, que é a diminuição percentual da secção transversa do material após a ruptura:

$$\phi = (S_0 - S / S_0) \times 100$$

Em ensaios de tração realizados com materiais biológicos, o limite de proporcionalidade pode não ser identificável. Dessa forma, outros referenciais são adotados como a carga máxima e a deformação máxima.

Essas propriedades, por serem obtidas *in vitro*, ou seja, sem a ação da ativação neural do tecido muscular, são também chamadas de tônus intrínseco (Williams *et al.*, 2001), visto que dependem apenas das propriedades dos materiais que compõem o músculo, e que, nessa situação, não há variação do número de pontes cruzadas de actina e miosina, que por sua vez iriam interferir no montante de carga exercido sobre o corpo de prova, ou seja, o músculo.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

O objetivo do presente estudo foi avaliar a interferência do exercício físico por esteira nas propriedades mecânicas de modelos animais sujeitos à imobilização do membro posterior.

2.2. Específicos

- I. Caracterizar as propriedades mecânicas de músculos gastrocnêmios após serem submetidos a diferentes graus de contração, (imobilização, normalidade e exercícios induzidos), por meio de comparações entre os resultados.
- II. Analisar o comportamento da tensão desenvolvida nos músculos durante os ensaios de tração, para averiguar a correlação desta estimativa com a carga máxima medida.

3. MATERIAL E MÉTODO

Para a realização deste estudo foram utilizadas as instalações do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP, com animais fornecidos pelo Biotério Central do *Campus* de Ribeirão Preto, uma máquina de ensaio universal computadorizada, ataduras gessadas e uma esteira para ratos.

O projeto deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

O protocolo para exercícios em esteiras adotado neste trabalho foi proposto por Norman *et al.* (2000).

A rotina de ensaio foi elaborada com base na experiência do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

3.1 ANIMAIS

Os animais utilizados foram ratas fêmeas (*Rattus norvegicus albinus*) da variedade Wistar, adultas, jovens, nascidas no Biotério do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. Um total de 60 animais foram utilizados neste estudo, alocados em seis grupos de dez animais cada.

Como critério de padronização foram observados o peso corporal, o gênero e a idade dos animais.

Estes animais foram mantidos aos pares em gaiolas, com livre acesso à alimentação padrão e água.

Os **seis** grupos de animais do estudo foram assim formados:

- I. **Grupo Controle 1:** Animais sacrificados ao atingirem a idade de 102 dias, sem tratamento específico.

- II. **Grupo Imobilização:** onde os animais, ao atingirem 81 dias de vida, foram imobilizados durante três semanas, perfazendo 102 dias de idade, e depois sofreram eutanásia para os testes.

Esses dois grupos tiveram por objetivo comparar as alterações decorrentes da imobilização gessada.

- III. **Grupo Controle 2:** Animais sacrificados com 123 dias de vida, sem tratamento específico.

- IV. **Grupo Imobilização-Exercício:** Animais, ao atingirem 81 dias de idade, foram imobilizados por três semanas e, findo este período, foram submetidos a três semanas de exercícios em esteira, totalizando 123 dias de idade, quando sofreram eutanásia.

- V. **Grupo Imobilização-Liberação:** depois de três semanas de imobilização foi retirado o aparelho gessado e os animais foram deixados soltos nas gaiolas por três semanas e ao completarem 123 dias de idade sofreram eutanásia.

- VI. **Grupo Exercício:** os animais deste grupo não foram imobilizados, mas ao atingirem os 102 dias de idade foram submetidos ao protocolo de treinamento em esteira durante três semanas.

3.2. OBTENÇÃO DE AMOSTRAS

As peças selecionadas para este estudo foram os músculos gastrocnêmios das ratas. Para a obtenção delas, os animais sofreram eutanásia com dose excessiva de Tiopental®. Foi isolado o membro posterior direito e realizada a retirada dos músculos femorais, tibiais e fibulares, conservando íntegros apenas origem e inserção dos gastrocnêmios conforme ilustrado na Figura 5. A desarticulação do joelho e tornozelo

foi realizada em seguida, fornecendo uma peça composta pelo fêmur, músculo gastrocnêmio e pata do animal.

Figura 5: Músculos do quadril e membro posterior de ratos wistar. 1) Glúteo superficial 2) Glúteo médio 3) Piriforme 4) Semitendinoso 5) Bíceps femoral 6) Semimembranoso 7) Vasto lateral 8) Gastrocnêmio

<http://www.personal.psu.edu/faculty/d/y/dys100/anatomy/rat/show/lateralhindleg2.htm>

3.3. IMOBILIZAÇÃO DOS ANIMAIS

Os animais foram imobilizados com aparelho gessado, aplicado sob anestesia com hidrato de cloral. A técnica de imobilização foi uma adaptação daquela descrita por Carvalho, Shimano & Volpon (2002) na qual o tronco e o membro posterior direito são envolvidos em malha tubular e atadura de algodão, mantendo o quadril e o joelho em extensão. A técnica descrita permite alguma locomoção dos animais nas gaiolas.

Após a administração de hidrato de cloral na proporção de 1ml/100g, por via intra peritoneal, os animais dos grupos que previam imobilização foram inicialmente envolvidos com a malha tubular, deixando livres apenas os órgãos genitais, membro posterior esquerdo e cauda. Tiveram os membros posteriores mantidos em abdução e foram submetidos à aplicação da atadura gessada, com 4,0 cm de largura, na região pélvica e do membro posterior direito. Foram adotados cuidados, durante a aplicação da tala gessada, para prevenir a formação de úlceras de pressão, como a utilização de atadura de algodão nas regiões de proeminências ósseas. O aparelho gessado, que incluiu a pelve, o quadril, o joelho, o tornozelo e o pé, manteve o membro posterior direito em extensão. A imobilização foi mantida por vinte e um dias, com a verificação diária das condições gerais dos animais e do aspecto do membro posterior. O aparelho gessado era substituído em caso de dano.

3.4. EXERCÍCIOS EM ESTEIRA

O protocolo adotado é apresentado no texto de Norman *et al.* (2000), onde os autores descrevem um modelo de treinamento com duração de três semanas, tendo início, neste estudo, no dia subsequente à retirada da imobilização. Inicialmente, o treino tem duração de 10 minutos por dia, com acréscimos de 5 minutos até atingir o patamar de 60 min. A velocidade média da esteira é de 17m/min.

Os animais foram treinados por três dias consecutivos, seguidos de um dia sem treino. Não foi utilizada adição de esforço como mudança do ângulo da esteira ou variação da resistência. Segundo os autores supracitados, a intensidade de treinamento do protocolo proposto é estimada em 60% do consumo máximo de oxigênio (VO₂).

A esteira elétrica utilizada é específica para o modelo animal utilizado, fabricada pela Insight. Equipamentos Ltda. (Ribeirão Preto, SP), possui mostrador digital de tempo e distância percorridos e seletor de velocidade graduado. Os animais foram acondicionados em baias individualizadas, em número total de seis, com altura de 15,0 centímetros, largura interna de 10,0 centímetros, comprimento de 50,0 centímetros, com tampa de acrílico que permite fácil visualização e renovação do ar através dos orifícios. No fundo de cada baia existe uma grade de choque, com objetivo de provocar um estímulo aversivo, tensão de 150 V AC e intensidade máxima de 3mA, no caso de contato do animal.

3.5. ROTINA DE ENSAIO MECÂNICO

Para a realização do ensaio foi necessária a obtenção de alguns valores, chamados no roteiro de ensaio de variáveis de entrada, pois eram obtidos e fornecidos para a máquina de ensaios mecânicos antes de realizar o ensaio de tração. Essas medidas foram a massa em gramas do animal, o comprimento inicial do músculo gastrocnêmio ensaiado e o perímetro do músculo, ambos em milímetros.

Inicialmente foram obtidas as medidas dos comprimentos dos músculos com um paquímetro, e adotados como referências padrões a origem do músculo gastrocnêmio e a inserção do tendão calcâneo.

O cálculo da área de secção transversa do músculo foi realizado a partir da medida do perímetro com um paquímetro adaptado na Oficina de Precisão da Prefeitura do *Campus* Administrativo da USP em Ribeirão Preto. Na Figura 6 está representado um esquema do paquímetro adaptado. O fio de nylon (A) foi fixado ao braço móvel do paquímetro (D) e atravessava a peça de acrílico (B), envolvendo o músculo. As

excursões do braço móvel do paquímetro eram padronizadas de modo que os diferentes músculos fossem submetidos à mesma pressão. Os valores do perímetro equivaliam à medida das réguas milimetradas do paquímetro.

Foram realizadas três medidas, no terço superior, médio e inferior do músculo gastrocnêmio que, depois de obtidas, permitiram o cálculo das áreas (S) do músculo, considerando-as aproximadas a de um cilindro. Como o perímetro de cada músculo ensaiado é conhecido, obtém-se a área aproximada de uma circunferência para cada ensaio utilizando as fórmulas:

$$P = \pi \cdot d \text{ (perímetro)}$$

$$S = \pi d^2 / 4 \text{ (área da circunferência)}$$

Figura 6: Paquímetro adaptado em duas vistas e seus componentes. (A) Fio de nylon. (B) Peça de acrílico (C) Régua milimetrada (D) Braço móvel com mola adaptada.

Dessa forma, foi possível estimar a tensão desenvolvida no músculo durante o ensaio de tração. Visto que a totalidade dos músculos analisados apresentou ruptura no

ventre muscular, região equivalente ao terço médio da peça de ensaio deste trabalho foi considerada apenas, neste trabalho, as medidas obtidas nessa região.

Para a realização dos ensaios mecânicos de tração foi utilizada a máquina universal de ensaios computadorizada DL 10000, destinada a ensaios de tração, compressão, flexão, dobramento, dentre outros. O equipamento, fabricado pela EMIC (Equipamentos e Sistemas de Ensaio, São José dos Pinhais-PR) é provido internamente com um medidor de deslocamento da travessa móvel, que atua por meio da medição da rotação do motor. As características técnicas fornecidas pelo fabricante são:

- Capacidade: 10.000 kgf.
- Acionamento: eletromecânico por motor de velocidade variável e fuso de esfera.
- Transdutores de medição de força: células de carga
- Transdutores de medição de deformação
- Comunicação com o microcomputador: canal serial padrão RS-232.

Após a obtenção da peça para ensaio, ela foi fixada em garras de latão confeccionadas na Oficina de Precisão da Prefeitura do *Campus* Administrativo da USP em Ribeirão Preto e acoplada à máquina para a realização do ensaio de tração.

Com base em estudos prévios (Carvalho, Shimano, Volpon 2002; Lara 2003), e em pilotos, o roteiro para a realização dos ensaios apresenta as seguintes linhas mestras:

- Fornecimento das medidas iniciais da peça a ser testada como peso do animal, comprimento inicial da peça e perímetro, para cálculo da área.
- Aplicação de uma pré-carga de 2N, com velocidade de deslocamento de 5 mm/min.
- Espera de 60 s como tempo de acomodação.

- Realização das medidas de carga x deformação, com velocidade de 5 mm/min e registros da carga máxima, deformação máxima e derivação da tensão máxima.

Figura 7: Complexo fêmur-gastrocnêmio-calcâneo posicionado para o ensaio de tração.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Devido aos tamanhos amostrais de cada grupo foi utilizada a análise não-paramétrica dos dados. Foi adotado $p \leq 0,05$ como nível de significância.

Para a comparação entre os grupos Controle 1 X Imobilização com 102 dias foi selecionado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Para a comparação entre os grupos Controle 2 X Imobilização-Liberação X Exercício X Imobilização-Exercício em 123 dias a ferramenta utilizada foi o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

Também foi realizada a comparação entre as variâncias dos grupos Controle 1 X Imobilização em 102 dias, bem como dos grupos Controle 2 X Imobilização-Liberação X Exercício X Imobilização-Exercício em 123 dias. Para tal finalidade foi aplicado o teste de Levene.

Por fim, procedeu-se o cálculo do coeficiente de correlação não-paramétrico de Spearman entre as variáveis força máxima e tensão máxima para cada grupo. Os valores das duas medidas foram comparados entre os dois grupos de animais que viveram 102 dias e quatro grupos de animais com 123 dias de idade, quando da realização da eutanásia.

Para a realização de tais análises foi utilizado o programa SPSS v. 10.0.

4. RESULTADOS

Nove animais não puderam ser utilizados. Dentre estes, três peças apresentaram a ruptura na origem muscular do gastrocnêmio, fato que foi atribuído, neste estudo, a erro na obtenção das peças e que não permitiu aferir a real carga máxima suportada pelo músculo. Dois animais apresentaram uma atitude constante da cabeça em rotação para um lado e dificuldades de deambulação, fato que foi atribuído à ocorrência de transtornos do labirinto. Os demais animais foram encontrados mortos em suas gaiolas.

4.1. MEDIDAS DOS MÚSCULOS

Para fornecer dados a máquina de ensaios para a realização do ensaio de tração foram realizadas medidas dos animais e das peças, complexo fêmur-gastrocnêmio-calcâneo, dos animais. Os valores obtidos para o perímetro do músculo, a massa total do animal e o comprimento do complexo fêmur-gastrocnêmio-calcâneo, chamados variáveis de entrada dos seis grupos de animais estão descritos nas tabelas do Anexo B.

Na Tabela 1 estão descritos as médias, as medianas e os desvios padrões das variáveis de entrada dos seis grupos.

Tabela 1: Médias / medianas / desvios padrões das variáveis de entrada.

Grupos	Perímetro (mm)	Massa (g)	Comprimento inicial (mm)
Grupo Controle 1	32,85/ 32/ 2,478	312,14/ 310/ 22,14	28,42/ 27/ 3,155
Grupo Imobilização	25,4/ 26/ 1,77	272,5/ 275/ 17,19	17,65/ 17,5/ 0,747
Grupo Controle 2	33,14/ 33/ 0,69	366,42/ 355/ 20,35	33,71/ 34/ 1,25
Grupo Imobilização	18,66/ 17/ 4,12	341,11/ 330/ 32,76	27,88/ 28/ 2,97
Liberação			
Grupo Exercício	27,75/ 28/ 1,48	328,12/ 322,5/ 36,6	31/ 31,5/ 1,51
Grupo Imobilização	29,2/ 28,5/ 2,57	358,5/ 347,5/ 36,9	28,4/ 28/ 1,26
Exercício			

4.2. CURVAS (FORÇA X DESLOCAMENTO)

A partir dos dados obtidos nos ensaios de tração dos gastrocnêmios foram gerados gráficos dos músculos com curvas força x deformação. Os gráficos estão dispostos por grupos de animais.

As curvas força x deformação dos músculos gastrocnêmios das ratas do grupo controle 1 estão apresentadas na Figura 8.

Figura 8: Curvas força x deformação do grupo controle 1.

As curvas força x deformação dos músculos gastrocnêmios das ratas do grupo imobilização estão apresentadas na Figura 9.

Figura 9: Curvas força x deformação do grupo imobilização.

As curvas força x deformação dos músculos gastrocnêmios das ratas do grupo controle 2 estão apresentadas na Figura 10.

Figura 10: Curvas força x deformação do grupo controle 2.

As curvas força x deformação dos músculos gastrocnêmios das ratas do grupo Imobilização Exercício estão apresentadas na Figura 11.

Figura 11: Curvas força x deformação do grupo imobilização exercício.

As curvas força x deformação dos músculos gastrocnêmios das ratas do grupo Imobilização liberação estão apresentadas na Figura 12.

Figura 12: Curvas força x deformação do grupo imobilização liberação.

As curvas força x deformação dos músculos gastrocnêmios das ratas do grupo exercício estão apresentadas na Figura 13.

Figura 13: Curvas força x deformação do grupo exercício.

4.3. ANÁLISE DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS

Para quantificar os efeitos da imobilização realizada neste estudo foi estabelecida a comparação entre os dois grupos de animais sacrificados com 102 dias de vida. Um dos grupos foi imobilizado por 21 dias e o outro grupo foi mantido livre na gaiola.

Outra análise foi feita comparando os grupos de animais com 123 dias de idade, para investigar os efeitos do treinamento em esteira.

As variáveis estudadas foram deformação na força máxima, a força máxima e a tensão, obtida pela medida indireta da área do ventre muscular dos gastrocnêmios.

4.3.1. DEFORMAÇÃO NA FORÇA MÁXIMA

A análise da deformação na força máxima foi realizada em duas etapas. Inicialmente os dois grupos de animais que sofreram eutanásia com 102 dias foram comparados pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. Os quatros grupos de animais que sofreram eutanásia aos 123 dias de vida foram comparados pelo teste não paramétrico de Kruskal – Wallis. Abaixo, na Figura 14, foram representados os valores das deformações máximas dos seis grupos e suas medianas.

Figura 14: Valores da deformação na força máxima dos grupos e suas medianas.

Os valores da mediana, média e desvio padrão dos grupos controle 1 e imobilização estão representados na Tabela 2. Para esta análise, foi adotado o teste não paramétrico de Mann-Whitney, com nível de significância $p \leq 0,05$.

Tabela 2: Valores para deformação na força máxima dos grupos 102 dias.

Deformação Máxima	Mediana	Média	Desvio Padrão
Grupo Controle 1	14,285 (mm)	14,663 (mm)	2,050 (mm)
Grupo Imobilização	7,611 (mm)	8,164 (mm)	3,228(mm)

O grupo submetido à imobilização apresentou valores menores, com significância estatística ($p=0,002$), quando comparado ao grupo controle 1. Abaixo, na Figura 15, estão representados os valores da deformação na força máxima dos dois grupos e suas medianas.

Figura 15: Valores da deformação máxima dos grupos 102 dias e suas medianas.

Para os quatro grupos de animais com 123 dias, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal – Wallis. Os valores das medianas, médias e desvio padrão foram apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Valores para deformação na força máxima nos grupos 123 dias.

Deformação Máxima	Mediana	Média	Desvio Padrão
-------------------	---------	-------	---------------

Grupo Controle2	15,271(mm)	15,400(mm)	3,320(mm)
Grupo Imobilização	13,977(mm)	13,576(mm)	3,597(mm)
Liberação			
Grupo Esteira	13,860(mm)	13,623(mm)	2,613(mm)
Grupo Imobilização	12,436(mm)	12,527(mm)	1,793(mm)
Esteira			

Para a variável deformação na força máxima não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de animais que sofreram eutanásia aos 123 dias. A Figura 16 ilustra os valores da deformação na força máxima para os quatro grupos e suas medianas.

Figura 16: Valores da deformação na força máxima dos grupos 123 dias e suas medianas.

4.3.2. FORÇA MÁXIMA

A análise da força máxima foi realizada em duas etapas. Inicialmente os dois grupos de animais que sofreram eutanásia com 102 dias foram comparados pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. Os quatros grupos de animais que sofreram eutanásia aos 123 dias de vida foram comparados pelo teste não paramétrico de Kruskal – Wallis. Na Figura 17 estão representados os valores obtidos para os seis grupos e as suas medianas.

Figura 17: Valores da força máxima dos grupos e suas medianas.

Para os grupos que sofreram eutanásia aos 102 dias de idade, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney, com nível de significância $p \leq 0,05$. A Tabela 4 apresenta a mediana, média e desvio padrão dos dois grupos de animais.

Tabela 4: Valores da força máxima para os grupos 102 dias.

Força Máxima	Mediana	Média	Desvio Padrão
Grupo Controle1	45,945 (N)	45,757 (N)	1,740 (N)
Grupo Imobilização	17,312 (N)	19,420 (N)	7,195 (N)

Houve diferença significativa ($p < 0,001$) nos valores de força máxima entre os grupos com 102 dias, sendo os valores do grupo imobilizados menores do que os valores do grupo controle 1. Abaixo, na Figura 18 estão os valores da força máxima dos dois grupos de animais e suas medianas.

Figura 18: Valores da força máxima dos grupos 102 dias e suas medianas.

Para os quatro grupos de animais com 123 dias, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal – Wallis. Os valores de mediana, média e desvio padrão estão representados na Tabela 5.

Tabela 5: Valores da força máxima para os grupos 123 dias.

Força Máxima	Mediana	Média	Desvio Padrão
Grupo Controle2*	55,094(N)	54,043(N)	3,289(N)
Grupo Imobilização Liberação	46,413(N)	44,782(N)	9,588(N)
Grupo Esteira	39,856(N)	39,123(N)	6,467(N)
Grupo Imobilização Esteira	44,697(N)	45,432(N)	4,952(N)

A análise estatística mostrou diferenças significativas ($p < 0,002$) apenas do Grupo controle 2 quanto aos demais grupos, que se equivalem. Abaixo, na Figura 19 estão representados os valores de força máxima dos quatro grupos de animais e suas medianas.

Figura 19: Valores da força máxima dos grupos 123 dias e suas medianas.

4.3.3. TENSÃO

A análise da tensão máxima foi realizada em duas etapas. Inicialmente os dois grupos de animais que sofreram eutanásia com 102 dias foram comparados pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. Os quatros grupos de animais que sofreram eutanásia aos 123 dias de vida foram comparados pelo teste não paramétrico de Kruskal – Wallis. Na Figura 20 estão representados os valores obtidos para os seis grupos e suas medianas.

Figura 20: Valores das tensões máximas dos grupos e suas medianas.

Para os grupos que sofreram eutanásia aos 102 dias de idade, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney, com nível de significância $p \leq 0,05$. Os valores de mediana, média e desvio padrão estão representados na Tabela 6.

Tabela 6: Valores de tensão máxima para os grupos 102 dias.

Tensão Máxima	Mediana	Média	Desvio Padrão
Grupo Controle	600,222 (kPa)	575,902 (kPa)	87,37173 (kPa)
Grupo Imobilização	349,052 (kPa)	375,993 (kPa)	127,75040 (kPa)

Houve diferença significativa ($p=0,003$) nos valores de tensão máxima entre os grupos com 102 dias, sendo os valores do grupo imobilizados menores que os valores do grupo controle 1. Na Figura 21 estão ilustrados os valores de tensão máxima para os dois grupos de 102 dias e suas medianas.

Figura 21: Valores de tensão para os grupos 102 dias e suas medianas.

Para os quatro grupos de animais com 123 dias, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal – Wallis. Os valores de mediana, média e desvio padrão podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7: Valores para tensão máxima dos grupos 123 dias.

.Tensão Máxima	Mediana	Média	Desvio Padrão
Grupo Controle 2	616607,0 (kPa)	619566,7 (kPa)	54318,9 (kPa)
Grupo Imobilização Liberação*	926270,0 (kPa)	1000073,7 (kPa)	265707,3 (kPa)
Grupo Esteira	661626,5 (kPa)	638377,5 (kPa)	89922,6 (kPa)
Grupo Imobilização Esteira	673699,5 (kPa)	673319,9 (kPa)	64549,73 (kPa)

A análise estatística apresentou diferenças significativas ($p < 0,001$), apenas do Grupo Imobilização liberação quanto aos demais grupos, que se equivalem. A representação visual dos valores de tensão máxima dos grupos 123 dias, e suas medianas, está ilustrada na □.

Figura 22: Valores de tensão máxima para os grupos 123 dias e suas medianas.

4.3.4. ANÁLISE DE VARIÂNCIA E CORRELAÇÕES

Para os três parâmetros, carga máxima, deformação na carga máxima e tensão, foi aplicado o teste de Levene para a obtenção da variância.

A análise dos valores para a deformação na força máxima ($p=0,30$) e tensão máxima ($p=0,27$) dos dois grupos de animais com 102 dias não apresentou diferença significativa. Em contrapartida, os valores para Carga Máxima do grupo Imobilização apresentaram um $p=0,003^*$, com a variância significativamente superior em relação ao grupo controle.

As análises das variâncias dos valores obtidos para os grupos de animais que foram sacrificados com 123 dias de vida foram equivalentes para a Deformação na Carga Máxima ($p=0,47$) e para a Carga Máxima ($p=0,19$). Os valores da Tensão do grupo Imobilização Liberação apresentaram variância significativamente superior ($p<0,001$) aos demais grupos, que se equivaliam entre si.

Foram realizadas, ainda, correlações não paramétricas, através do coeficiente de Spearman, entre as forças máximas medidas e as Tensões estimadas para cada grupo conforme exposto na Tabela 8.

Tabela 8: Correlações não paramétricas entre força máxima e tensão dos grupos.

Grupos	R	P
Controle 102 dias	0.61	= 0,15
Grupo Imobilização 102	0,94	> 0,001
Grupo Controle 123 dias	0.89	= 0,007
Grupo Imobilização Liberação	-0.08	= 0,83
Grupo Esteira	0.41	= 0,32
Grupo Imobilização Esteira	-0.36	= 0,31

5. DISCUSSÃO

Na realização deste trabalho foram utilizados sessenta animais, excetuando os pilotos, dispostos em seis grupos de dez animais. A escolha de dez animais por grupos ocorreu para compatibilizar as necessidades estatísticas e as orientações dadas pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

O músculo escolhido para a análise das propriedades mecânicas foi o gastrocnêmio, devido ao perfil de distribuição de suas fibras e facilidade de obtenção da peça para o ensaio. Armstrong e Phelps (1984) atentam para o fato de que, durante o repouso, o fluxo sanguíneo de ratos é direcionado prioritariamente para os músculos posturais profundos, ricos em fibras tipo I. Mas, uma vez iniciado o exercício por esteira, as elevações no fluxo sanguíneo são relativamente maiores nos músculos ricos em fibras intermediárias (IIa). Um modelo de músculo que apresenta uma distribuição dos tipos de fibra mais compatível com esse perfil é o sóleo, mas a sua utilização está limitada aos ensaios histo - morfométricos, por ser bastante difícil, se não inviável, a utilização do sóleo em ensaios de tração.

O protocolo descrito por Norman *et al.* (2000), aparentou ser o ideal para ser empregado neste estudo, pois o seu desenho de três dias de treino por um de repouso visa a minimizar os riscos de lesões no animal. Ainda, de acordo com estes autores, o consumo de oxigênio estimado para este protocolo de exercícios é de 60% VO_2 máximo, o que permite observar os efeitos benéficos dos exercícios resistidos.

Para as análises das propriedades mecânicas dos músculos esqueléticos de ratas tipo Wistar foram eleitos os parâmetros de carga máxima, deformação na carga máxima e tensão máxima.

O parâmetro deformação na carga máxima apresentou diferença significativa, ($p = 0,002$), entre os grupos de animais de 102 dias. A imobilização reduziu a quantidade de deformação que o músculo apresenta na carga máxima. A análise dos animais com 123 dias não apresentou diferenças estatisticamente significativas. Isso significa que essa propriedade pode ser recuperada pelo animal sem auxílio do treino em esteira. A pequena diminuição nas Deformações Máximas dos grupos que foram submetidos ao treino em esteira, em relação aos demais, pode ser atribuída à execução de contrações concêntricas repetidas vezes, o que tende a encurtar o músculo (Pottle, Gosselin, 2000; Lynn, Talbot, Morgan, 1998).

Os valores obtidos na mensuração da carga máxima, nos grupos de animais sacrificados aos 102 dias, com diferenças significativas de $p < 0,001$, evidenciam as alterações negativas conseqüentes da imobilização. O grupo Imobilização suporta cargas que são, em média, menos da metade daquelas suportadas pelo Grupo Controle. Dentre os grupos de animais sacrificados aos 123 dias, ocorreu diferença significativa, ($p = 0,002$), apenas do Grupo Controle em relação aos demais, que se equivaleram. É oportuno fazer uma consideração de que os valores de carga máxima para o grupo de animais que somente praticaram o protocolo de exercícios proposto por Norman *et al.* (2000), Grupo Esteira, também foram inferiores aos valores do Grupo Controle. É possível atribuir o ocorrido aos efeitos deletérios do exercício involuntário, relatado na literatura como próximos aos efeitos do estresse crônico (Fleshner *et al.* 2000; Ishihara *et al.* 1998), estimando que tenha ocorrido um processo iatrogênico. Contudo, tais efeitos não foram observados pelos autores que propuseram a técnica. Por outro lado, apesar dos autores estimarem que os animais pudessem se valer dos efeitos benéficos dos exercícios resistidos é possível que o treinamento tenha um caráter mais aeróbico, com implementos mais acentuados sobre o

desempenho do que sobre a força máxima desenvolvida. Sendo assim, o treinamento proposto pode ter recrutado apenas parcialmente a tensão tetânica máxima dos animais, e foi mais específico para alterações de “endurance” muscular ao invés de promover ganhos de trofismo mais pronunciados (Ishihara *et al.* 1998).

No estudo de Muñiz *et al.* (2001) o grupo de animais submetidos ao protocolo de treino de endurance realizava corridas de uma hora por dia, cinco vezes na semana e com velocidade de 20 metros por minuto.

Em um estudo que utilizava um protocolo diário de corrida em esteira com velocidade constante de 12m/min., durante 20 minutos, sem adição de esforços, por períodos de sete e catorze dias, Pottle e Gosselin (2000) não encontraram vantagens no uso de esteira pos imobilização, comparando com grupo controle mantido livre na gaiola. Os autores alegam que a oferta da carga mecânica deve ser adaptada para não ocasionar lesões por sobre carga mecânica. O protocolo de Norman *et al.* (2000) utiliza de velocidade e duração superiores ao protocolo de Pottle e Gosselin (2000), podendo ter causado lesões musculares que se manifestaram na diminuição da carga máxima mensurada.

As tensões obtidas para os músculos testados não exibiram relações lineares de proporcionalidade com as cargas máximas medidas. Ao invés, aparentam um comportamento paradoxal à primeira vista. Inicialmente, cabe um questionamento quanto às medidas dos perímetros dos músculos, obtidas como transferidor adaptado, conforme descrito no tópico Materiais e Métodos. Mas, as medidas foram padronizadas e executadas sempre pelo mesmo sujeito, o que tende a diminuir os vícios do processo. Outro questionamento pertinente é quanto ao comportamento microscópico do tecido e as adaptações morfofuncionais oriundas da imobilização e do treino por esteira.

A literatura traz muitos relatos de substituição do tecido muscular contrátil por tecido fibrótico, que apresenta valores específicos superiores aos do tecido muscular nas propriedades mensuradas, após períodos de imobilização. Essa substituição tissular explicaria porque o grupo que foi imobilizado e posteriormente deixado livre na gaiola, Grupo Imobilização Liberação, apresenta uma Tensão significativamente superior aos demais grupos, apesar da sua Carga máxima não ser a maior. Não fez parte do objetivo deste trabalho a análise das características histológicas do tecido muscular. Tais análises ajudariam a elucidar os comportamentos dos Grupos em relação às Cargas Máximas e a Tensão.

Alguns trabalhos elegem como critério de análise das propriedades mecânicas o ponto crítico, ponto onde o corpo “hookeano”, geralmente representado por uma mola, deixa de obedecer ao comportamento elástico e passa a apresentar deformações plásticas ao invés das deformações ditas elásticas.

Entretanto, existe farta caracterização do comportamento híbrido do tecido muscular, inviabilizando a caracterização do mesmo como um elástico. As classificações propostas caracterizam os músculos como corpos de Kelvin ou de Maxwell, que apresentam ao mesmo tempo comportamentos “hookeanos” e “newtonianos”, ou seja, são ao mesmo tempo uma mola e um pistão, com as diferentes disposições variando conforme o tipo e a orientação das fibras musculares.

O comportamento da curva carga x deformação no tecido muscular, inclusive, é sinusoidal e não apresenta um trecho linear que caracterize a proporcionalidade que caracteriza a zona elástica de deformação dos corpos “hookeanos”.

Alguns modelos matemáticos são propostos, como o de Magid & Law (1985), para tentar estimar um ponto de corte que se assimile ao ponto crítico. Mas esses artifícios não traduzem o real ponto onde as alterações ocorridas nos tecidos começam a ser

permanentes, com a observância de lesões nas fibras musculares. Ademais, estes modelos carecem de informações metodológicas mais detalhadas que permitam a reprodutibilidade nos modelos animais que foram adotados neste trabalho.

6. CONCLUSÕES

Após a obtenção e análise dos dados dos ensaios foram realizadas as seguintes conclusões:

- A imobilização alterou as propriedades mecânicas avaliadas, diminuindo a capacidade do músculo de suportar cargas e de se deformar.
- A propriedade de deformação pode ser recuperada pelo músculo sem intervenção de exercícios específicos.
- O protocolo adotado não foi suficiente para recuperar a propriedade do músculo de suportar cargas.
- A tensão não apresentou relação linear de proporcionalidade com a carga máxima suportada pelo músculo.
- A análise do comportamento da tensão deve ser acompanhada de estudos histológicos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARMSTRONG, R. B.; PHELPS, R.O.; **Muscle fiber type composition of the rat hindlimb.** Am. J. Anat. 171, 259-272, 1984.

ARMSTRONG, R. B.; OGLIEVE, R. W.; SCHWANE, J. A. **Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle.** J. Appl. Physiol. 54 (1), 80-93, 1983.

BALDWIN, K. M.; HADDAD, F.; **Skeletal muscle plasticity: Cellular and Molecular Responses to Altered Physical Activity Paradigms.** Am. J. Phys. Med. Rehabil. 81 (11) s40-s51, 2002.

BLACK, J.; **Biological performance of materials – Fundamentals of Biocompatibility.** Ed Marcel Dekker, USA 1999.

BOOTH, F. W. **Effect of immobilization on skeletal muscle.** J. Appl. Physiol. 52 (2) 1113-1118, 1982.

BOOTH, F. W.; KELSO, J. R. **Production of rat muscle atrophy by cast fixation.** J. Appl Physiol. 34 (3) 1973.

BROWN, B. H.; SMALLWOOD, R. H.; BARBER, D. C.; LAWFORD, P. V.; HOSE, D. R. **Medical physics and biomedical engineering.** IOP Publishing LTD, U.K. 1999.

- CARVALHO, C. M. M.; SHIMANO, A. C.; VOLPON, J. B.; **Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético.** Revista Brasileira de Engenharia Biomédica, 18 (2) 65-74, 2002.
- CONVERTINO, V. A.; SANDLER, H. **Exercise countermeasures for spaceflight.** Acta Astronautica 35 (4/5) 253-270, 1995.
- FALEMPIN, M.; MOUNIER, Y.; **Muscle atrophy associated with microgravity in rat:** basic data for countermeasures. Acta Astronautica. 42, 489-502, 1998.
- FAWCETT, D. W.; RAVIOLA, E.; **Bloom and fawcett, a textbook of histology-** 12th ed., Chapman & Hall, 1994.
- FLESHNER, M.; MORASKA, A.; DEAK, T.; SPENCER, R. L., ROTH, D. **Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in sprague- dawley rats.** Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. 279 1321-1329, 2000.
- FITTS, R. H.; METZGER, J. M.; RILEY, D. A.; UNSWORTH, B. R.; **Models of disuse: a comparison of hindlimb suspension and immobilization.** J Appl. Physiol. 60 (6) 1946- 1953, 1986.

FRY, A.C.; STARON, R. S.; JAMES, C. B. L.; HIKIDA, R. S.; HAGERMAN, F.C.

Differential titin isoform expression in human skeletal muscle. Acta Physiol.

Scand (161) 473-479, 1997.

GROUND, M. D.; SOROKIN, L.; WHITE, J.; **Strength at the extracellular**

matrix-muscle interface. Scand. J. Med. Sci. Sports. 15, 381 – 391, 2005.

HUIJING, P. A.; JASPERS, R.T.; **Adaptation of muscle size and myofascial force**

transmission: a review and some new experimental results. Scand. J. Med.Sci.

Sports (15) 349-380, 2005.

ISHIHARA, A.; ROY, R. R.; OHIRA, Y.; IBATA, Y.; EDGERTON, V. R.;

Hypertrophy of rat plantaris muscle fibers after voluntary running with

increased loads. J. Appl. Physiol. 84 (6), 2183- 2189, 1998.

ITAI, Y.; KARIYA, Y.; & HOSHINO, Y.; **Morphological changes in rat**

hindlimb muscle fibers during recovery from disuse atrophy. Acta Physiol.

Scand. (181) 217-324, 2004.

KASPER, C. E.; XUN, L.; **Expression of titin in skeletal muscle varies with**

hind-limb unloading. Biological Research for Nursing (2) 2 107-115, 2000.

KOH, T. J.; **Do adaptations in serial sarcomere number occur with strength**

training? Human Movement Science 14 1995.

KNUPP, C.; LUTHER, P. K.; SQUIRE, J. M.; **Titin organization and the 3d architecture of the vertebrate-striated muscle i-band.** J. Mol. Biol. 322 (4), 731 – 739, 2002.

LARA, M. A. P. **Algumas propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a um modelo de hipoatividade e tratadas com exercício.** Ribeirão Preto, Dissertação (Mestrado) Interunidades em Bioengenharia, Universidade de São Paulo, 2003.

LIEBER, R. L.; **Skeletal muscle structure and function.** – IMPLICATIONS FOR REHABILITATION AND SPORTS MEDICINE. WILLIAMS & WILKINS, 1992.

LYNN, R.; TALBOT, J. A.; MORGAN, D. L.; **Differences in rat skeletal muscles after incline and decline running.** J Appl. Physiol. 85 (1), 98-104, 1998.

MACHIDA, S.; BOOTH, F. W.; **Regrowth of skeletal muscle atrophied from inactivity.** Med. Sci. Sports Exerc. 36 (1), 52- 59, 2004.

MAGID, A.; LAW, D.J.; **Myofibrils bear most of the resting tension in frog skeletal muscle.** Science 230 (4731), 1280-1282, 1985.

MUÑIZ J.; DEL RIO, J.; HUERTA, M.; MARIN, J. L.; **Effects of sprint and endurance training on passive stress-strain relation of fast- and slow- twitch skeletal muscle in wistar rat.** Acta Physiol. Scand. 173, 207 – 212, 2001.

NORMAN, T. L.; BRADLEY- POPOVICH, G.; CLOVIS, N. **Aerobic exercise as a countermeasure for microgravity-** Induced Bone Loss and Muscle Atrophy in a Rat Hindlimb Suspension Model. *Aviat. Space Environ. Med.*, 2000.

POTTLE, D.; GOSSELIN, L. E.; **Impact of mechanical load on functional recovery after muscle reloading.** *Med. Sci. Sports Exerc.*, (32) 12, 2012-2017, 2000.

SAKAKIMA, H.; YOSHIDA, Y.; SAKAE, K.; MORIMOTO, N. **Different frequency treadmill running in immobilization-induced muscle atrophy and ankle joint contracture of rats.** *Scand. J. Med. Sci. Sports.* 14, 186-192, 2004.

SOUZA, S. A.; **Ensaio mecânico de materiais metálicos.** Ed. Edgard Blücher 1974.

SUWA, M.; NAKAMURA, T.; KATSUTA, S.; **Muscle fiber number is a possible determinant of muscle fiber composition in rats.** *Acta Physiol. Scand.* 167, 267-272, 1999.

WILLIAMS, G.N.; CHMIELEWISKI, T.; RUDOLPH, K.S.; BUCHANAN, T.S.; SNYDER-MACKLER, L. **Dynamic knee stability:** Current Theory and Implications for Clinicians and Scientists *JOSPT* 31 (10), 546-566, 2001.

8. ANEXOS.

Anexo A - Cópia do protocolo de aprovação do trabalho pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Anexo B – Valores das variáveis de entrada obtidos antes dos ensaios.

Anexo C – Tabelas, 1 a 6, com os valores obtidos durante os ensaios de tração.

ANEXO A

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
"CAMPUS" DE RIBEIRÃO PRETO
TELEFONE: PABX 602.3000 – FAX: (0XX16) 633.1586
14049-900 – RIBEIRÃO PRETO – ESTADO DE SÃO PAULO

Folha de Informação rubricada sob N°
do processo N° (a)

Interessado: MAURÍCIO NUNES DOURADO ROCHA

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ BATISTA VOLPON

Assunto: Avaliação do projeto de pesquisa: *"Efeitos da imobilização e do exercício físico por esteira em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético"*.

INFORMAÇÃO

O projeto intitulado *"Efeitos da imobilização e do exercício físico por esteira em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético"*, foi analisado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em sua 11ª Reunião Ordinária, realizada em 29 de março de 2004, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, de acordo com o Protocolo N° 053/2003.

Ribeirão Preto, 02 de abril de 2004.

Prof. Dr. JOÃO SANTANA DA SILVA
Presidente da Comissão de Ética em
Experimentação Animal

ANEXO B

Valores das variáveis de entrada fornecidas à máquina universal de ensaios.

Na Tabela 9 estão descritos os valores obtidos para as variáveis de entrada do grupo Controle1, com a média e o desvio padrão:

Tabela 9: Variáveis de entrada do grupo controle1 com média e desvio padrão.

Grupo Controle 1	Perímetro (mm)	Massa (g)	Comprimento inicial (mm)
Cp1	31	305	26,4
Cp2	30	320	31,6
Cp3	34	350	31,5
Cp4	36	285	24,5
Cp5	31	325	32
Cp6	36	290	26
Cp7	32	310	27
Média	32,85	312,142	28,428
Desvio Padrão	2,591	22,146	3,155

Na Tabela 10 estão descritos os valores obtidos para as variáveis de entrada do grupo Imobilização com média e desvio padrão:

Tabela 10: Variáveis de entrada do grupo imobilização com média e desvio padrão.

Grupo	Perímetro (mm)	Massa (g)	Comprimento
Imobilização			inicial (mm)
Cp1	27	290	19
Cp2	24	265	17
Cp3	27	290	18
Cp4	27	285	18
Cp5	23	250	17
Cp6	23	250	17
Cp7	27	285	18
Cp8	24	255	17
Cp9	27	290	18,5
Cp10	25	265	17
Média	25,4	272,5	17,65
Desvio Padrão	1,776	17,199	0,747

Na Tabela 11 estão descritos os valores obtidos para as variáveis de entrada do grupo Controle 2.

Tabela 11: Variáveis de entrada para o grupo controle 2 com média e desvio padrão.

Grupo Controle 2	Perímetro (mm)	Massa (g)	Comprimento inicial (mm)
Cp1	33	355	34
Cp2	34	405	35
Cp3	32	355	32
Cp4	33	345	32
Cp5	34	375	34
Cp6	33	355	34
Cp7	33	375	35
Média	33,14	366,42	33,714
Desvio Padrão	0,69	20,35	1,253

Na Tabela 12 estão descritos os valores obtidos para as variáveis de entrada do grupo Imobilização Liberação:

Tabela 12: Variáveis de entrada para o grupo imobilização liberação com media e desvio padrão.

Grupo	Perímetro (mm)	Massa (g)	Comprimento
Imobilização			inicial (mm)
Liberação			
Cp1	18	330	30
Cp2	17	320	25
Cp3	16	310	24
Cp4	16	310	28
Cp5	19	325	29
Cp6	17	335	27
Cp7	29	405	34
Cp8	20	380	28
Cp9	16	355	26
Média	18,66	341,11	27,88
Desvio Padrão	4,123	32,76	2,976

Na Tabela 13 estão descritos os valores obtidos para as variáveis de entrada do grupo Exercício:

Tabela 13: Variáveis de entrada do grupo exercício com media e desvio padrão.

Grupo Exercício	Perímetro (mm)	Massa (g)	Comprimento inicial (mm)
Cp1	29	335	32
Cp2	28	375	33
Cp3	27	360	30
Cp4	25	270	32
Cp5	27	305	31
Cp6	30	365	32
Cp7	28	305	29
Cp8	28	310	29
Média	27,75	328,12	31
Desvio Padrão	1,48	36,63	1,511

Na Tabela 14 estão descritos os valores obtidos para as variáveis de entrada do grupo Imobilização Exercício:

Tabela 14: Variáveis de entrada do grupo imobilização exercício com média e desvio padrão.

Grupo	Perímetro (mm)	Massa (g)	Comprimento
Imobilização			inicial (mm)
Exercício			
Cp1	29	370	30
Cp2	30	380	30
Cp3	29	350	28
Cp4	35	415	30
Cp5	32	375	29
Cp6	27	345	28
Cp7	27	330	28
Cp8	28	315	27
Cp9	28	300	27
Cp10	27	305	27
Média	29,2	348,5	28,4
Desvio Padrão	2,57	36,97	1,264

Tabelas com valores aproximados das deformações sofridas pelos corpos de prova, expressas em milímetros e a carga desenvolvida, expressa em Newton.

Grupo Controle 1

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]