

## Avaliação biomecânica estrutural da coluna de ratas submetidas à restrição de movimento e recuperação com natação

### Structural biomechanical evaluation of the column of rats subjected to movement restriction and recovery with swimming

Flávia Helena Germano Bezerra<sup>1</sup>, Karla Camila Lima de Souza<sup>2</sup>, Pedro Cunha Lopes<sup>1</sup>, Vânia Marilande Ceccatto<sup>2</sup>, Prodamy da Silva Pacheco Neto<sup>1\*</sup>, Francisco Fleury Uchoa Santos Júnior<sup>1,2</sup>

ARTIGO ORIGINAL | ORIGINAL ARTICLE

#### RESUMO

Dentre os vários recursos empregados na ortopedia, a imobilização é uma ferramenta habitualmente utilizada no tratamento de lesões ósseas e músculo-esqueléticas. O objetivo do presente estudo foi realizar uma avaliação biomecânica estrutural da coluna de ratas submetidas à imobilização e recuperadas com o treino de natação. Foram utilizadas 32 ratas, fêmeas, Wistar, divididas em quatro grupos: Controle (CTR), Imobilizado (I), Imobilizado/Natação (IN) e o Natação (NA). A imobilização ocorreu no membro posterior direito, incluindo a pelve, o quadril, fêmur, o joelho (extensão), tíbia e tornozelo (flexão plantar) durante duas semanas. O treino de natação ocorreu durante seis dias por semana ao longo de duas semanas. Após esse período os animais foram sacrificados e dissecados as vertebrae L6 e T13 e posteriormente mensurado as áreas de interesse. Os animais submetidos ao modelo de imobilização apresentaram alterações métricas na coluna vertebral. Os resultados enfatizaram que a alteração oriunda da restrição de movimento não se restringe a região imobilizada, mas também pode acometer de forma sistêmica outras estruturas adjacentes.

*Palavras-chave:* imobilização, coluna, ratos.

#### ABSTRACT

Among the various resources used in orthopedics, immobilization is a tool commonly used in the treatment of bone and musculoskeletal injuries. The objective of the present study was to perform a structural biomechanical evaluation of the spine of rats submitted to immobilization and recovered with swimming training. Thirty-two female Wistar rats were divided into four groups: Control (CTR), Fixed Assets (I), Fixed Assets / Swimming (IN) and Swimming (NA). Immobilization occurred in the right hind limb, including the pelvis, hip, femur, knee (extension), tibia, and ankle (plantar flexion) for two weeks. Swimming training occurred for six days a week over two weeks. After this period the animals were sacrificed and the L6 and T13 vertebrae were dissected and the areas of interest were subsequently measured. The animals submitted to the immobilization model showed metrical changes in the vertebral column. The results emphasized that the movement restriction is not restricted to the immobilized region, but it can also affect other adjacent structures in a systemic way.

*Keywords:* immobilization, column, rats.

#### INTRODUÇÃO

Dentre os vários recursos empregados na ortopedia, a imobilização é uma ferramenta habitualmente utilizada no tratamento de lesões ósseas e músculo-esqueléticas. Entretanto, verifica-se que o mesmo pode ocasionar vários

danos a estrutura imobilizada, tais como: hipotrofia/atrofia muscular, limitação articular, alterações metabólicas secundárias, além de comprometer a estrutura e propriedade óssea (Gomes et al., 2016; Ozaki et al., 2014; Santos Júnior et al., 2017).

<sup>1</sup> Centro Universitário Estácio do Ceará

<sup>2</sup> Universidade Estadual do Ceará

\* Autor correspondente: Centro Universitário Estácio do Ceará. Rua Eliseu Uchoa Beco, 600, Água Fria. CEP: 60810-270, Fortaleza, CE, Brasil. E-mail: prodamypn@hotmail.com

O tecido ósseo caracteriza-se por ser uma estrutura especializada, que tem a capacidade de autorreparação, podendo se alterar geometricamente em resposta aos estímulos mecânicos (Turner, 2000). Estudos anteriores relatam perda de massa óssea após longos períodos de imobilização em resposta a falta de pressão e estímulo mecânico imposto ao osso, limitando a remodelação e crescimento ósseo (Esteves et al., 2010; Gomes et al., 2016).

Na prática clínica, um dos recursos empregados para coibir e reverter as complicações oriundas da imobilização no sistema ósseo é a natação. Esse recurso vem sendo empregado em diversos tratamentos osteomusculares, com efeitos a nível celular, tecidual e estrutural (Fortes et al., 2017). Neste contexto, o presente estudo se justifica por preencher lacunas ociosas na literatura, visto que foram encontrados vários estudos que demonstram as alterações que corpo sofre após grandes períodos de imobilização e as vantagens da natação no tratamento após esse período de restrição de movimento.

Avaliar a biomecânica estrutural da coluna de ratos submetidas à imobilização e recuperados com o treino de natação foi o objetivo do presente estudo.

### MÉTODO

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

Utilizaram-se trinta e duas ratas, fêmeas, Wistar, idade média de 20 semanas, massa

corporal entre  $200 \pm 15$ g, oriundos 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 22-25 °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/Natação (IN) e Natação (NA).

A imobilização foi realizada conforme modelo proposto por Santos Júnior et al. (2010). Inicialmente os animais foram anestesiados com Cetamina 60mg/kg e Xilasina 8mg/kg e depois foram utilizadas tiras 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 diferentes tiras 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, quadril, fêmur, o joelho (extensão), tíbia e tornozelo (flexão plantar) durante duas semanas.

O treino de natação foi realizado 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 (Tabela 01) (Gomes et al., 2016).

Tabela 1

*Protocolo de treinamento da natação por semana*

	SEGUNDA	TERÇA	QUARTA	QUINTA	SEXTA	SÁBADO
1 <sup>a</sup>	3 minutos	6 minutos	9 minutos	12 minutos	15 minutos	18 minutos
2 <sup>a</sup>	21 minutos	24 minutos	27 minutos	30 minutos	33 minutos	36 minutos

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

seguida sacrificadas por decapitação para posterior dissecação das vértebras L6 e T13.

Foram realizadas medições de áreas específicas das seguintes estruturas: L6 e T13

com paquímetro da marca Leetools® em (mm). Todas as medidas foram realizadas por apenas um examinador.

Das vértebras L6 e T13 foram medidas as seguintes áreas:

- Distância entre os processos transversos;
- Distância entre o corpo vertebral e o processo espinhoso;
- Altura e largura do corpo vertebral.

Na análise estatística foi utilizada a média  $\pm$  desvio padrão, comparando os quatro grupos diferentes. Usou-se a análise de variância One-Way ANOVA com pós-teste Tukey com nível de significância estatística considerada para  $p < 0.05$ . As análises foram realizadas com o software GraphPad Prism versão 7.0, San Diego Califórnia USA.

## RESULTADOS

As análises métricas relacionadas às vértebras L6 e T13 entre os quatro grupos, são descritos na (Tabela 2).

Tabela 2

*Análise estrutural das vértebras L6 e T13*

	CTR	I	NA	IN
DPT L6 (mm)	11.96 $\pm$ 0.37	11.71 $\pm$ 0.28	10.53 $\pm$ 0.23*	11.55 $\pm$ 0.23
LCV L6 (mm)	3.95 $\pm$ 0.12	4.37 $\pm$ 0.10*	4.10 $\pm$ 0.10	4.23 $\pm$ 0.08
DCVPE T13 (mm)	6.66 $\pm$ 0.17	6.25 $\pm$ 0.13	6.0 $\pm$ 0.05*	6.17 $\pm$ 0.27
LCV T13 (mm)	4.58 $\pm$ 0.16	4.21 $\pm$ 0.15	4.65 $\pm$ 0.14	3.79 $\pm$ 0.10*#
ACV T13 (mm)	7.30 $\pm$ 0.66	4.96 $\pm$ 0.25*	5.63 $\pm$ 0.33	5.53 $\pm$ 0.19*

Controle (CTR); Imobilizado (I); Natação (NA); Imobilizado/Natação (IN).; DPT L6 - distância entre os processos transversos da vertebra L6; LCV L6 - largura do corpo vertebral da vertebra L6; DCVPE T13 - distância entre o corpo vertebral e o processo espinhoso; LCV T13 - largura do corpo vertebral da vertebra T13; ACV T13 - altura do corpo vertebral da vertebra T13; \* Diferente do CTR; # Diferente do IN em relação ao NA.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que os efeitos induzidos pela imobilização durante duas semanas foram suficientes para promover alterações na estrutura vertebral de ratas. Verificou-se que a imobilização foi capaz de modificar estruturalmente a altura do corpo vertebral da vértebra T13. É provável que a imobilização no tronco tenha restringido a caixa torácica e a parede abdominal e conseqüentemente limitando à mobilidade das vértebras torácicas, resultando em uma diminuição na altura do corpo vertebral de T13.

No que se refere à distância entre os processos transversos da vértebra L6, houve uma diminuição do grupo NA (10.53  $\pm$  0.23) em relação ao CTR (11.96  $\pm$  0.37),  $p = 0.0162$ . Referente à largura do corpo vertebral da vértebra L6 ocorreu um aumento no grupo I (4.37  $\pm$  0.10) em relação ao CTR (3.95  $\pm$  0.12),  $p = 0.0448$ . No que se refere à distância entre o corpo vertebral e processo espinhoso da vértebra T13 verificou-se uma redução do grupo NA (6  $\pm$  0.05) comparado ao CTR (6.66  $\pm$  0.17),  $p = 0.0295$ . Relativo à largura do corpo vertebral da vértebra T13 observou-se uma redução do grupo IN (3.79  $\pm$  0.10) em relação ao CTR (4.58  $\pm$  0.16) e aumento no grupo NA (4.65  $\pm$  0.14) referente ao IN,  $p = 0.0041$ . Verificou-se que na altura do corpo vertebral da vértebra T13 houve uma diminuição significativa no grupo I (4.96  $\pm$  0.25) e IN (5.53  $\pm$  0.18) em relação ao CTR (7.30  $\pm$  0.66),  $p = 0.0032$ .

É consensual na literatura que a imobilização compromete diretamente as propriedades físicas do osso reduzindo sua síntese óssea (Gomes et al., 2016; Ozaki et al., 2014). Segundo a lei de Wolf, o osso é um tecido dinâmico que tem a capacidade de autoremodelação conforme as pressões impostas ou a ausência de pressão, promovendo mudanças em sua arquitetura óssea (Pontinho, Boin, & Bertolini, 2008).

A limitação de estímulos mecânicos compromete a deposição de minerais importantes, levando a uma redução nas demandas metabólicas (Ozaki et al. 2014). O

cálcio é um dos principais minerais regulados pela quantidade de carga imposta, ou seja, quanto maior for às pressões impostas, maior será a ativação dos osteoblastos e consequentemente mais resistente será o osso (Esteves et al., 2010). Estima-se, que a contração muscular e a descarga de peso contribuam na resposta óssea local e no processo de reparação tecidual (Vasconcelos & Santos Júnior, 2010).

Na vértebra L6 não foram observadas alterações estruturais significativas. Segundo Kasper et al. (1993) para que haja desgaste ósseo nessa região é preciso restringir os movimentos da região pélvica. Conforme, o modelo proposto de imobilização, o movimento pélvico não é completamente comprometido, de modo que a região da vértebra L6, por ser a última vértebra lombar, não recebe limitação de carga se mantendo com movimento e contração.

No que diz respeito ao treino de natação, observou-se que a metodologia proposta não foi eficaz para reverter às alterações impostas pela imobilização. Alguns estudos reportam que o ambiente aquático, diferentemente das atividades realizadas no solo reduz a interação membro-solo, a ação do peso corporal sobre o osso e também a ação da força da gravidade (Carregaro & Toledo, 2008; Esteves et al., 2010).

De fato, alguns estudos sugerem que a natação não é capaz de atingir a força efetiva mínima necessária para o osso se adaptar e se restabelecer devido suas propriedades físicas (Esteves et al., 2010, Ramos et al., 2012). Contudo, outros estudos enfatizam que o exercício físico no meio aquático é capaz de aumentar a formação óssea e diminuir a sua reabsorção, influenciando na estrutura do osso (Gomes et al., 2016; Ozaki et al., 2014), É provável que a intensidade e duração do treino de natação não foram suficientes, para gerar alterações significativas nas propriedades ósseas dos animais estudados.

Os animais submetidos ao modelo de imobilização durante duas semanas apresentaram alterações métricas na coluna vertebral de ratas. Os resultados realçam que as alterações oriundas da restrição de movimento

não se restringe a região mobilizada, mas também pode acometer de forma sistêmica outras estruturas adjacentes.

---

#### Agradecimentos:

Nada a declarar

---



---

#### Conflito de Interesses:

Nada a declarar.

---



---

#### Financiamento:

Nada a declarar.

---

### REFERÊNCIAS

- Carregaro, R. L., & Toledo, A. M. (2008). Efeitos fisiológicos e evidências científicas da eficácia da fisioterapia aquática. *Revista em Movimento*, 1(1), 23-27.
- Esteves, A. C., Bizarria, F. S., Coutinho, M. P., Barreto, T. K., Brasileiro-Santos, M. S., & Moraes, R. R. (2010). A natação minimiza o retardo no crescimento somático e ósseo de ratos? *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 16(5), 368-372. DOI: 10.1590/S1517-86922010000500010
- Fortes, J. P. A., Carvalho, F. L., Alves, J. O., Chaves, M. M. G. F., Carneiro, M. R. A., Souza, K. C. L., ..., & Ceccatto, V. M. (2017). Hepatic glycogen levels in female rats submitted to aquatic therapy after muscle disuse, *Motricidade*, 13(3), 53-58. DOI: 10.6063
- Gomes, N. M. A., Souza, K. C. L., Rabelo, M., Fortes, J. P. A., Barbosa, L. S., Craveiro, R. M. C. B., ..., & Ceccatto, V. M. (2016). Aquatic therapy in bone mineral density in rats after paw disuse by Immobilization. *International Journal of Therapies & Rehabilitation Research*, 5(5), 161-169. DOI: 10.5455/ijtrr.000000200
- Kasper, C. E., McNulty, A. L., Otto, A. J., & Thomas, D. P. (1993). Alterations in skeletal muscle related to impaired physical mobility: an empirical model. *Research in Nursing and Health*, 16(4), 265-273.
- Ozaki, G. A. T., Koike, T. E., Castoldi, R. C., Garçon, A. A. B., Kodama, F. Y., Watanabe, A. Y., ..., & Camargo Filho, J. C. S. (2014). Efeitos da remobilização por meio de exercício físico sobre a densidade óssea de ratos adultos e idosos, *Motricidade*, 10(3), 71-78. DOI: 10.6063
- Pontinho, D., Boin, V. G., & Bertolini, G. R. F. (2008). Efeitos sobre o tecido ósseo e cartilagem articular provocado pela imobilização e remobilização em ratos Wistar. *Revista Brasileira Medicina do Esporte*, 14(5), 408-411. DOI: 10.1590/S1517-86922008000500001

- Ramos, S. P., Santos, V. B. C., Ruiz, R. J., Preti, M. C. P., Ventura, M. C., Nogueira, M. S., Campana, F. B., Müller, S. S., Polito, M. D., & Siqueira, C. P. (2012). Efeito do treinamento físico e da ingestão crônica de cafeína sobre o tecido ósseo de ratos jovens. *Revista Brasileira de Educação Física e Esporte*, 26(2), 209-217.
- Santos Júnior, F. F. U., Alves, J. S. M., Machado, A. A. N., Carlos, P. S., Ferraz, A. S. M., Leal-Cardoso, J. H., ..., & Ceccatto, V. M. (2010). Alterações morfométricas em músculo respiratório de ratos submetidos à imobilização de pata. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 16(3), 215-218. DOI: 10.1590/S1517-86922010000300012.
- Santos Júnior, F. F. U., Souza, K. C. L., Serra, D. S., Ceccatto, V. M., & Cavalcante, F. S. A. (2017). Analysis of pulmonary function and micromechanics structure after 14 days of movement restriction in female rats. *Fisioterapia e Pesquisa*, 24(2), 205-210. DOI: 10.1590/1809-2950/17484624022017
- Turner, R. T. (2000). Invited review: What do we know about the effects of spaceflight on bone. *Journal of Applied Physiology*, 89(2), 840-847. DOI: 10.1152/jappl.2000.89.2.840
- Vasconcelos, A. P. T., & Santos Júnior, F. F. U. (2010). Alterações na densidade óssea pós-imobilização em ratos. *Saúde em Diálogo*, 1(1), 59-65.



Todo o conteúdo da revista **Motricidade** está licenciado sob a [Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/), exceto quando especificado em contrário e nos conteúdos retirados de outras fontes bibliográficas.