

## Densidade mineral óssea em vértebras de ratos submetidos a imobilização e terapia aquática

### Bone mineral density in vertebrae of rats subjected to immobilization and aquatic therapy

Daiana Cordeiro Rodrigues<sup>1</sup>, Karla Camila Lima de Souza<sup>2</sup>, Mateus Bastos de Souza<sup>3</sup>, Vânia Marilande Ceccatto<sup>2</sup>, Francisco Fleury Uchoa Santos Júnior<sup>2,4</sup>, Cristiane Mattos de Oliveira<sup>1</sup>

ARTIGO ORIGINAL | ORIGINAL ARTICLE

#### RESUMO

A imobilização pode acarretar uma diminuição na densidade mineral óssea (DMO) do membro acometido e a terapia aquática pode ser considerada uma forma de tratamento. O objetivo do presente estudo foi analisar a DMO em vértebras de ratos submetidos à imobilização e posteriormente tratados com terapia aquática. Foram utilizados 32 ratos, fêmeas, Wistar, divididas em quatro grupos: controle (C), imobilizado (I), imobilizado/terapia aquática (ITA) e terapia aquática (TA). A imobilização ocorreu no membro posterior direito, incluindo a pelve, o quadril, fêmur, o joelho (extensão), tíbia e tornozelo (flexão plantar) durante duas semanas. A terapia aquática ocorreu durante seis dias por semana ao longo de duas semanas. Após esse período os animais foram sacrificados e dissecados as vértebras L6 e T13 e posteriormente analisado a DMO. Verificou-se que houve uma diminuição na DMO na vértebra T13 do grupo I em relação ao C, e um aumento significativo no grupo ITA em relação ao I. Esses resultados demonstraram que a terapia aquática é capaz de restaurar a perda óssea oriunda da imobilização.

*Palavras-chave:* imobilização, densidade óssea, coluna.

#### ABSTRACT

Immobilization decrease in the bone mineral density (BMD) of body segment that is immobilized, and aquatic therapy has often been considered as a possible treatment. The aim of the present study was to compare spine BMD of rats that underwent immobilization and subsequently followed aquatic therapy. 32 female Wistar rats were divided into 4 groups: control, immobilized, immobilized + aquatic therapy and aquatic therapy. Immobilization was performed in the rear right limb, comprising pelvis, hip, leg, knee and ankle and lasted 2 weeks. Aquatic therapy lasted 3 weeks, 6 days per week. After the experiment the rats were sacrificed and vertebrae L6 and T13 were removed and analyzed for BMD. There was a decrease in BMD of T13 in the immobilized group when compared with control and an increase in immobilized + aquatic therapy group when compared with immobilized group. It is concluded that aquatic therapy has the potential to override bone loss induced by limb immobilization.

*Keywords:* immobilization, bone mineral density, spine.

#### INTRODUÇÃO

A imobilização é um dos principais recursos utilizados no tratamento de fraturas e de algumas patologias álgicas, possibilitando a cicatrização de fraturas ósseas, recuperando a região lesada (Alves et al. 2013). A imobilização realizada por um curto período de tempo pode

causar várias alterações como hipotrofia ou atrofia muscular, redução nas atividades metabólicas, disfunção sensorial, alterações deletérias na estrutura e função do sistema motor (Santos Júnior et al., 2015), além de redução da densidade mineral óssea (Vasconcelos & Santos Júnior, 2010).

<sup>1</sup> Faculdade Maurício de Nassau do Ceará

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

<sup>3</sup> Universidade Federal do Ceará

<sup>4</sup> Centro Universitário Estácio do Ceará

\* Autor correspondente: daiana.fisio90@gmail.com

O tecido ósseo é resistente e rígido, formado por tecido conjuntivo e células que atuam na absorção e remodelação óssea, tais como osteoblastos, osteócitos e osteoclastos (Kisner & Colby, 2016). As adaptações são constantes na sua constituição, ficando hipertrofiado quanto maior for sua utilização ou atrofiado quando em desuso, possuindo capacidade de adaptar-se às modificações relacionadas à sua forma, tamanho e estrutura, devido aos estresses mecânicos a que esse tecido é submetido (Barbosa et al., 2010).

Diante dos diversos prejuízos que a imobilização pode vir a causar nos indivíduos que passam por esse procedimento, a fisioterapia é uma alternativa para o tratamento desses prejuízos, tendo a terapia aquática como aliado nessa recuperação. A terapia aquática é um recurso que tem como objetivo tratar ou prevenir doenças e lesões traumatológicas, ortopédicas, reumatológicas e neurológicas (Resende, Rassi, & Viana, 2008). Traz diversos potenciais benefícios devido aos seus efeitos físicos e fisiológicos que geram um processo de reparação tecidual, melhorando a circulação periférica o suporte de oxigênio dos tecidos musculares, além de reduzir a sensibilidade das terminações nervosas e produzir um relaxamento muscular, ocasionado pela vasodilatação e diminuição da sobrecarga (Picquet & Falempin, 2003).

Neste contexto, o presente estudo justifica-se por preencher lacunas na literatura, visto que foram encontrados vários estudos que demonstram as alterações que o corpo sofre após grandes períodos de imobilização e apontando potenciais vantagens da terapia aquática no tratamento após o período de imobilização.

Assim, analisar a densidade mineral óssea das vértebras L6 e T13 da coluna vertebral de ratos submetidos à imobilização e terapia aquática 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 dois ratos, fêmeas, Wistar, com 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 (C), imobilizado (I), imobilizado/terapia aquática (ITA) e terapia aquática (TA).

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 ligaduras de algodão com 4 cm de largura nas articulações para prevenir úlceras de pressão. Posteriormente os animais foram enfaixados com esparadrapo impermeável (marca Cremer®), com tiras diferentes de 5 cm de largura e 15 cm de comprimento, para o membro e o tronco. O membro posterior direito foi imobilizado incluindo a pelve, quadril, fêmur, o joelho (extensão), tíbia e tornozelo (flexão plantar) durante duas semanas.

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

Tabela 1

## Protocolo de Terapia Aquática

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

Fonte: Adaptada (Gomes et al. 2016).

No final do período indicado, os animais foram anestesiados com Tiopental Sódico 150mg/kg de acordo com a massa corporal, em seguida sacrificados por decapitação para posterior dissecação das vértebras L6 e T13.

Para a análise da DMO foram realizadas radiografias das vértebras L6 e T13 conforme metodologia proposta por Vasconcelos e Santos Júnior (2010). As imagens radiográficas foram digitalizadas e analisadas através do Software Image J 1.41o (Wayne Rasband Institutos Nacionais de Saúde; EUA) e posteriormente calculada a densidade radiográfica.

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 de DMO referentes às vértebras L6 e T13 entre os quatro grupos, são ilustrados nas (Figuras 1A e 1B).

Os valores da DMO da vértebra L6 encontrados foram de C =  $6228 \pm 1174$  UA, I =  $6095 \pm 2178$  UA, TA =  $6475 \pm 1501$  UA e ITA =  $6105 \pm 1156$  UA. Não houve diferença estatística entre os grupos I, TA e ITA em relação ao grupo C,  $p (0.5264)$  (Figura 1A).

No que concerne aos valores da DMO da vértebra T13, pudemos verificar os valores de  $5622 \pm 2989$  UA para C, de  $4353 \pm 2463$  UA para I,  $5355 \pm 3225$  UA para TA e  $5821 \pm 1984$  UA para ITA,  $p$  significativo entre os grupos ( $p=0.0031$ ). Verificou-se uma redução significativa da DMO no grupo I em relação ao C. Em contrapartida o grupo ITA apresentou um aumento estatisticamente significativo em relação ao grupo I, conforme a Figura 1B.

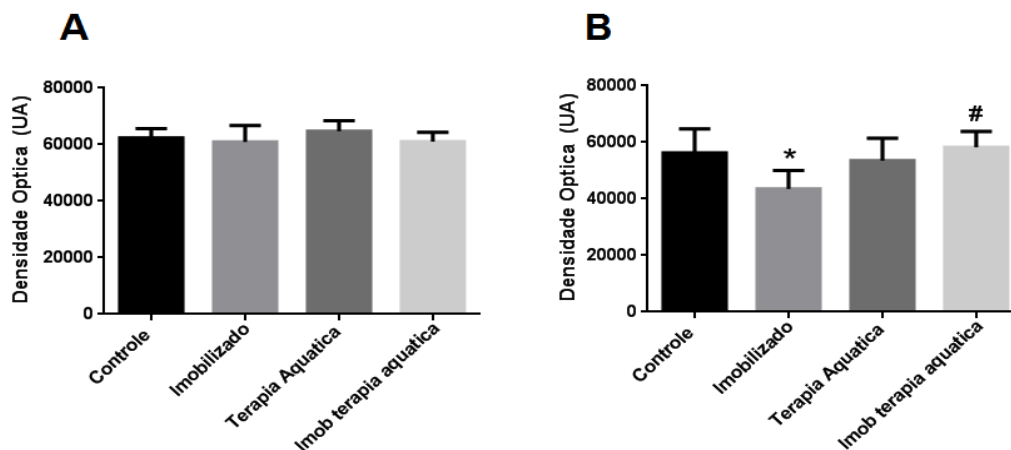


Figura 1. Análise da DMO das vértebras L6 e T13. A – representa a vértebra L6; B – representa a vértebra T13. \*Diferente do Controle; # Diferente do Imobilizado

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Este estudo reporta os efeitos na DMO após duas semanas de imobilização e terapia aquática nas vértebras L6 e T13. Os dados encontrados nesta pesquisa demonstraram que a imobilização na vértebra T13 foi suficiente para promover uma diminuição na DMO e a terapia aquática foi

capaz de recuperar essa alteração, enquanto que na vértebra L6 não foram encontradas alterações significativas.

Sabe-se que as propriedades ósseas podem mudar conforme o tempo de imobilização, remobilização e metodologia aplicada, bem como a espécie em estudo (Pontinho, Boin, &

Bertolini, 2008). De acordo com a lei de Wolf, o osso é um tecido dinâmico capaz de se modelar conforme as pressões impostas ou à falta de pressão aplicada a ele, promovendo mudanças em sua estrutura. O apoio de carga ou peso e a contração muscular são forças que exercem papel importante na arquitetura óssea (Sugiyama et al. 2012).

Na vértebra L6 não foram observadas alterações na DMO (Figura 1A), talvez porque, segundo Kasper et al. (1993), para que haja desgaste ósseo é preciso restringir os movimentos da região pélvica. De acordo com o modelo de imobilização adotado neste trabalho, o movimento pélvico não foi completamente comprometido, de modo que a região da vertebra L6, por ser a última vértebra lombar, não recebeu limitação de carga, mantendo-se com movimento principalmente através da utilização do músculo glúteo máximo. Tal não aconteceu na vértebra T13 visto que a mesma no modelo adotado foi mantida em total restrição de movimento.

O grupo I da vértebra T13 (Figura 1B) sofreu alterações na sua DMO devido ao comprometimento do movimento nessa região, visto que essa vértebra está totalmente envolvida pela imobilização e não recebia qualquer ação de cargas. Estas alterações na DMO já eram previstas considerando que a imobilização pode gerar uma série de mudanças adaptativas que podem desencadear perda funcional global e/ou local (Gomes et al. 2016).

Dentre as modalidades de exercícios, a terapia aquática é uma alternativa para o tratamento de indivíduos que foram sujeitos a imobilização, por reduzir o impacto articular, facilitando a realização dos movimentos (Gomes et al. 2016). Conforme ilustrado na Figura 1B, pode observar-se que a terapia aquática foi responsável por um aumento na DMO da vértebra T13 do grupo ITA, ou seja, recuperando a perda de DMO ocasionada pela imobilização. Acredita-se que, devido ao movimento exercido pelo animal, a manutenção em sua densidade óssea foi garantida, corroborando com o estudo de Vasconcelos e Santos Júnior (2010), onde o exercício físico foi um aliado à manutenção da DMO.

Segundo os resultados observados, após duas semanas de imobilização ocorreu uma diminuição na DMO da vértebra T13 dos animais do grupo I. No entanto, o grupo ITA conseguiu restaurar significativamente a DMO dessa estrutura. Este resultado reflete o potencial da terapia aquática no tratamento e manutenção da estrutura óssea do indivíduo acometido pela restrição de movimento.

---

#### Agradecimentos:

Nada a declarar

---



---

#### Conflito de Interesses:

Nada a declarar.

---



---

#### Financiamento:

Nada a declarar.

---

### REFERÊNCIAS

- Alves, J. S. M., Leal-Cardoso, J. M., Santos Júnior, F. F. U., Carlos, P. S., Silva, R. C., Lucci, C. M., ... & Barbosa, R. (2013). Limb immobilization alters functional electrophysiological parameters of sciatic nerve. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 46(8), 715-721. doi:10.1590/1414-431X20132626
- Barbosa, A. A., Moraes, G. H. K., Torres, R. A., Reis, D. T. C., Rodrigues, C. S., & Müller, E. S. (2010). Avaliação da qualidade óssea mediante parâmetros morfométricos, bioquímicos e biomecânicos em frangos de corte. *Revista Brasileira Zootecnia*, 39(4), 772-778. doi:10.1590/S1516-35982010000400011
- 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.
- Kisner, C., & Colby, L. A. (Ed.). (2016). *Exercícios Terapêuticos, Fundamentos e Técnicas*. São Paulo: Manole.
- Picquet, F., & Falempin, M. (2003). Compared effects of hindlimb unloading versus terrestrial deafferentation on muscular properties of the rat soleus. *Experimental Neurology*, 184(1), 186-194. doi:10.1016/S0014-4886(03)00111-0

- 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
- Resende, S. M., Rassi, C. M., & Viana, F. P. (2008). Efeitos da hidroterapia na recuperação do equilíbrio e prevenção de quedas em idosas. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, 12(1), 57-63. doi:10.1590/S1413-35552008000100011
- 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., Pires, A.F., Ribeiro, M. M., Mendonça, V. A., Alves, J. O., Soares, P. M., ..., & Sampaio, A. M. (2015). Sensorial, structural and functional response of rats subjected to hind limb immobilization. *Life Sciences*, 137, 158-163. doi:10.1016/j.lfs.2015.07.020
- Sugiyama, T., Meakin, L. B., Browne W. J., Galea, G. L., Price, J. S., & Lanyon, L. E. (2012). Bones' adaptive response to mechanical loading is essentially linear between the low strains associated with disuse and the high strains associated with the lamellar/woven bone transition. *Journal of bone and mineral research*, 27(8), 1784-1793. doi:10.1002/jbmr.1599
- 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.