

ÓRTESE ORTOPÉDICA ALTERA A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA DE RATAS SUBMETIDAS AO TREINAMENTO DE CORRIDA

(Orthopedic orthopedics alters the bone mineral density of rats submitted to race training)

Karla Camila Lima de Souza¹, Yara Carliane de Abreu Mesquita², Pedro Cunha Lopes¹, Jonathan Elias Rodrigues Martins¹, Denner Silvino da Silva¹, Paulo Elesson Guimarães de Oliveira¹, Patricia Lima Pinheiro³, Francisco Fleury Uchôa Santos Júnior^{1,3*}, Vânia Marilande Ceccatto¹

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

RESUMO

As órteses ortopédicas funcionam como recursos terapêuticos dando suporte a algum membro corporal, que esteja acometido para complementar e permitir uma adequada reabilitação, com o objetivo de imobilizar, corrigir desvios, proteger ou bloquear determinadas estruturas, que possuem movimentos não fisiológicos. O objetivo deste trabalho foi analisar o impacto da órtese ortopédica na densidade mineral óssea de ratas submetidas ao treinamento de corrida. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará, sob o protocolo nº 6923877 de 28/10/2016. Foram utilizadas 22 ratas, fêmeas, Wistar, massa corporal entre 210±10g. Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos: Controle (CTR), Treinado (TRE) e Treinado com Órtese (TRO). Os animais do grupo CTR não realizaram o treino; os grupos TRE e TRO foram submetidos ao treinamento moderado de corrida. O treino ocorreu por três semanas em que a 1ª semana consistiu de uma adaptação em esteira. As duas semanas seguintes, os animais passaram por um teste de esforço no primeiro dia da semana, e nos cinco dias seguintes, por um treinamento de corrida à 60% da capacidade de esforço máximo. O teste de esforço consistiu em etapas de corridas contínuas, com um incremento de 0,2km/h na intensidade do exercício, até que o animal atingisse a exaustão. Após esse período, os animais foram anestesiados e posteriormente sacrificados, para a remoção do fêmur e da tíbia das patas traseiras (direita e esquerda). Das seguintes áreas foram analisadas: epífise (proximal e distal), diáfise e comprimento ósseo. Para análise estatística utilizou-se ANOVA One way, com teste *Brown-Forsythe* e *Kruskal-Wallis*, considerando diferença com $p < 0,05$. Os resultados foram expressos em média ± erro padrão da média. Verificou-se que estruturalmente houve poucas alterações métricas nas áreas analisadas, destacando-se a redução diafisária na tíbia e no fêmur do grupo TER, em comparação ao

*Endereço para correspondência:
drfleuryjr@gmail.com

CTR. E aumento epifisário no fêmur do grupo TER, em relação ao CTR. Entretanto, constatou-se que o grupo TRO promoveu alterações estatisticamente significativas na densidade mineral óssea das áreas analisadas. Portanto, foi concluído que a utilização da órtese ortopédica pode influenciar estruturalmente a densidade mineral óssea, assim como pode atenuar os efeitos da sobrecarga óssea durante o treino de corrida.

Palavras-chaves: Órtese, Corrida, Rato, Densidade óssea.

ABSTRACT

Orthopedic orthoses act as therapeutic resources supporting a stricken limb to complement and allow adequate rehabilitation, with the purpose of immobilizing, correcting deviations, protecting or blocking certain structures that have non-physiological movements. The objective of this study was to analyze the impact of orthopedic orthosis on the bone mineral density of rats submitted to running training. The project was approved by the Ethics Committee for the Use of Animals of the State University of Ceará, under the protocol nº 6923877 of 10/28/2016. Twenty-two female Wistar rats, with the body mass between 210 ± 10 g were used. The animals were randomly divided into 3 groups: Control (CTR), Trained (TRE) and Trained with Orthosis (ORT). The animals of the CTR group did not perform the training; the TRE and TRO groups underwent moderate race training. The training took place for three weeks where the first week consisted of a treadmill adaptation. Over the next two weeks the animals underwent a stress test on the first day of the week, and on the next five days, for a training course at 60% of the maximum exertion capacity. The exercise test consisted of continuous races with an increase of 0.2km/h in the intensity of the exercise, until the animal reached exhaustion. After this period, the animals were anesthetized and later dissected to remove the femur and tibia from the hind paws (right and left). The following areas were analyzed: epiphysis (proximal and distal), diaphysis and bone length. Statistical analysis was used ANOVA One way with Brown-Forsythe and Kruskal-Wallis test, considering difference with $p < 0.05$. Results were expressed as average \pm standard error. It was verified that structurally there were few metric alterations in the analyzed areas, emphasizing diaphysis reduction in the tibia and femur of the TRE group in comparison to the CTR. Moreover, epiphyseal increase in the femur of the TRE group in relation to the CTR. However, it was verified that the TRO group promoted statistically significant alterations in the bone mineral density of the analyzed areas. Therefore, we conclude that the use of the orthopedic orthosis can influence structurally the bone mineral density, as well as it can attenuate the effects of the bone overload during the race training.

Key-words: Orthosis, Race, Mouse, Bone Density.

INTRODUÇÃO

As órteses ortopédicas são dispositivos que funcionam como recursos terapêuticos oferecendo suporte estrutural a qualquer membro corporal que esteja comprometido, a fim de complementar e permitir uma adequada reabilitação (BARDUCCI *et al.*, 2017). A palavra órtese é oriunda do grego, cujos termos *othos* e *tithemem* denotam simultaneamente, correção e colocação (CARVALHO, 2013).

As principais funcionalidades estão aliadas a prevenção de deformidades, correção de desvios, bloqueio de movimentos anormais, estabilização de estruturas articulares e ósseas e alívio total ou parcial do peso corporal (BARDUCCI *et al.*, 2017).

Para Brasil (2002) as órteses diminuem as pressões plantares excessivas, reduzem os atritos durante o movimento horizontal dos pés, atuam como amortecedores para os pés durante o impacto contra o solo, ajustando possíveis deformidades funcionais e oferecendo suporte e estabilidade.

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo mostrar por meio de uma pesquisa experimental, que o uso da órtese ortopédica é capaz de alterar a densidade mineral óssea de ratas submetidas ao treinamento de corrida.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (UECE), protocolo nº 6923877 de 28/10/2016. Sendo respeitados todos os princípios éticos sobre experimentação e manipulação animal.

Utilizou-se vinte e duas ratas, fêmeas, Wistar, idade média de 20 semanas, massa corporal entre 210 ± 10 g, oriundas do biotério da UECE. Durante o período experimental, os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro (12 /12 h), em ambiente com temperatura controlada entre 22 a 25 °C, recebendo ração e água *ad libitum*. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos: Controle (CTR), Treinado (TRE) e Treinado com Órtese (TRO).

O período de treinamento de corrida foi de três semanas no turno diurno, conforme a (Tab. 1) em uma esteira ergométrica (Inbramed. Brasil), adaptada para o uso de roedores. A primeira semana consistiu de uma adaptação na esteira, no qual no 1ª dia os animais ficaram em repouso na esteira e no 2ª ao 5ª houve o incremento de carga de 0,3 a 0,6 km/hora.

Nas duas semanas seguintes os animais passaram por um teste de esforço e o treinamento. O teste de esforço máximo foi aplicado no 1ª dia de cada semana de treino. O teste consistiu de etapas de 3 minutos de corrida com carga constante e com incrementos de 0,2 km/h até a exaustão do animal, percebida quando os animais abrem as patas com sinal de cansaço. O treinamento de corrida ocorreu no 2ª ao 4ª dia, com carga de 60% da capacidade máxima do animal.

Tabela 01: Protocolo do Treinamento de Corrida.

Semanas	Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado
1ª	Semana de Adaptação					
2ª	1ª Teste Esforço	Treino - 60% da Capacidade Máxima				
3ª	2ª Teste Esforço	Treino - 60% da Capacidade Máxima				

O grupo TRO realizou o treino de corrida com órtese confeccionada a base de borracha de silicone, conforme as dimensões da pata de cada animal. Estas órteses foram fixadas nas patas traseiras com fita adesiva, a fim de não saírem no momento da corrida.

No final do período experimental, os animais foram anestesiados com Tiopental Sódico 150 mg/kg de acordo com a massa corporal, em seguida foram sacrificados por decapitação, para posterior dissecação do fêmur e da tibia (patas traseiras - direita e esquerda).

Análises Métricas

Foram realizadas medidas métricas (mm) do fêmur e da tibia (pata direita e esquerda), com paquímetro da marca (Leetools, Brasil). As seguintes áreas de interesse foram mensuradas: epífise (proximal e distal), diáfise e comprimento ósseo.

Análise da Densidade Óptica (DO)

As radiografias foram realizadas no aparelho de raios X, com gerador VMI 500 amperes, o tubo do equipamento foi posicionado verticalmente em relação às peças anatômicas, com distância foco-filme de 80 cm, com face anterior voltada para cima em filme de 35 x 43 cm e ajustado para exposição de 45kv e 4mAs. As peças de todos os grupos estudados permaneceram na mesma película Kodak, com o tempo de exposição de 0,04 segundo. Após a obtenção da imagem latente, o filme foi revelado em processadora automática e o produto de sua imagem foi digitalizado, por meio de fotografia em câmera digital Sony w110 (Sony Corporation), com resolução de 7 megapixel a 50 cm do negatoscópio, no qual está a película (VASCONCELOS e SANTOS JÚNIOR, 2010).

As imagens digitalizadas foram analisadas através do Software Imagem J 1.41o (Wayne Rasband Institutos Nacionais de Saúde; EUA), no qual se demarcou toda a estrutura óssea para obtenção de uma média da densidade radiográfica de todo o osso. O software forneceu a medida em histograma, obtendo-se a seguir a radiodensidade média de cada grupo e os dados relativos à média de valores dos pixels que foram tabulados. O programa utilizou uma escala de 8 bits para fornecer os dados sobre a média de valores dos pixels (VASCONCELOS e SANTOS JÚNIOR, 2010).

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através dos resultados apresentados, o grupo submetido ao protocolo de treino obteve diferenças morfológicas no fêmur, enquanto que na epífise proximal ou na parte de contato com o esqueleto axial, que forma a articulação coxofemoral, obteve um aumento de seu diâmetro total, por outro lado, o diâmetro da diáfise que compõe um tipo diferente

de tecido ósseo, mais compacto e menos esponjoso que o da epífise, obteve uma diminuição do seu diâmetro total (Tab. 2).

Tabela 2: Medidas métricas da tibia e do fêmur (mm).

	CTR	TRE	TRO
Tibia direita			
Epífase proximal	6,24±0,08	6,27±0,07	6,32±0,08
Epífase distal	4,81±0,13	4,65±0,09	4,87±0,08
Diáfise	2,83±0,09	2,33±0,05*	2,84±0,10£
Comprimento	32,78±0,28	32,85±0,34	32,72±0,32
Tibia esquerda			
Epífase proximal	6,34±0,08	6,42±0,02	6,41±0,15
Epífase distal	4,74±0,16	4,76±0,11	4,92±0,11
Diáfise	2,78±0,14	2,27±0,04*	2,51±0,051
Comprimento	32,80±0,23	33,08±0,39	33,29±0,35
Fêmur direito			
Epífase proximal	6,41±0,12	6,83±0,03*	6,58±0,08
Epífase distal	5,76±0,05	5,81±0,02	5,89±0,06
Diáfise	3,73±0,09	3,46±0,04*	3,71±0,07
Comprimento	27,35±0,23	27,40±0,28	27,73±0,34
Fêmur esquerdo			
Epífase proximal	6,61±0,13	6,91±0,03	6,76±0,05
Epífase distal	6,06±0,10	6,05±0,03	6,05±0,04
Diáfise	3,41±0,10	3,57±0,05	3,48±0,04
Comprimento	28,49±0,16	27,94±0,20	28,43±0,35

Valores expressos como média ± erro padrão da média. CTR = Controle; TRE = Treinado; TRO = Treinado com órtese. * p<0,05 versus CTR; £ p<0,05 versus TRE.

Alguns estudos demonstraram que indivíduos praticantes de modalidades esportivas, com maior sobrecarga ocasionada pelo peso corporal, possuem uma morfologia e uma densidade mineral óssea geral maior, quando comparado às pessoas sem o mesmo nível de atividades físicas (EVANS *et al.*, 2001).

Os dados apontam que o grupo TRO não expressou alteração estrutural significativa, em comparação ao grupo CTR (Tab. 2). É provável que a órtese, por ter a capacidade de absorver o impacto da pata no solo (VERDEJO, 2004), possa ter uma ligeira influência sobre os aspectos descritos na lei de Wolf, ou seja, a sobrecarga exercida sobre a pata não foi capaz de causar mudanças estruturais, visto que, a adaptação óssea é alcançada

via exercício e é diretamente proporcional à sobrecarga gerada (SANDSTRÖM *et al.*, 2000).

Contudo, observou-se em nosso estudo que a sobrecarga foi maior nos locais de contato e de maior choque, ou seja, articulações (MORRIS *et al.*, 2000), como por exemplo a epífise proximal que é representada pela região da cabeça do fêmur e trocânter maior, em que apresentaram um aumento estatisticamente significativo no diâmetro do grupo TRE (Tab. 2), enquanto que os dados de D.O. (Fig. 2B), do grupo que correu, foram maiores na epífise distal (região do tornozelo), sendo apenas 5% maior no grupo de TRO.

Com relação aos dados estatísticos da tibia, verificou-se que os parâmetros analisados não obtiveram alterações significativas em sua estrutura, no que diz respeito à epífise proximal, distal e o comprimento ósseo, no entanto, a porção diafisária que consiste na haste (corpo) do osso possuindo tecido compacto, especificamente do grupo TER, obteve redução do seu diâmetro (Tab. 2).

Apesar da prática de atividade física afetar toda a estrutura óssea, como na remodelação e composição corporal, principalmente quando realizado em alta intensidade, porém nada encontrou-se relacionado a morfologia óssea das tibias (CADORE *et al.*, 2005), corroborando com os resultados estruturais analisados (Tab. 2).

Todas as regiões aferidas da tibia (Fig. 1), além da epífase distal (Fig. 2B) e comprimento femural (Fig. 2D) tiveram aumento de D.O, é provável que essa alteração ocorra pelo fato da tibia e do fêmur receber os maiores impactos. Segundo Tønnesen e colaboradores (2016), todos os tipos de exercícios que tem o impacto como fator intrínseco estão associados com o aumento da densidade mineral óssea.

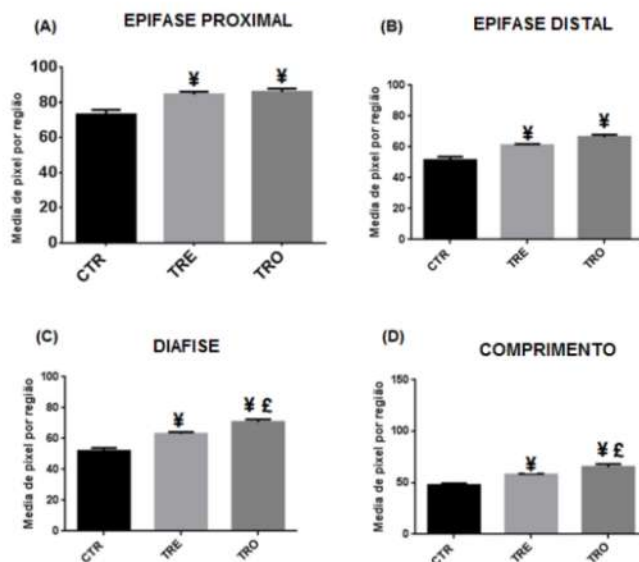


Figura 1: Densidade mineral tibial (pixel).

CTR = Controle; TRE = Treinado; TRO = Treinado com órtese. ¥ $p < 0,05$ versus CTR; £ $p < 0,05$ x TRE. (Fig. 1A) Epífise proximal da tibia: CTR (73,06±2,61), TRE (84,44±1,49) e TRO (85,87±1,86), $p < 0,0041$. (Fig. 1B) Epífise distal da tibia: CTR (51,41±2,25), TRE (61,06±0,93) e TRO (66,41±1,47), $p < 0,0001$. (Fig. 1C) Diáfise da tibia: CTR (51,85±2,08), TRE (62,94±1,22) e TRO (70,74±1,64), $p < 0,0001$. (Fig. 1D) Comprimento da tibia: CTR (47,71±1,68), TRE (57,80±0,90) e TRO (65,35±2,65), $p < 0,0001$.

De acordo com Mottini *et al.*, (2008) o fortalecimento ósseo ocorre em virtude do local que está ocorrendo o estímulo mecânico, ou seja, quanto mais proximal o estímulo maior a resposta local (VASCONCELOS e SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2010). Provavelmente a intensidade mecânica promovida pelo protocolo de corrida, associada ao uso da órtese ortopédica tenha induzido a uma nova adaptação óssea, alterando a densidade mineral óssea de ratas verificada na (Fig. 1), na (Fig. 2B) e na (Fig. 2D).

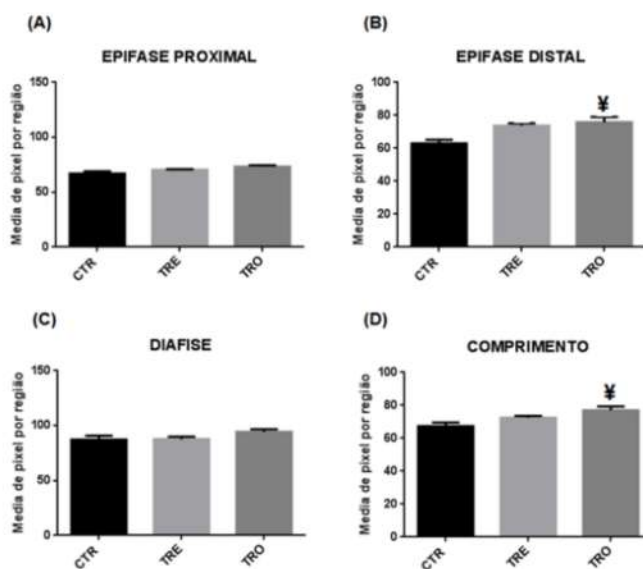


Figura 2: Densidade mineral femural (pixel).

CTR = Controle; TRE = Treinado; TRO = Treinado com [órtese. ¥ $p < 0,05$ x CTR.
 (Fig. 2A) Epífise proximal do fêmur: CTR (66,91±2,18), TRE (70,40±0,53) e TRO (73,20±1,39), p 0,076.
 (Fig. 2B) Epífise distal do fêmur: CTR (62,84±2,31), TRE (73,60±1,64) e TRO (75,80±3,20), p 0,0046.
 (Fig. 2C) Diáfise do fêmur: CTR (87,13±3,72), TRE (87,73±2,20) e TRO (94,25±2,27), p 0,3006.
 (Fig. 2D) Comprimento do fêmur: CTR (67,31±2,20), TRE (72,49±1,04) e TRO (76,95±2,31), p 0,0139.

CONCLUSÃO

A órtese ortopédica é capaz de influenciar a densidade mineral óssea em virtude de suas características de absorção, que desencadeiam o fortalecimento ósseo gerado pelo estímulo mecânico sobre as áreas analisadas, atenuando também os efeitos da sobrecarga corporal durante o treino de corrida.

REFERÊNCIAS

BARDUCCI, G.S., MENDES, L.F., PERAZA, R.L.S., SANTOS, V.H.C., BAPTISTELLA, M.M.T., MAZINI, S.R., MORAES, P.A.V., LEITE, S.S., NASCIMENTO, R.F. Fabricação de uma órtese integrando cursos de graduação engenharia de produção e fisioterapia. Revista Engenharia em Ação UniToledo, v.2, n.2, p.97-112, 2017.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Manual de Adaptações de Palmilhas e Calçados. Brasília: Ministério da Saúde, 2002. 66p.
- CADORE, E.L.; BRENTANO, M.A.; KRUEL, L.F.M. Efeitos da atividade física na densidade mineral óssea e na remodelação do tecido ósseo. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.11, n.6, p.373-379, 2005.
- CARVALHO, J.A. Órteses: Um recurso terapêutico complementar. 2ª ed. Barueri: Manole, 2013. 400p.
- EVANS, E.M.; PRIOR, B.M.; ARNGRIMSSON, S.A.; MODLESKY, C.M.; CURETON, K.J. Relation of bone mineral density and content to mineral content and density of the fat-free mass. *Journal of Applied Physiology*, v.91, n.5, p.2166-2172, 2001.
- MORRIS, F.L.; SMITH, R.M.; PAYNE, W.R.; GALLOWAY, M.A.; WARK, J.D. Compressive and Shear Force Generated in the Lumbar Spine of Female Rowers. *International Journal of Sports Medicine*, v.21, n.07, p.518-523, 2000.
- MOTTINI, D.U.; CANDORE, E.L.; KRUEL, L.F.M. Efeitos do exercício na densidade mineral óssea. *Revista Motriz*, v.14, n.1, p.85-95, 2008.
- SANDSTRÖM, P., JONSSON, P., LORENTZON, R., THORSEN, K. Bone mineral density and muscle strength in female ice hockey players. *International Journal of Sports Medicine*, v.21, n.07, p.524-528, 2000.
- TØNNESEN, R.; SCHWARZ, P.; HOVIND, P.H.; JENSEN, L.T. Physical exercise associated with improved BMD independently of sex and vitamin D levels in young adults. *European Journal of Applied Physiology*, v.116, n.7, p.1297-1304, 2016.
- VASCONCELOS, A.P.T.; SANTOS JÚNIOR, F.F.U. Alterações na densidade óssea pós-imobilização em ratos. *Saúde em Diálogo*, v.1, n.1, p.59-65, 2010.
- VERDEJO, R.; MILLS, N.J. Heel-shoe interactions and the durability of EVA foam running-shoe midsoles. *Journal of Biomechanics*, v.37, n.9, p.1379-1386, 2004.