

ANÁLISE MUSCULAR E ÓSSEA DE RATAS SUBMETIDAS À IMOBILIZAÇÃO E RECUPERADAS COM TERAPIA AQUÁTICA

*(Muscular and bone analysis of rats submitted to immobilization
and recovered with aquatic therapy)*

Jefferson Pacheco Amaral Fortes¹; Pedro Cunha Lopes¹; Daiana Cordeiro Rodrigues¹;
Rachel Patricio da Rocha²; Patricia Lima Pinheiro²;
Karla Camila Lima de Souza¹; Francisco Fleury Uchoa
Santos Junior^{1,2*}; Vânia Marilande Ceccatto¹

¹Laboratório de Bioquímica e Expressão Gênica da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ce;
Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus Itaperi, Fortaleza-Ce, CEP: 60.740-000. ²Centro
Universitário Estácio do Ceará, Fortaleza, Ce.

RESUMO

Dentre os diferentes recursos empregados na clínica ortopédica, a imobilização é um instrumento rotineiramente utilizado no tratamento de lesões musculares e ósseas, entretanto, este procedimento ocasiona diversos danos à estrutura imobilizada. A fim de reverter os efeitos adversos da imobilização, é utilizada a terapia aquática que unida aos efeitos benéficos da imersão em água, auxilia nos ajustes fisiológicos do corpo. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da terapia aquática em situações de imobilização no músculo gastrocnêmio e na estrutura óssea de membros inferiores. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará, sob o protocolo nº 1122178 de 05/10/2017. Foram utilizadas 32 ratas, fêmeas, Wistar, divididas em quatro grupos: Controle (CTR), Imobilizado (I), Terapia Aquática (TA) e Imobilizado/Terapia Aquática (ITA). A imobilização ocorreu no membro posterior direito, incluindo a pelve, o quadril, o fêmur, o joelho (extensão), a tibia e o tornozelo (flexão plantar) durante duas semanas. A terapia aquática ocorreu durante seis dias por semana ao longo de duas semanas. Após esse período os animais foram sacrificados e dissecados as estruturas de interesse: gastrocnêmio, tibia e fêmur dos membros posteriores (direita e esquerda). O trofismo muscular foi calculado pela razão entre o peso úmido do músculo gastrocnêmio (mg) e o peso corporal final (g) dos animais. A força muscular relativa foi delimitada pela razão entre o peso do músculo (mg) e o comprimento da tibia (mm). Das estruturas ósseas foram analisadas as seguintes estruturas de interesse: 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 \pm erro padrão da média. Verificou-se que a imobilização por duas semanas causou perda de força muscular associada ao trofismo no músculo gastrocnêmio, além de comprometer a estrutura e densidade óssea. No entanto, observou-se que o tratamento com terapia aquática

*Endereço para correspondência:
drfleuryjr@gmail.com

foi capaz de reverter os efeitos adversos nas estruturas musculares e ósseas, sendo um grande aliado na redução dos efeitos negativos da imobilização.

Palavras-chaves: Imobilização, Músculo, Rato, Densidade Óssea.

ABSTRACT

Among the different resources used in the orthopedic clinic, immobilization is an instrument routinely used in the treatment of muscular and bone injuries, however, this procedure causes several damages to the immobilized structure. In order to reverse the adverse effects of immobilization, aquatic therapy is used due to the beneficial effects of immersion in water, which helps physiological adjustments of the body. The present study aims to evaluate the effects of aquatic therapy in situations of immobilization in the gastrocnemius muscle and lower limb bone structure. The project was approved by the Committee of Ethics for the Use of Animals of the State University of Ceará, under the protocol nº 1122178 of 05/10/2017. Thirty-two female Wistar rats were divided into four groups: Control (CTR), Immobilize (I), Aquatic Therapy (AT) and Immobilized with Aquatic Therapy (IAT). Immobilization occurred in the right hind limb, including the pelvis, hip, femur, knee (extension), tibia, and ankle (plantar flexion) for two weeks. Aquatic therapy occurred for six days a week over two weeks. After this period the animals were sacrificed and dissected the structures of interest: gastrocnemius, tibia and femur of the hind paws (right and left). Muscle trophism was calculated by the ratio between the weight of the wet gastrocnemius muscle (mg) and the final body weight (g) of the animals. The relative muscle strength was determined by the ratio of muscle weight (mg) to tibial length (mm). From the bone structures the following structures of interest were analyzed: epiphysis (proximal and distal), diaphysis and bone length. For the statistical analysis it was used ANOVA One way with Brown-Forsythe and Kruskal-Wallis test, considering difference with $p < 0.05$. Results were expressed as average \pm standard error. It was found that immobilization for two weeks caused loss of muscle strength associated with trophism in the gastrocnemius muscle, in addition to compromising bone structure and density. However, it was observed that treatment with aquatic therapy was able to reverse adverse effects on the muscular and bone structures, being a great ally in reducing the negative effects of immobilization.

Key words: Immobilization, Muscle, Mouse, Bone Density.

INTRODUÇÃO

Dentre os diferentes recursos empregados na clínica ortopédica, a imobilização é um instrumento rotineiramente utilizado no tratamento de lesões musculares e ósseas. Entretanto, verifica-se que o mesmo pode gerar diversos danos a estrutura imobilizada, tais como: atrofia muscular (GOMES *et al.*, 2016), alterações metabólicas (DURIGAN *et al.*, 2006), comprometimentos secundários (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2017), além de danificar a estrutura e a propriedade óssea (OZAKI *et al.*, 2014).

A proporção dos efeitos oriundos do desuso muscular pode se agravado pelo tempo de imobilização e pela ausência de estímulo mecânico, pela idade, pelos tipos de fibras musculares e pela sua composição (BODINE, 2013). Alguns estudos têm reportado

o uso de recursos aquáticos para diminuir os efeitos deletérios provocados pelo processo de imobilização (FALCAI *et al.*, 2015; PETRINI *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2018).

Os exercícios em meio aquático estimulam a contração muscular diminuindo os efeitos adversos do desuso e melhorando a atividade muscular (LEE *et al.*, 2018), recuperando a cartilagem articular e a membrana sinovial (KUNZ *et al.*, 2014), além de estimular o desenvolvimento estrutural do osso (FALCAI *et al.*, 2015).

Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo elucidar possíveis lacunas existentes na literatura no que tange aos efeitos da terapia aquática em situações de imobilização no músculo gastrocnêmio e na estrutura óssea de membros inferiores.

MATERIAL E MÉTODOS

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

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

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

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

Tabela 01: Protocolo de Terapia Aquática.

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

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

No final do período experimental, os animais foram anestesiados com Tiopental Sódico 150mg/kg de acordo com a massa corporal, em seguida foram sacrificados por decapitação para posterior dissecação do músculo gastrocnêmio, que foi separado em porção branca e vermelha, e removido o fêmur, e a tibia dos membros posteriores direito e esquerdo. As estruturas citadas foram pesadas em balança de precisão (0,01g).

Análise do Trofismo Muscular e da Força Muscular Relativa

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

Análises Métricas

Foram realizadas medidas métricas (mm) do fêmur e da tibia (membro posterior direito e esquerdo), 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 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 megapixels à 50 cm do negatoscópio, no qual está a película (VASCONCELOS e SANTOS JÚNIOR, 2010).

As imagens digitalizadas foram analisadas por meio 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 dos valores dos pixels (VASCONCELOS e SANTOS JÚNIOR, 2010).

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo verificou-se que houve um decréscimo significativo da força muscular relativa (Fig. 1A), na ordem de 52% e trofismo muscular (Fig. 2A) na faixa de 45% no músculo gastrocnêmio (porção branca) do grupo imobilizado, em comparação ao CTR. Entretanto, verificou-se que a terapia aquática reverteu os danos ocasionados pelo desuso muscular na (Fig. 1B), na ordem de 34% e (Fig. 2A), na faixa de 40%.

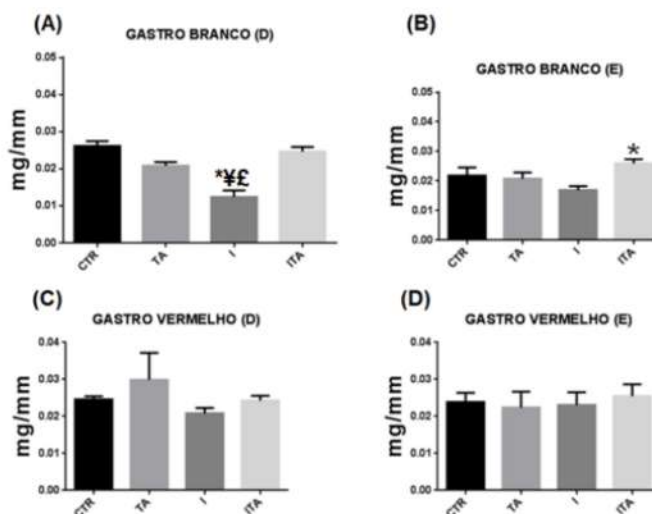


Figura 1: Força muscular relativa do gastrocnêmio (porção branca e vermelha) dos membros traseiros (direito e esquerdo) de ratas.

CTR= Controle; I = Imobilizado; TA = Terapia aquática; ITA = Imobilizado/Terapia aquática. * $p < 0,05$ versus CTR; ¥ $p < 0,05$ versus TA. £ $p < 0,05$ versus ITA. * $p < 0,05$ versus CTR; ¥ $p < 0,05$ versus TA. £ $p < 0,05$ versus ITA.

(Fig. 1A) força muscular relativa do gastrocnêmio branco [D]: CTR ($0,0261 \pm 0,00127$), TA ($0,0208 \pm 0,00102$), I ($0,0124 \pm 0,00177$), ITA ($0,0246 \pm 0,00124$), $p < 0,0001$.

(Fig. 1B) força muscular relativa do gastrocnêmio branco [E]: CTR ($0,0218 \pm 0,00279$), TA ($0,0207 \pm 0,00211$), I ($0,0169 \pm 0,00126$), ITA ($0,0259 \pm 0,00143$), $p 0,0068$.

(Fig. 1C) força muscular relativa do gastrocnêmio vermelho [D]: CTR ($0,0245 \pm 0,000870$), TA ($0,0298 \pm 0,00729$), I ($0,0208 \pm 0,00141$), ITA ($0,0242 \pm 0,00130$), $p 0,2256$.

(Fig. 1D) força muscular relativa do gastrocnêmio vermelho [E]: CTR ($0,0238 \pm 0,000867$), TA ($0,0224 \pm 0,00174$), I ($0,0230 \pm 0,00130$), ITA ($0,0254 \pm 0,00112$), $p 0,3471$.

O músculo gastrocnêmio é um músculo misto e dinâmico formado por dois tipos de fibras musculares (ABDALLA *et al.*, 2009). As fibras vermelhas (tipo I), especializadas em atividades aeróbicas e as fibras brancas (tipo II), especializadas na produção de força (SHIAFFINO, 2010). Segundo Schakman *et al.* (2008), os dois tipos de fibras são propensos aos efeitos deletérios do desuso muscular.

Conforme relatos descritos na literatura, a imobilização causa diversas alterações morfofuncionais em animais imobilizados, como perda de peso corporal e muscular (CARVALHO *et al.*, 2013; GOMES *et al.*, 2016), redução no número de sarcômeros, área de secção transversa e força máxima de ruptura (LIMA *et al.*, 2007), aumento no número de miofibrilas e colágeno (ROCHA *et al.*, 2010), e perda de força relativa muscular e trofismo muscular (ROCHA *et al.*, 2010; GOMES *et al.*, 2016).

É provável que a redução da força relativa e trofismo observados nas (Fig. 1A) e (Fig. 2A) estejam relacionados ao aumento de tecido conjuntivo intramuscular, e superficial, e a perda de massa muscular, corroborando com os achados da literatura (ROCHA *et al.*, 2010; GOMES *et al.*, 2016).

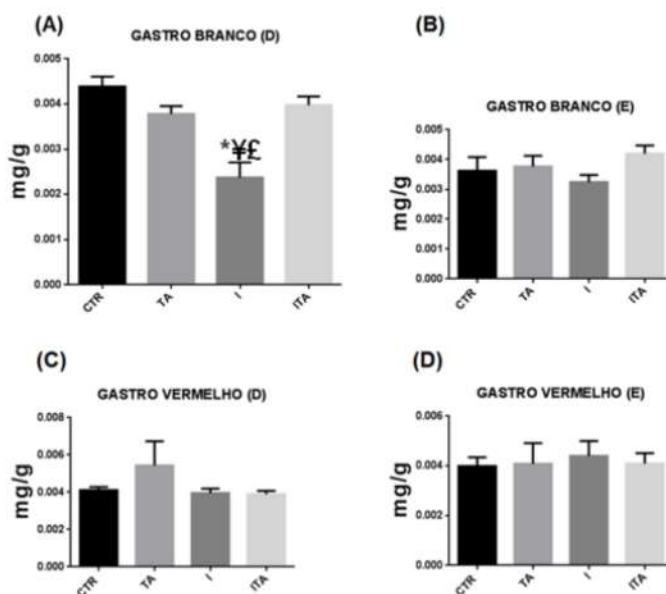


Figura 2: Trofismo muscular do gastrocnêmio (porção branca e vermelha) dos membros traseiros (direita e esquerda) de ratas.

CTR= Controle; I = Imobilizado; TA = Terapia aquática; ITA = Imobilizado/Terapia aquática. * p<0,05 versus CTR; ‡ p<0,05 versus TA. £ p<0,05 versus ITA.

(Fig. 2A) trofismo muscular do gastrocnêmio branco [D]: CTR (0,004388± 0,0002213), TA (0,00378±0,000173), I (0,00237±0,000337), ITA (0,00397±0,000195), $p < 0,0001$.

(Fig. 2B) trofismo muscular do gastrocnêmio branco [E]: CTR (0,00362±0,000460), TA (0,00376±0,000360), I (0,00324±0,000241), ITA (0,00419±0,000276), $p 0,1149$.

(Fig. 2C) trofismo muscular do gastrocnêmio vermelho [D]: CTR (0,00411±0,000164), TA (0,00542±0,00130), I (0,00395±0,000229), ITA (0,00389±0,000180), $p 0,7222$.

(Fig. 2D) trofismo muscular do gastrocnêmio vermelho [E]: CTR (0,00399±0,000124), TA (0,00408±0,000340), I (0,00439±0,000226), ITA (0,00409±0,000148), $p 0,5440$.

A terapia aquática vem demonstrando que é um recurso positivo para reduzir os efeitos deletérios da atrofia muscular, sendo a atividade física capaz de recuperar as propriedades musculares danificadas. Alguns estudos demonstraram, que o exercício físico realizado em meio aquático restaura a capacidade morfofuncional da estrutura imobilizada (GOMES *et al.*, 2016; KOIKE *et al.*, 2018), condizendo com os achados do presente estudo (Fig. 1A e 1B) e (Fig. 2A).

Concernente à mensuração óssea (Tab. 2) de áreas específicas da tibia e do fêmur respectivamente. Dentre essas modificações observou-se que a terapia aquática aumentou áreas epifisárias, diáfise e comprimento ósseo do membro posterior imobilizado dos animais submetidos ao processo de imobilização.

Tabela 2: Medidas métricas das estruturas tibiais e femurais dos membros traseiros de ratas.

	CTR	I	TA	ITA
TIBIA DIREITA				
Epífase Distal	4,84±0,09	5,36±0,18*	5,11±0,08	5,362±0,11*
Epífase Proximal	6,53±0,04	6,55±0,14	6,32±0,08	6,76±0,09 [‡]
Diáfise	2,58±0,08	2,91±0,11	2,55±0,05	3,21±0,07 ^{*‡}
Comprimento	35,78±0,28	35,07±0,60	33,74±0,33*	35,57±0,19 [‡]
TIBIA ESQUERDA				
Epífase Distal	5,08±0,11	5,15±0,14	5,27±0,16	5,21±0,09
Epífase Proximal	6,86±0,06	6,62±0,07	6,66±0,05	6,73±0,08
Diáfise	2,98±0,09	2,94±0,12	2,65±0,07	3,263±0,07 [‡]
Comprimento	35,81±0,30	35,11±0,58	34,24±0,29*	35,62±0,17
FEMUR DIREITO				
Epífase Distal	6,11±0,04	6,11±0,07	5,96±0,03	6,16±0,06
Epífase Proximal	6,92±0,08	6,93±0,11	6,79±0,10	6,96±0,03
Diáfise	3,55±0,04	3,79±0,07	3,55±0,09	3,86±0,09
Comprimento	31,02±0,27	29,83±0,52	28,84±0,30*	30,59±0,33 [‡]
FEMUR ESQUERDO				
Epífase Distal	6,44±0,09	6,35±0,07	6,06±0,06*	6,31±0,05
Epífase Proximal	7,12±0,07	7,01±0,090	6,92±0,06	7,07±0,06
Diáfise	3,74±0,10	3,88±0,11	3,60±0,05	3,67±0,12
Comprimento	31,67±0,53	30,70±0,55	29,34±0,36*	31,56±0,69

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

Segundo Potinho *et al.* (2008), as propriedades ósseas podem modificar-se conforme o tempo de imobilização, remobilização e metodologia aplicada, bem como a espécie em estudo. O osso é um tecido adaptativo formado a partir do estímulo mecânico e demandas metabólicas. O estímulo mecânico modula a resposta óssea local, assim proporcionando crescimento e remodelamento (VASCONCELOS e SANTOS JÚNIOR, 2010).

A literatura enfatiza, que o exercício físico no meio aquático é capaz de aumentar a formação óssea e diminuir a sua reabsorção, sendo de grande importância para a manutenção e remodelação óssea normal, corroborando com os achados deste estudo (GOMES *et al.*, 2016).

No que tange a análise da densidade mineral (Tab. 3) de áreas específicas da tibia e do fêmur concomitantemente. Constatou-se que a imobilização reduziu a densidade mineral de áreas epifisárias, diáfise e comprimento ósseo do membro posterior imobilizado, inclusive comprometendo o membro contralateral dos animais, corroborando com achados da literatura (FALCAI *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2016). Entretanto, observou-se que a terapia aquática foi capaz de sanar os efeitos adversos do processo de desuso ósseo.

Tabela 3: Densidade mineral da tibia e do fêmur do membro traseiro direito de ratas.

	CTR	I	TA	ITA
TIBIA				
Epífase Distal	74,90±1,42	42,69±1,20*	53,15±1,94* [£]	66,58±0,79* ^{£¥}
Epífase Proximal	76,79±1,68	60,04±3,93*	62,64±2,03*	87,48±1,62* ^{£¥}
Diáfise	80,90±1,04	57,71±3,39*	63,62±1,05*	84,93±1,48* ^{£¥}
Comprimento	69,37±0,907	50,74±2,83*	55,58±0,916*	74,85±0,769* ^{£¥}
FEMUR				
Epífase Distal	87,43±2,02	67,26±2,83*	71,47±1,12*	83,32±1,59* ^{£¥}
Epífase Proximal	92,47±1,65	70,45±3,97*	69,73±1,89*	84,12±0,79
Diáfise	93,99±2,55	82,07±5,01	79,83±3,10*	96,15±1,66* ^{£¥}
Comprimento	90,62±1,92	60,46±3,28*	58,86±1,40*	72,15±1,1* ^{£¥}

Valores expressos como média±erro padrão da média. CTR= Controle; I = Imobilizado; TA = Terapia aquática; ITA = Imobilizado/Terapia aquática. *p<0,05 x CTR; £ p<0,05 x I; ¥ p<0,05 x TA.

Gomes *et al.* (2016) realizaram um protocolo de exercício de três semanas com carga de 5% e verificou que a terapia aquática aumentou a densidade mineral dos animais imobilizados. Falcai *et al.* (2015) relataram que a natação aumentou significativamente a massa óssea em 43%, a força óssea em 29%, aumentou em 58% a espessura trabecular e 85% do volume do osso, concluindo que os exercícios realizados em meio aquático não apenas melhoram os efeitos deletérios da imobilização, mas contribuem para a manutenção da qualidade óssea, condizente aos resultados encontrados no presente estudo.

Mottini *et al.*, (2008), afirmam que a magnitude do estímulo imposto ao tecido ósseo é mais importante que a frequência do mesmo. Além disso, 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. É provável que a intensidade mecânica promovida pelo protocolo de exercício aquático realizado nesse estudo, tenha induzido a

uma nova adaptação óssea, restaurando as propriedades ósseas no membro imobilizado verificada na (Tab. 2) e na (Tab. 3).

CONCLUSÃO

A imobilização por duas semanas é capaz de reduzir o trofismo muscular e a força relativa, além de causar alterações estruturais e densidade mineral óssea. No entanto, observou-se que o tratamento com terapia aquática foi capaz de reverter os efeitos adversos nas estruturas musculares e ósseas, sendo um grande aliado na redução dos efeitos negativos da imobilização.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, D.R.; BERTONCELLO, D.; CARVALHO, L.C. Avaliação das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas imobilizado e submetido à corrente russa. *Fisioterapia e Pesquisa*, v.16, n.1, p.59-64, 2009.
- BODINE, S.C. Desuso induzido pelo desgaste muscular. *O jornal internacional de bioquímica e biologia celular*, v.45, n.10, p.2200-2208, 2013.
- CARVALHO, M.M.; MARTINS, W.R.; BLACKZICK, J.C.; CRUZ JÚNIOR, C.A.; SOUZA, H.A.; KÜCKELHAUS, S.A.S.; MOTA, M.R. Análise morfométrica dos efeitos da imobilização sobre o músculo gastrocnêmio de ratos. *Universitas: Ciências da Saúde*, v.11, n.2, p.99-106, 2013.
- DURIGAN, J.L.Q.; CANCELLIERO, K.M.; DIAS, C.N.K.; SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J.; POLACOW, M.L.O. Efeitos da imobilização articular aguda nos músculos do membro posterior de ratos: análise metabólica e morfométrica, *Fisioterapia e Pesquisa*, v.13, n.2, p.38-45, 2006.
- FALCAI, M.J.; ZAMARIOLI, A.; LEONI, G.B.; SOUSA NETO, M.D.D.; VOLPON, J.B. Swimming activity prevents the unloading induced loss of bone mass, architecture, and strength in rats. *Biomed Research International*, 2015.
- GOMES, N.M.A.; SOUZA, K.C.L.; RABELO, M.; FORTES, J.P.A.; BARBOSA, L.S.; CRAVEIRO, R.M.C.B.; VASCONCELOS FILHO, F.S.L.; SANTOS JÚNIOR, F.F.U.; CECCATTO, V.M. Aquatic therapy in bone mineral density in rats after paw disuse by Immobilization. *International Journal of Therapies & Rehabilitation Research*, v.5, n.5, p.161-169, 2016.
- KOIKE, T.E.; WATANABE, A.Y.; KODAMA, F.Y.; OZAKI, G.A.T.; CASTOLDI, R.C.; GARCIA, T.A.; CARMARGO, R.C.T.; CAMARGO FILHO, J.C.S. Physical exercise after immobilization of skeletal muscle of adult and aged rats. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.24, n.1, p.60-63, 2018.
- KUNZ, R.I.; CORADINI, J.G.; SILVA, L.I.; BERTOLINI, G.R.F.; BRANCALHÃO, R.M.C.; RIBEIRO, L.F.C. Effects of immobilization and remobilization on the ankle joint

in Wistar rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.47, n.10, p.842-849, 2014.

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

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

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.

OZAKI, G.A.T.; KOIKE, T.E.; CASTOLDI, R.C.; GARÇON, A.A.B.; KODAMA, F. Y.; WATANABE, A.Y.; JOB, A.E.; LOUZADA, M.J.Q.; CAMARGO, R.C.T.; CAMARGO FILHO, J.C.S. Efeitos da remobilização por meio de exercício físico sobre a densidade óssea de ratos adultos e idosos. *Motricidade*, v.10, n.3, p.71-78, 2014.

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

PONTINHO, D.; BOIN, V.G.; BERTOLINI, G.R.F. Efeitos sobre o tecido ósseo e cartilagem articular provocado pela imobilização e remobilização em ratos Wistar. *Revista Brasileira Medicina do Esporte*, v.14, n.5, p.408-411, 2008.

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

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

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

SHIAFFINO, S. Fibre types in skeletal muscle: a personal account. *Acta Physiologia*, v.199, n.4, p.451-463, 2010.

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.