



16° Congresso de Iniciação Científica

PERFIL QUIMIOMETABÓLICO DE MÚSCULOS ESQUELÉTICOS DE RATOS SUBMETIDOS A DIFERENTES MODELOS DE IMOBILIZAÇÃO ARTICULAR

Autor(es)

EDER JOAO DE ARRUDA

Co-Autor(es)

DANIEL DE OLIVEIRA GRASSI
RINALDO ROBERTO DE JESUS GUIRRO

Orientador(es)

CARLOS ALBERTO DA SILVA

1. Introdução

Situações de desuso muscular, como a imobilização decorrente de lesões, comprometem a homeostasia muscular e geram alterações metabólicas que culminam com a hipotrofia. Dessa maneira, a hipotrofia muscular tem-se configurado como objeto de estudo de várias áreas do saber, em especial à fisioterapia (SILVA et al., 2006).

No âmbito experimental, inúmeros estudos foram direcionados a aprimorar o conhecimento dos eventos deflagrados pelo desuso, fundamentado em diferentes técnicas como a desnervação, tenotomia, fixação da articulação por meio de pinos e bloqueio químico da junção neuromuscular, suspensão do corpo, órtese de tecido de algodão, talas de gesso e mais atualmente a órtese de resina acrílica (Ono et al., 2007; Coutinho et al. 2002; Tanaka et al. 2004; Silva et al., 2006). O período de aplicação dos métodos citados varia na literatura, porém um trabalho realizado por Lima et al. (2007), mostrou que o período de sete dias de imobilização é suficiente para promover o estado de hipotrofia e induzir importantes adaptações dos sarcômeros, bem como alterações quimio-metabólicas na musculatura estriada de ratos.

Nesse contexto, em 2006 Silva et. al. publicaram um modelo não invasivo de órtese de resina acrílica, que proporciona uma imobilização na articulação do tornozelo em angulação de 90°, permitido deambulação com descarga de peso no membro imobilizado, uma vez que o modelo deixa livre parte da pata do animal, além de permitir mobilidade das articulações do joelho e quadril.

Dessa maneira, Cancelliero (2004) investigou a hipotrofia nos músculos sóleo, gastrocnêmio branco e gastrocnêmio misto, em três diferentes períodos (3, 7 e 15 dias) de imobilização do membro posterior de ratos, utilizando órtese de resina acrílica que mantém a posição de 90° da articulação do tornozelo e dessa forma verificou que as maiores alterações metabólicas se encontram nos períodos de sete e 15 dias, sendo que a redução do peso muscular foi mais severa no sétimo dia de imobilização, onde as reservas de glicogênio estavam depletadas, acompanhadas por redução significativa do peso muscular, principalmente

no músculo sóleo. Nesta linha de análise, Silva e Cancelliero (2006), estudaram os efeitos da suplementação com creatina, no período de sete dias de imobilização, onde foi utilizado o mesmo modelo de órtese que permite descarga de peso no membro imobilizado. Os resultados desse estudo mostraram que a imobilização promoveu redução considerável, tanto nas reservas glicogênicas, quanto no peso muscular, porém a imobilização associada à suplementação com creatina elevou o peso muscular e as concentrações glicogênicas.

Delfino et. al. (2006), avaliou durante sete dias os efeitos desse modelo de imobilização sobre as reservas glicogênicas e peso muscular, e observou redução significativa do conteúdo de glicogênio muscular, bem como redução do peso dos músculos analisados.

No presente estudo, é feita uma análise comparativa dos efeitos quimio-metabólicos deflagrados na musculatura esquelética após sete dias de imobilização por um novo modelo de órtese, também constituído de resina acrílica, porém, não permite a descarga de peso no membro imobilizado, uma vez que possui um prolongamento que reveste todo antepé e artelhos.

2. Objetivos

O estudo objetivou avaliar o teor glicogênico dos músculos sóleo, gastrocnêmio branco e misto de ratos que foram submetidos a dois modelos diferentes de imobilização do membro posterior por sete dias na angulação de 90° da articulação do tornozelo. Deste modo, foi aferido as alterações energéticas e morfológicas dos músculos estudados.

3. Desenvolvimento

Foram utilizados 18 ratos machos albinos Wistar com três meses de idade, massa corpórea média de 290±20g, alimentados com ração (Purina para roedores) e água *ad libitum*, submetidos a ciclos foto periódicos de 12h claro/escuro e distribuídos em três grupos experimentais com n=seis, a saber: controle (C), imobilizado semifuncional (ISF) durante sete dias com a extremidade distal da pata livre e imobilizado não funcional (INF) durante sete dias com a extremidade distal da pata envolvida. Os animais foram tratados de acordo com o Guide for Care and Use of Laboratory Animals, sendo que o trabalho teve aprovação do comitê de ética em experimentação animal da UFSCar, protocolo 015/2006.

Como anestésico foi utilizado pentobarbital sódico (50mg/kg,i.p) em ambos os grupos imobilizados, para que a pata posterior esquerda fosse imobilizada com os modelos de órteses de resina acrílica.

Após a fase de imobilização os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e os músculos sóleo, gastrocnêmio porção branca e gastrocnêmio misto foram extraídos para que amostras fossem encaminhadas para análise do conteúdo glicogênico de acordo com o método proposto por Siu et al., (1970). Os valores estão representados pelas médias ± erro padrão da média (média±epm), as concentrações de glicogênio estão expressas em mg/100mg e o peso em mg. A avaliação estatística foi realizada pelo teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e os dados que apresentaram distribuição normal, foram submetidos a ANOVA e teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

4. Resultado e Discussão

Os resultados desse estudo mostram que os dois modelos de órtese geraram comprometimento da homeostasia metabólica muscular, de forma que as concentrações de glicogênio no grupo ISF foram reduzidas 7% no músculo sóleo, 32% no gastrocnêmio branco e 26% no gastrocnêmio misto; quanto ao peso muscular do sóleo a redução foi de 26%.

As alterações funcionais e metabólicas decorrentes da imobilização tem fundamento nas modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas que acompanham a imobilização (ZARZHEVSKY et al., 1999). Neste sentido, sabe-se que o metabolismo muscular está diretamente relacionado à disponibilidade de substratos metabólicos cuja mobilização é regulada pela ação neuroendócrina. Dentre os hormônios com funções metabólicas destaca-se a insulina, visto ser ativador de inúmeras vias sinalizadoras regulando diversos eventos ligados ao metabolismo celular e mitogênese (PLOUG et al., 1995). Neste sentido, a sensibilidade tecidual a insulina fica reduzida na imobilização reduzindo a eficiência da cascata sinalizadora.

Ao ser avaliado o conteúdo muscular de glicogênio dos músculos imobilizados durante sete dias, verificamos uma significativa redução nas reservas demonstrando relações funcionais entre a contração muscular e o aporte e metabolismo de glicose. Estes resultados corroboram com estudos que identificaram depressão nas vias sinalizadoras da insulina induzida pela imobilização (APPELL, 1990) Cabe ressaltar que, além das alterações metabólicas também houve redução no peso, indicativo da redução no número e/ou tamanho das fibras, expressão impar indicativo de balanço protéico negativo (SILVA et al., 2006).

Ao avaliar as reservas glicogênicas do grupo INF, observou-se perda ainda maior, havendo redução de 13% no músculo sóleo, 41% no gastrocnêmio branco e 38% no gastrocnêmio misto; no que se refere ao peso muscular do sóleo, a perda foi de 36%.

É sabido que a hipotrofia muscular induzida pela imobilização é precedida pela redução nas reservas de glicogênio, decréscimo do número de sarcômeros em série e em paralelo, redução da força e perda de resistência à fadiga (Reardon et. al. 2001). Frente ao processo de hipotrofia, ocorre um aumento do comprimento dos sarcômeros em série e a concomitante diminuição do número dos mesmos. Essa adaptação ocorre para que haja uma reorganização dos componentes contráteis no intuito de adequar o tecido ao novo posicionamento, o que conseqüentemente implica em encurtamento do músculo e diminuição da ação muscular devido à sobreposição inadequada do complexo actomiosina, assim resultando em pouco desenvolvimento de tensão durante as contrações (WILLIAM e GOLDSPINK, 1973).

De acordo com Halar e Kathleen (2002), os efeitos deletérios causados no sistema músculoesquelético frente à imobilização articular vão além dos danos musculares e se estendem a outras estruturas do sistema. Sendo assim, ocorrem reações inibitórias sobre a produção de sinóvia no meio intra-articular, fato que conseqüentemente resulta em déficit na nutrição articular, perda da amplitude de movimento, redução da elasticidade muscular, redução da atividade da enzima creatina quinase, redução das reservas glicogênicas e até contratura muscular devido à proliferação do tecido conjuntivo.

Neste sentido, os resultados do presente estudo acompanham dados de pesquisas recentes onde diferentes métodos são utilizados para induzir o desuso muscular, tais como: os efeitos da ausência de gravidade ou

ambientes de microgravidade, apresentaram alteração metabólica (FERREIRA et al, 2004). Outro estudo utilizou imobilização por meio de fixação externa na articulação do tornozelo e também evidenciou redução expressiva no peso da musculatura envolvida, inclusive no músculo sóleo que perdeu 46% do seu peso e sofreu redução expressiva das reservas energéticas (ZARZHEVSKY et al. 1999).

No atual estudo, tanto a INF quanto a ISF foram eficazes em garantir imobilização durante o tempo propostas, e ambas induziram catabolismo muscular descritos pela síndrome do desuso, porém pode-se evidenciar que no grupo INF, a incapacidade que os animais tiveram em apoiar seu peso corporal no membro imobilizado garantiu uma inatividade muscular a custo de um rearranjo postural durante suas atividades locomotoras.

5. Considerações Finais

Quanto mais efetiva for a imobilização, maior será a depleção de substratos energéticos, pois a diminuição na ativação das fibras musculares devido a imobilização do segmento, contribuiu para que a degeneração protéica e químico-metabólica ocorressem de forma progressiva, o que explica a maior queda no peso muscular e nas reservas glicogênicas no grupo imobilizado não-funcional, fato este merecedor de estudos mais aprofundados.

Referências Bibliográficas

APPELL, H.J. Muscular atrophy following immobilization: a review. **Sports Med.** v.10, p. 42-58, 1990.

CANCELLIERO, K.M. Estimulação elétrica associada ao clenbuterol melhora o perfil metabólico muscular de membro imobilizado de ratos [**dissertação**]. Universidade Metodista de Piracicaba, 2004.

COUTINHO, E.L.; GOMES, A.R.; FRANÇA, C.N.; SALVINI, T.F. A new model for the immobilization of the rat hind limb. **Braz J Med Biol Res**, v.35, n.23, p.1329-1332, 2002.

DELFINO, G.B; DURIGAN, J.L.Q.; CANCELLIERO, K.M.; SILVA, C.A. Efeito do sulfato de vanadil sobre o comprometimento metabólico muscular induzido pela imobilização de membro posterior de ratos. **Rev Bras Med Esporte**, v.12, n.6, p.356-360, 2006.

FERREIRA, R.; NEUPARTH, M.J.; ASCENSÃO, A.; MAGALHÃES, J.; DUARTE, J.; AMADO, F. Atrofia muscular esquelética. Modelos experimentais, manifestações teciduais e fisiopatologia. **Rev Portu Cien Desp**, v.4, n.3, p.94-111, 2004.

HALAR, E.M.; KATHLEEN, R.B. Imobilidade. In: De Lisa JA et al. **Tratado de Medicina e Reabilitação: Princípios e práticas**, vol. 2, 2º ed. São Paulo: Manole, 1067-1087, 2002.

LIMA, S.C.; CAIERÃO, Q.M.; DURIGAN, J.L.Q.; SCHWARZENBECK, A.; SILVA, C.A.; MINAMOTO, V.B.; GUIRRO, R.R.J. Curto período de imobilização provoca alterações morfométricas e mecânicas no músculo de rato. **Rev Bras Fisioter**, v.11, n.4, p.297-302, 2007.

ONO, T.; MAEKAWA, K.; WATANABE, S.; OKA, H.; KUBOKI, T. Muscle contraction accelerates IL-6 mRNA expression in the rat masseter muscle. **Arch Oral Biol**, p.479-486, 2007.

PLOUG, T.; OHKUWA, T.; HANDBERG, A.; VISSING, J.; GALBO, H. Effect of immobilization on glucose transport and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. **Am J Physiol**, v.268, n.32, p.980- 986, 1995.

REARDON, K.A.; DAVIS, J.; KAPSA, R.M.; CHOONG, P.; BYRNE, E. Myostatin, insulin-like growth factor-1, and leukemia inhibitory factor are upregulated in chronic human disuse muscle atrophy. **Muscle & Nerve**, v.24, n.7, p.893-899, 2001.

SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J.; POLACOW, M.L.O.; DURIGAN, J.L.Q. Proposal for rat hindlimb joint immobilization: orthosis with acrylic resin model. **Braz J Med Biol Res** v.39, n.18, p.979-985, 2006.

SIU LO, RUSSEAU JC, TAYLOR AW. Determination of glycogen in small tissue samples. **J Appl Physiol**. v. 28 n. 2 p. 234-236, 1970.

SILVA, C.A.; CANCELLIERO, K.M. Efeito da suplementação oral com creatina no músculo esquelético de membro imobilizado de ratos. **Revista brasileira de nutrição clínica**, v. 21, n. 1, p 17-22, 2006.

TANAKA, T.; KARIYA, Y.; HOSHINO, Y. Histochemical study on the changes in muscle fibers in relation to the effects of aging on recovery from muscular atrophy caused by disuse in rats. **J Orthop Sci** v.9, n.12, p.76-85, 2004.

WILLIAM, P.E.; GOLDSPINK, G. The effect of immobilization on the longitudinal growth of striated muscle fibres. **J Anat**, v.116, n.40, p.45-55, 1973.

ZARZHEVSKY, N.; COLEMAN, R.; VOLPIN, G.; FUCHS, D.; STEIN, H.; REZNICK, A.Z. Muscle recovery after immobilisation by external fixation. **J Bone Joint Surg [Br]** v.81-B, n. 18, p.896-901, 1999.