



5º Congresso de Pós-Graduação

IMOBILIZAÇÃO ARTICULAR AGUDA, INDUZ ADAPTAÇÕES METABÓLICAS DIFERENCIADAS NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO

Autor(es)

LUCIANO JULIO CHINGUI

Co-Autor(es)

MARIA THERESA MUNHOZ SEVERI
CARLOS ALBERTO DA SILVA

Orientador(es)

CARLOS ALBERTO DA SILVA

1. Introdução

Já está muito bem documentado o fato de que situações de desuso promovem significativas alterações na homeostasia muscular, culminando com severas alterações morfológicas, entre as quais se pode destacar a hipotrofia (REARDON et al, 2001). Nesse contexto CASTRO et al, (1999) ponderaram que a hipotrofia muscular é um processo cujos efeitos quimiometabólicos se manifestam de forma específica para cada tipo de músculo. Esse achado foi ratificado por outros pesquisadores entre os quais se destacam CAIOZZO et al. 1996, que postularam que músculos cuja ação é antigravitacional possuem maior grau de hipotrofia em situações de desuso, TALMADGE, (2002), que observou que as fibras do tipo I têm menor adaptação em relação às fibras do tipo II, sendo conseqüentemente mais afetadas pelo desuso, por KASPER (2002) que observou maior susceptibilidade à hipotrofia em fibras lentas oxidativas e por TANAKA, KARIYA e HOSHINO (2004), que observaram que o músculo sóleo sofre maior comprometimento em situações de desuso por ser predominantemente formado por fibras do tipo I, em detrimento do extensor longo dos dedos predominantemente formado por fibras do tipo II. Ainda nesse contexto um recente trabalho avaliou em ratos o efeito de 4 semanas de imobilização por suspensão pela cauda, sendo observado que houve implantação de hipotrofia muscular caracterizada por redução na concentração de proteínas musculares e redução da resistência à fadiga, além de diminuição das isoformas de cadeia pesada de miosina dos tipos I e IIa, e aumento do tipo IIb e IIx. Esse estudo mostrou também que essas alterações foram significativamente maiores no músculo sóleo, em relação ao músculo extensor longo dos dedos (YU et al, 2007). Estudos recente têm se dedicado na busca da compreensão das alterações metabólicas presentes na imobilização. Nesse sentido, a suspensão de membros posteriores de ratos, concomitante à hipotrofia muscular provocou resistência à insulina, redução na expressão gênica de proteínas musculares, degradação da proteína

IRS-1, além de redução na atividade da via Akt, fatos que evidenciam redução da efetividade das vias de sinalização insulínica (HILDER et al. 2003). Vale salientar que não há na literatura estudos direcionados à compreensão dos mecanismos fisiológicos deflagrados nos primeiros três dias de imobilização, sendo esse considerado o período agudo do desuso, bem como estudos direcionados à compreensão do comportamento das porções branca e vermelha do músculo gastrocnêmio frente à imobilização. A musculatura esquelética constitui-se como um dos principais tecidos alvos da terapia fisioterápica uma vez que está envolvida com diversas afecções, em especial as ortopédicas. No âmbito da ortopedia, tem-se a imobilização como recurso terapêutico eficiente e amplamente utilizado, porém, concomitante ao processo de imobilização ocorrem diversos efeitos indesejados como o comprometimento da homeostasia.

2. Objetivos

Diante desse contexto o objetivo desse trabalho foi avaliar o perfil metabólico do músculo gastrocnêmio, na fase aguda da imobilização do tornozelo de ratos na posição de 90º, dando ênfase ao período que se estende do primeiro ao terceiro dia de desuso.

3. Desenvolvimento

Animais Foram utilizados 24 ratos albinos Wistar com idade entre 2 e 3 meses, alimentados com ração (Purina para roedores) e água ad libitum, submetidos a ciclos fotoperiódicos de 12h claro/escuro e distribuídos em 4 grupos experimentais (n=6): controle (C), imobilizado 1 dia (I1), 2 dias (I2), 3 dias (I3). Esse trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal da UFSCar, protocolo 015/2006. **Imobilização** A imobilização foi feita de acordo com o método proposto por SILVA et. al. 2006. Para tanto, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50mg/kg), e a pata posterior esquerda imobilizada com órtese de resina acrílica, a qual manteve a articulação do tornozelo em 90º, deixando as articulações do joelho e quadril livres, e permitindo descarga de peso. **Amostragem** Após o sacrifício dos animais foram retiradas as porções branca (GB) e vermelha (GV) do músculo gastrocnêmio e encaminhadas para a determinação do conteúdo de glicogênio. **Determinação do Glicogênio Muscular** Essa análise foi feita segundo a proposta de SIU LO et al., (1970). O método consiste na digestão das amostras musculares em KOH a 30% a quente e a precipitação do glicogênio a partir da passagem por etanol a quente. Entre uma fase e outra da precipitação, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 15 minutos, o glicogênio precipitado foi submetido à hidrólise ácida na presença de fenol. Os valores estão expressos em mg/100mg de peso úmido. **Análise estatística** A avaliação estatística foi realizada pela análise de variância seguida do teste de Tukey sendo fixado o nível crítico de 5% ($p < 0,05$).

4. Resultados

É relevante evidenciar que esse trabalho avaliou as concentrações de glicogênio, pelo fato de se tratar de uma reserva marcadora tanto das condições energéticas quanto da condição de performance muscular (Sesti, 2006). Dessa maneira, foi observado que as reservas glicogênicas das fibras brancas oscilaram de forma diferente em relação à porção vermelha, uma vez que, nas primeiras 24 horas houve aumento estatisticamente significativo de 89% (média±epm, C: $0,37 \pm 0,07$ e I1: $0,70 \pm 0,19$, $p < 0,05$), ao passo que no segundo e terceiro dia, as reservas foram reduzidas em 8% (média±epm, C: $0,37 \pm 0,07$ e I2: $0,34 \pm 0,07$, $p > 0,05$). A porção vermelha do gastrocnêmio, músculo de tipagem mista, se comportou nas primeiras 48 horas de forma similar à porção branca, porém com proporções distintas, no primeiro dia (média±epm, C: $0,49 \pm 0,08$ e I1: $0,66 \pm 0,05$, $p > 0,05$) e no segundo dia (média±epm, C: $0,49 \pm 0,08$ e I2: $0,39 \pm 0,10$, $p > 0,05$). Contudo, no terceiro dia houve redução significativa das reservas de glicogênio, equivalente a 59% (média±epm, C: $0,49 \pm 0,08$ e I3: $0,20 \pm 0,07$, $p < 0,05$). No músculo gastrocnêmio porção branca, formado por 92% de fibras tipo IIB, foi observado elevação nas reservas de glicogênio logo nas primeiras 24h de imobilização, esse fenômeno pode ser elucidado pelo fato desse músculo ter a glicose como fonte preferencial de geração, nesse sentido, é sugestiva a hipótese de que o aumento no conteúdo pode ser reflexo de uma reação fisiológica do tipo overshoot gerado por uma expressiva elevação na captação de

glicose, no intuito de implantar um novo status metabólico que permita reagir frente à condição de desuso gerando a partir daí uma maior disponibilidade de energia para as fibras. Recentemente Durigan (2005), sugeriu que o gastrocnêmio porção branca é o músculo significativamente mais afetado pelo processo de imobilização com a órtese de metacrilato de etila, no entanto, o estudo avaliou parâmetros histo-quimiometabólicos após 7 dias de imobilização diferenciando desta proposta cuja ênfase está direcionada à avaliação da fase aguda do desuso.

5. Considerações Finais

Diante dos resultados observados é possível concluir que: A imobilização induziu alterações metabólicas peculiares e específicas para a porção vermelha e branca do músculo gastrocnêmio; As alterações metabólicas geradas pela imobilização iniciam-se na fase precoce do desuso; A hipotrofia muscular é um fenômeno que tem sua gênese nos primeiros três dias de imobilização.

Referências Bibliográficas

- CAIOZZO, V.J.; HADDAD, F.; BAKER, M.J.; HENRRICK, R.E.; PRITTO N.; BALDWIN, KM. Microgravity-induced transformations of myosin isoforms and contractile properties of skeletal muscle. **J Appl Physiol.** v.81, n.1, p.123-32, 1996.
- CASTRO, M.J.; APPLE, D.F.; STARON, R.S.; CAMPOS, G.E.; DUDLEY, G.A. Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle within 6 mo of injury. **J Appl Physiol.** v.86, p.350-58, 1999;
- DURIGAN, J.L.Q. Estudo morfométrico do músculo sóleo de ratos submetidos à imobilização associado à estimulação elétrica neuromuscular. Tese mestrado, Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia – UNIMEP, novembro, 2006.
- HILDER, T.L.; TOU, J.C.; GRINDELAND, R.E.; WADE, C.E.; GRAVES, L.M. Phosphorylation of insulin receptor substrate-1 serine 307 correlates with JNK activity in atrophic skeletal muscle. **FEBS Lett.** v.553, p.63–67, 2003.
- KASPER, C.E.; TALBOT, L.A.; GAINES, J.M.; Skeletal muscle damage and recovery. **AACN Clin Issues.** v.13, n.2, p.237-47, 2002.

- REARDON, K.A.; FRACP, B.S.; DAVIS, J.; KAPSA, R.M.I.; CHOONG, P.; FRACS, M.D. et al. Myostatin, insulin-like growth factor-1, and leukemia inhibitory factor are upregulated in chronic human disuse muscle atrophy. **Muscle e Nerve**. v.24, p.893-99, 2001.
- SESTI, G. Pathophysiology of insulin resistance. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**. v.20, n.4, p.665-79, 2006.
- SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J.; POLACOW, M.L.O.; CANCELLIERO, K.M.; DURIGAN, J.L.Q. Proposal for rat hindlimb joint immobilization: orthosis with acrylic resin model. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.39, p.979-85, 2006
- SIU, L.O.; RUSSEAU, J.C.; TAYLOR, A.W. Determination of glycogen in small tissue samples. **J Appl Physiol**. v.28, n.2, 234-36, 1970.
- TALMADGE, R.J. Mechanical properties of rat soleus after long-term spinal cord transection. **J Appl Physiol**. v.93, n.4, p.1487-97, 2002.
- 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, p.76-85, 2004.
- Yu, B.Z.; GAO, F.; FENG, H.Z. et al. Differential regulation of myofilament protein isoforms underlying the contractility changes in skeletal muscle unloading. **Am J Physiol Cell Physiol**. v.292, p.1192–1203, 2007.