



## 5º Congresso de Pós-Graduação

### **EFEITOS DO ALONGAMENTO ASSOCIADO A RECURSOS TÉRMICOS NAS ADAPTAÇÕES MORFOMÉTRICAS E DO SARCÔMERO EM MÚSCULO SÓLEO ENCURTADO DE RATOS**

#### **Autor(es)**

FABIO AUGUSTO FACIO

#### **Co-Autor(es)**

VIVIANE BALISARDO MINAMOTO

#### **Orientador(es)**

VIVIANE BALISARDO MINAMOTO

#### **1. Introdução**

O músculo esquelético possui extraordinária habilidade de reestruturar-se metabólica e estruturalmente, adaptando-se a diferentes estímulos aplicados a ele (Lieber, 2002). A imobilização de um músculo na posição encurtada levará a diminuição da síntese protéica, do número de sarcômeros em série, atrofia da fibra muscular e proliferação do tecido conjuntivo, levando a redução da amplitude de movimento articular (Williams e Goldspink, 1978; Ansved, 1995). Muitos estudos mostram a importância do alongamento como fator determinante para prevenir e/ou reverter as alterações causadas pelo encurtamento muscular (Williams, 1990; Gomes et al., 2004). O alongamento é capaz de promover aumento na extensibilidade muscular, tendo ação nas fibras musculares e tecido conjuntivo que as envolvem (De Deyne, 2001). O calor tem sido bem aceito como recurso para aumentar a amplitude de movimento devido a sua função fisiológica de aumento da extensibilidade do colágeno e do fluxo sanguíneo, diminuição da percepção de dor e dos espasmos musculares (Halvorson, 1990; Prentice, 2002). Outras pesquisas mostram que o frio também é efetivo no aumento da mobilidade articular, sendo este causado pela diminuição da dor e do espasmo muscular (Chambers, 1969; Olson e Stravino, 1972). Deste modo, a associação de frio e calor com técnicas de alongamento é tema de vários estudos (Minton, 1993; Taylor, Waring e Brashear, 1995), entretanto os resultados encontrados são adversos. Além disso, estes estudos utilizam a goniometria para avaliação, sendo esta uma medida subjetiva da condição muscular, não sendo encontrados na literatura os efeitos da associação do alongamento com recursos térmicos na morfometria do músculo esquelético e adaptações do sarcômero. Com base no exposto, torna-se importante avaliar as adaptações musculares após aplicação de alongamento associado a recursos térmicos em músculo encurtado.

## 2. Objetivos

---

Verificar possíveis efeitos do alongamento nas adaptações de músculo previamente submetido a encurtamento. Além disso, objetivou-se também verificar se a associação de recursos físicos, frio e termoterapia, à técnica de alongamento provoca diferentes adaptações musculares.

## 3. Desenvolvimento

---

Foram utilizados 37 ratos machos

a) Controle (C;n=7) b) Imobilizado (I; n=8) c) imobilizado + alongamento (IA; n=8) d) imobilizado + gelo + alongamento (G;n=7) e) imobilizado + infra-vermelho + alongamento (IV; n=7) Para os procedimentos de imobilização, alongamento e retirada dos músculos os animais foram anestesiados com Ketalar® (50mg/mL) e Rompun® (2g/100mL), na proporção de 1:1, na dose de 0.1mL/100g, via intramuscular. Após o procedimento experimental os animais foram sacrificados por meio de deslocamento cervical. No início do experimento o grupo IV consistia de 7 animais, contudo 2 animais morreram devido a sobredose de anestesia. Imobilização Para o procedimento de imobilização foi utilizado modelo proposto por Coutinho e colaboradores (2002), onde o tornozelo esquerdo foi imobilizado por um período de 21 dias em flexão plantar máxima, garantindo a manutenção da posição de encurtamento do músculo sóleo. Procedimento de Alongamento Os animais foram submetidos ao procedimento de alongamento passivo, que foi realizado diariamente a partir do 15º dia de imobilização, por 7 dias. Para o procedimento de alongamento os animais anestesiados tiveram o dispositivo de imobilização retirado e a pata posterior esquerda foi mantida em dorsiflexão máxima do tornozelo durante 40 minutos. O alongamento foi mantido manualmente pelo pesquisador, sendo o dispositivo de imobilização recolocado ao final de cada sessão de alongamento. Alongamento Associado à Aplicação de Frio e Calor O resfriamento, produzido por meio de gelo moído (40g) acondicionado em saco plástico, foi mantido manualmente sobre a parte posterior do membro esquerdo do animal (Brodowicz, Welsh, Wallis, 1996). O calor foi obtido por meio de terapia infra-vermelha com aparelho da CARCI® (150W e 60Hz), mantido a uma distância de 30 cm da pata posterior esquerda do animal (Usuba et al., 2006). Ambos procedimentos, aplicação de frio e calor, foram realizados simultaneamente ao alongamento e mantidos durante todo tempo do mesmo (40 minutos). Preparação e Análise Muscular No 22º dia após o início do experimento, os animais foram anestesiados, pesados, tiveram os músculos retirados e posteriormente sacrificados. O músculo sóleo foi retirado, pesado e dividido longitudinalmente em duas partes, uma para avaliação morfolométrica, para a determinação da densidade do tecido conjuntivo (TC) e a outra para análise do número de sarcômeros em série. Análise Estatística Inicialmente foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk ou Kolmogorov-Smirnov para testar a normalidade da amostra e o teste de Levene para avaliar a homocedasticidade. Posteriormente, para os dados paramétricos aplicou-se o teste Student T (2 amostras) ou ANOVA F (mais de 2 amostras) seguido de Pos hoc Tukey, e para os dados não paramétricos aplicou-se o Kruskal-Wallis seguido de Dunn.

## 4. Resultados

---

Massa Muscular Comparando a massa muscular absoluta entre os grupos experimentais foi observado que, com exceção do grupo A, todos os outros grupos apresentaram massa muscular menor quando comparado ao grupo C (C=0.21 ± 0.03g; I=0.09 ± 0.01g; A=0.10 ± 0.02g; IV= 0.07 ± 0.03g; G=0.09 ± 0.00g; p<0.05; Figura 1). Deste modo, foi observado que a imobilização resultou em diminuição da massa muscular, estando de acordo com trabalhos prévios de Gamrin e colaboradores (1998) e Williams e Goldspink (1971). Esta diminuição da massa muscular é resposta desencadeada pelo músculo que permanece em desuso por um longo período, quando a taxa de degradação de proteínas contráteis ocorre mais rapidamente que a taxa de síntese, resultando na atrofia muscular (Williams e Goldspink, 1971). O alongamento sem associação de recursos foi eficiente em reverter a perda de massa muscular, já que este mostrou-se semelhante ao grupo controle e estatisticamente maior que o grupo imobilizado (Figura 1). Quando o músculo é alongado ocorre acúmulo de RNAm de miosina nas extremidades das fibras. Esse acúmulo de RNAm está relacionado com a síntese de proteínas contráteis (Dix e Eisenberg, 1990), sendo que a taxa de síntese de proteínas maior que a taxa de degradação resulta em aumento da massa muscular. O resultado observado no presente estudo

está de acordo com o de Williams (1990), no qual o alongamento por 30 minutos diários em músculo sóleo de rato produziu menor perda de massa muscular comparado com músculo apenas imobilizado. A associação de recursos térmicos ao alongamento não foi eficiente em reverter a perda de massa muscular, mostrando valores semelhantes ao do grupo imobilizado.

**Adaptação de Sarcômeros em Série** Conforme Figura 2, foi observado que o grupo I obteve menor número de sarcômeros em série que todos os outros grupos experimentais (C=  $7551 \pm 394$ ; I=  $5635 \pm 615$ ; A=  $6843 \pm 556$ ; IV=  $6929 \pm 283$ ; G=  $7431 \pm 292$ ,  $p \leq 0.0006$ ). Esta diminuição do número de sarcômeros após imobilização em posição encurtada também foi observada em estudos prévios (Williams, 1990; Gomes et al., 2004). Em situações de imobilização, com o intuito de manter o ideal comprimento do sarcômero em relação ao músculo como um todo, a adaptação do músculo, para um novo comprimento funcional, ocorre por meio da alteração do número de sarcômeros em série (Goldspink, 1976). Foi observado que os diferentes protocolos de alongamento aplicados preveniram a perda de sarcômeros em série, uma vez que todos os grupos tratados mostraram valores significativamente maiores que o grupo apenas imobilizado. Os resultados do presente estudo são semelhantes a estudo prévio que mostrou que sessões diárias de alongamento passivo aplicado por 30 minutos no músculo sóleo de ratos foram suficientes para prevenir a perda de sarcômeros em série (Williams, 1990). Recentemente, foi observado que sessões de alongamento aplicadas 3 vezes por semana por 40 minutos resultou em aumento do número de sarcômeros em série (Coutinho et al., 2004). Estudos mostram que uma isoforma do óxido nítrico neuronal está envolvida na regulação do número de sarcômeros em série. Esta isoforma é regulada positivamente por um estímulo mecânico, como o alongamento, e possivelmente age como um mecanotransdutor para a adição de sarcômeros em série (Chang et al., 1996). A isoforma do óxido nítrico neuronal parece influenciar na síntese de proteínas do citoesqueleto (Bishopric, Javaseka e Webster, 1992) e na fusão de células satélites na região distal da célula muscular, eventos estes que ocorrem durante a adição de sarcômeros (Williams e Goldspink, 1971). Como citado anteriormente, ambos os grupos que receberam algum tipo de recurso térmico também mostraram ser eficazes na prevenção da perda de sarcômeros em série, não apresentando diferença entre os recursos aplicados. Esse resultado sugere que adaptações que ocorrem com relação ao número de sarcômeros não sofrem influência do resfriamento ou do aquecimento.

**Densidade de Tecido Conjuntivo** Observou-se que todos os grupos experimentais apresentaram maior densidade de TC quando comparados ao grupo C (C=  $17 \pm 1\%$ , I=  $33 \pm 3\%$ ; A=  $33 \pm 1\%$ ; IV=  $29 \pm 2\%$ ; G=  $23 \pm 3\%$ ;  $p \leq 0.003$ ; Figura 3), sugerindo que a imobilização resultou em aumento do TC, como observado em estudos de Williams e colaboradores (1988) e Williams e Goldspink (1984). De acordo com Williams e Goldspink (1984), este aumento ocorre pela redistribuição do tecido conjuntivo devido ao encurtamento das fibras musculares. No entanto, foi observado que o grupo G apresentou menor densidade de TC que os grupos I, A e IV ( $p \leq 0.003$ ; Figura 3), mostrando que o alongamento associado ao resfriamento foi eficiente em diminuir a densidade do TC. No presente estudo, o alongamento aplicado isoladamente não foi efetivo para reverter as alterações no TC, sendo este resultado diferente do relatado por Williams (1988), que observou eficiência do alongamento em prevenir alterações neste tecido. Entretanto, as diferenças nos protocolos de alongamento e imobilização entre o presente estudo e o de Williams (1988), podem explicar os resultados contraditórios. O efeito da temperatura na extensibilidade do tecido conjuntivo é conhecido. Sabe-se que alta temperatura aumenta a extensibilidade do tecido enquanto baixa temperatura a diminui, devido ao fato de que a viscosidade do tecido conjuntivo é influenciada pela temperatura tecidual. (Alter, 1999). No entanto, os mecanismos envolvidos na influência da temperatura sobre a densidade de tecido conjuntivo, como observado no presente estudo, são desconhecidos.

## 5. Considerações Finais

Os resultados mostraram que músculos encurtados podem adaptar-se ao alongamento, sendo esta adaptação dependente de diferentes técnicas de alongamento. Embora a adaptação de sarcômero parece não ser dependente do aquecimento e resfriamento muscular, a alteração na densidade de tecido conjuntivo mostrou-se responsiva somente ao alongamento associado ao resfriamento. Mais estudos são necessários para entendimento das respostas fisiológicas que ocorrem no músculo quando o alongamento é aplicado

com associação de recursos térmicos.

## Referências Bibliográficas

---

- Ansved T. Effects of immobilization on the rat soleus muscle in relation to age. *Acta Physiol Scand.* 1995; 154: 291-302
- Brodowicz, GR, Welsh, R, Wallis, J. Comparison of stretching with ice, stretching with heat, or stretching alone on hamstring flexibility. *J Athl Train.* 1996; 31(4): 324-27.
- Chambers R. Clinical uses of cryotherapy. *Phys Ther.* 1969; 49: 245-9.
- Chang WJ, Iannaccone ST, Lau KS, Masters BS, McCabe TJ, McMillan K, et al. Neuronal nitric oxide synthase and dystrophin-deficient muscular dystrophy. *Proc Natl Acad Sci.* 1996; 93: 9142-7.
- Dix DJ, Eisenberg BH. Myosin mRNA accumulation and myofibrillogenesis at the myotendinous junction of stretched muscle fibers. *J Cell Biol.* 1990; 111:1885-94.
- Gamrin L, Berg HE, Essen P, Tesch PA, Hultman E. The effect of unloading protein synthesis in human skeletal muscle.
- Goldspink G. The adaptation of muscle to a new functional length. *Mastication.* 1976: 90-9.
- Halvorson GA. Therapeutic heat and cold for athletic injuries. *Phys Sportsmed.* 1990; 18: 87-92.
- Lieber RL. *Skeletal muscle structure, function & plasticity: the physiological basis of rehabilitation.* Philadelphia: Lippincott, USA; 2002.
- Minton J. A comparison of thermotherapy and cryotherapy in enhancing supine extended-leg, hip flexion. *J Athl Train.* 1993; 28: 172-6.
- Olson JE, Stravino VD. A review of cryotherapy. *Phys Ther.* 1972; 52: 840-53.
- Prentice WE. *Modalidades Terapeuticas em Medicina Esportiva.* São Paulo: Manole; 2002.
- Taylor B, Waring C, Brashear T. The effects of therapeutic application of heat or cold followed by static stretch on hamstring muscle length. *J Orthop Sports Phys Ther.* 1995; 21: 283-6.
- Usuba M, Miyanaga Y, Miyakawa S, Maeshima T, Shirasaki Y. Effect of heat in increasing the range of knee motion after the development of a joint contracture: an experiment with an animal model. *Arch Phys Med Rehabil.* 2006; 87: 247-53.
- Williams PE. Effect of intermittent stretch on immobilized muscle. *Ann Rheum Dis.* 1988; 47: 1014-6.
- Williams PE. Use of intermittent stretch in the prevention of serial sarcomere loss in immobilized muscle. *Ann Rheum Dis.* 1990; 49: 316-7.
- Williams PE, Catanese T, Lucey EG, Goldspink G. The importance of stretch and contractile activity in the prevention of connective tissue accumulation in muscle. *J Anat.* 1988; 158: 109-14.

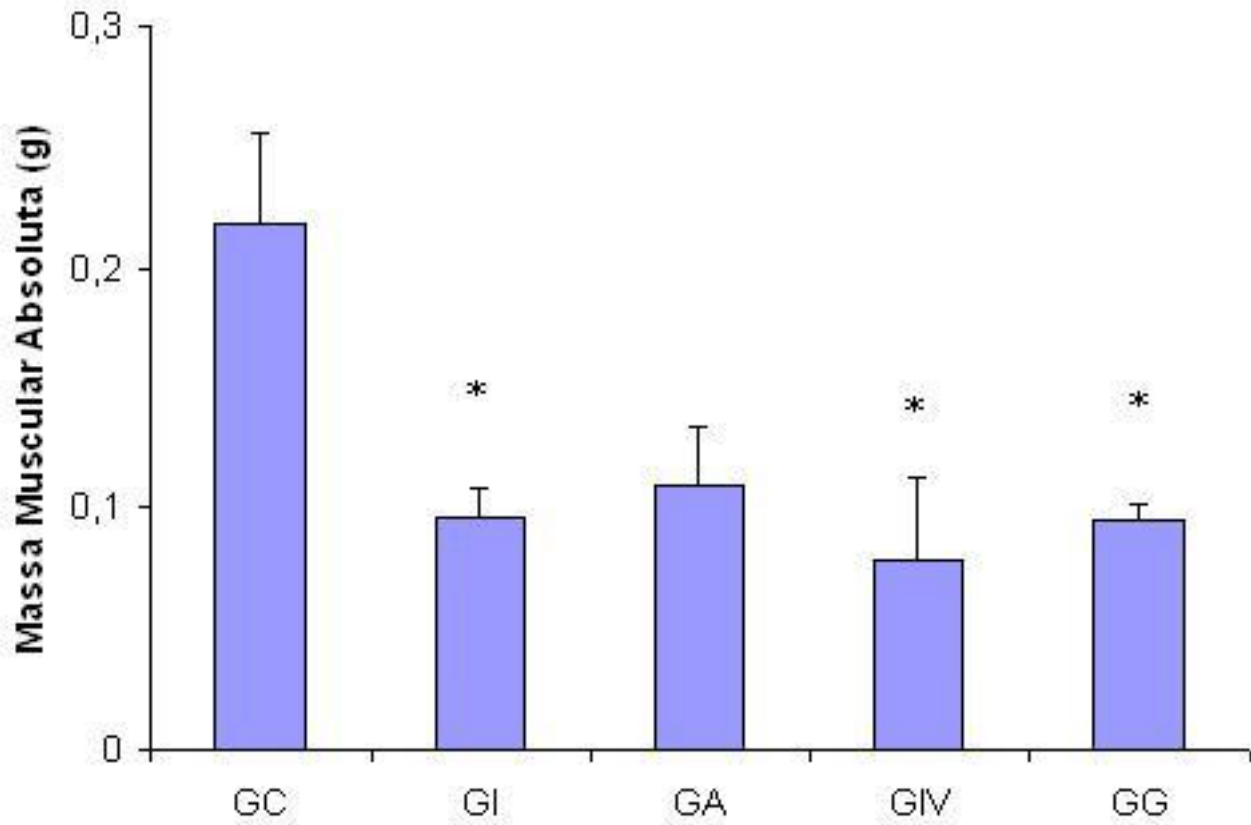
Williams PE, Goldspink G. Longitudinal growth of striated muscle fibers. J Cell Sci.

Williams PE, Goldspink G. Changes in sarcômero length and physiological properties in immobilized muscle. J Anat. 1978; 127: 459-68.

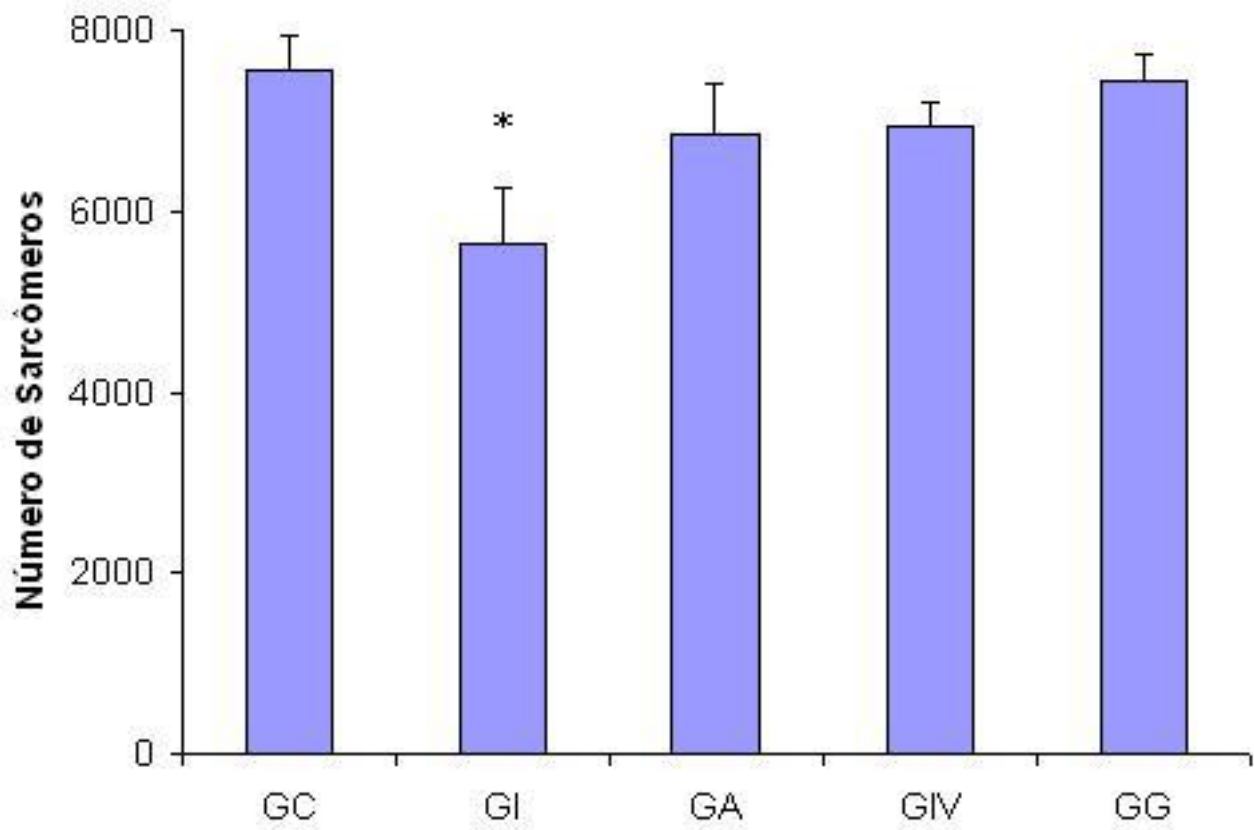
Williams PE, Goldspink G. Connective changes in immobilized muscle. J Anat. 1984; 138(2): 343-50.

## Anexos

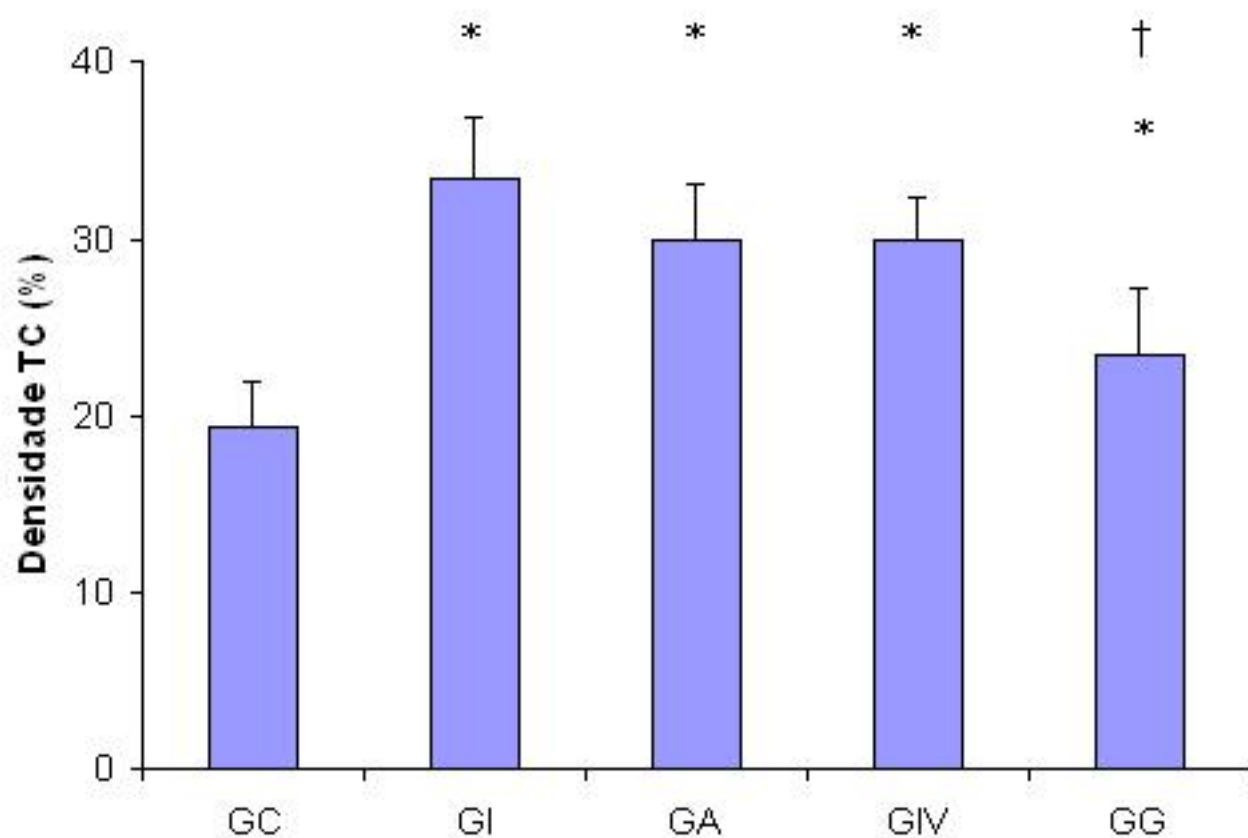
---



\* diferente quando comparado com GC;  $p < 0.05$



\* diferente quando comparado com todos os grupos;  $p \leq 0.0006$



\* diferente quando comparado com GC;  $p \leq 0.003$

† diferente quando comparado com GI, GA e GIV;  $p \leq 0.003$