

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE MESTRADO EM BIOCÊNCIAS E  
SAÚDE

**CAMILA MAYUMI MARTIN KAKIHATA**

**EFEITOS DA VIBRAÇÃO MECÂNICA SOBRE O TECIDO ÓSSEO E NERVOSO  
PERIFÉRICO DE RATAS *WISTAR* OOFORRECTOMIZADAS**

CASCADEL - PR

Fevereiro/2018

**CAMILA MAYUMI MARTIN KAKIHATA**

**EFEITOS DA VIBRAÇÃO MECÂNICA SOBRE O TECIDO ÓSSEO E NERVOSO  
PERIFÉRICO DE RATAS *WISTAR* OOFORECTOMIZADAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

**Área de concentração: processo saúde-  
doença**

Orientador: Gladson Ricardo Flor Bertolini

Coorientadora: Rose Meire Costa Brancalhão

Linha de Pesquisa: Processo Saúde-Doença

CASCADEL - PR

Fevereiro/2018

FOLHA DE APROVAÇÃO

CAMILA MAYUMI MARTIN KAKIHATA

EFEITOS DA VIBRAÇÃO MECÂNICA SOBRE O TECIDO ÓSSEO E  
NERVOSO PERIFÉRICO DE RATAS WISTAR OOFORECTOMIZADAS

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em  
Biotecnologia e Saúde e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela  
Banca Examinadora.

---

Profo Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini (Orientador)  
UNIOESTE

---

Profa Dra. Taciane Stein  
UNIOESTE

---

Profa Dra. Sara Lúcia Silveira de Menezes  
UFRJ

CASCADEL-PR  
Fevereiro/2018

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por todas as oportunidades que tive em minha vida e pelas pessoas que colocou no meu caminho.

Agradeço à minha família, especialmente a minha mãe Carmem e minha avó Madalena, por estarem sempre ao meu lado. Obrigado por me apoiarem e serem meu porto seguro. Ao meu namorado Mixeny, que sempre soube como me acalmar. Obrigado por me apoiar e compreender todos os dias de estudo e trabalho nos finais de semana e feriados no laboratório.

Ao meu orientador, professor Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini, pela paciência e por todo conhecimento transmitido desde a graduação. E à minha coorientadora, professora Dra. Rose Meire Costa Brancalhão, pelo aprendizado e por aceitar desde a graduação me auxiliar em pesquisas, mesmo sendo distintas da sua área.

À professora Dra. Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro, pela disposição em ajudar e passar seu conhecimento. E junto com a prof<sup>a</sup> Rose, me acolher e acreditar em mim.

À banca examinadora, professoras Dra. Sara Lúcia Silveira de Menezes e Dra. Taciane Stein, por dispor de tempo para ler minha dissertação e pelas contribuições.

Aos meus colegas do laboratório LABEF e LERLF, Ana L., Jéssica, Alana, Fernando, Juliana S., Juliana R., Regina, Bárbara, Matheus, Gustavo, Pedro, Marcela, Ana R., Morgana, Ana P., Vinícius, Malu (Maria L.), Pamela e Assis, pelo auxílio para a realização desta pesquisa e pelas risadas que deixaram os dias de trabalho mais leves. Agradeço especialmente à Alana e Malu por disponibilizarem seu tempo e à Ana L., por dividir comigo as dificuldades, preocupações e as alegrias durante esta pesquisa.

Aos meus amigos, Jhenifer, Lilian, Jéssica, Ana, Adriana, Lidiane, Shaiane, especialmente à Kathlyn e Felipe, por torcerem pelas minhas realizações.

Agradeço ao programa de pós-graduação em Biociências e Saúde e Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade do desenvolvimento desta pesquisa.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

Por fim, obrigado a todos colaboraram de alguma forma para a execução deste trabalho!

## RESUMO GERAL

A terapia de vibração com plataforma vibratória é utilizada no tratamento de osteoporose pós-menopausa, pois pode promover efeitos anabólicos sobre o tecido ósseo; porém, os parâmetros de utilização, principalmente o tempo de aplicação, não estão bem estabelecidos. Além disso, apesar dos efeitos benéficos da vibração, esse estímulo pode causar lesão nervosa periférica e seus efeitos sobre o nervo periférico são ainda pouco explorado em parâmetros utilizados em terapias. Diante desses fatores, torna-se relevante o estudo da vibração mecânica durante diferentes períodos sobre o tecido ósseo, além de analisar os efeitos sobre o tecido nervoso. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi analisar e comparar os efeitos da vibração mecânica aplicada durante quatro e oito semanas, sobre o fêmur e nervo isquiático de ratas *Wistar* ooforectomizadas. Foram utilizadas 64 ratas randomizadas nos grupos ooforectomia (GO) e pseudooforectomia (GP) (n=32/grupo). Posteriormente, cada grupo foi subdividido em 4, grupos eutanasiados na 12<sup>a</sup> semana de experimento (GP4, GO4, GPV4 e GOV4), sendo que GPV4 e GOV4 foram submetidos à vibração por 4 semanas; e os grupos eutanasiados na 16<sup>a</sup> semana de experimento (GP8, GO8, GPV8 e GOV8), sendo que GPV8 e GOV8 foram submetidos à vibração por 8 semanas. A vibração foi realizada com frequência de 60Hz, por 10 minutos, três vezes por semana. Foi avaliada a nocicepção da pata posterior direita antes do procedimento cirúrgico, prévio e ao final do tratamento com vibração. Após o período experimental, os animais foram devidamente eutanasiados, e o nervo isquiático e o fêmur direitos foram dissecados para análise histomorfométrica. Foi mensurado em 100 fibras nervosas o diâmetro da fibra, axônio, bainha de mielina e quociente g; realizou-se a contagem de fibras menores e maiores que quatro micrometros, e dos núcleos de células de *Schwann*, além da porcentagem do tecido conjuntivo. O fêmur foi analisado quanto ao diâmetro do colo do fêmur, à porcentagem do osso esponjoso, à mensuração da espessura, à porcentagem e área média do osso cortical, além da contagem do número de osteócitos. A partir das análises, observou-se que a variável da nocicepção e da morfometria do nervo isquiático não houve diferença estatística significativa, além disso, na análise morfológica do nervo isquiático, os grupos apresentaram características semelhantes entre si, sem alteração da morfologia típica. Enquanto que no fêmur, a vibração nos grupos ooforectomizados levou ao aumento da massa óssea, sendo observado o aumento da porcentagem do tecido esponjoso, o que também foi evidenciado no tecido cortical, com aumento da espessura e da porcentagem de tecido ósseo. Porém, as variáveis da área média do osso cortical, o número de osteócitos e o diâmetro do colo do fêmur não foram alterados pela vibração. Com isso, conclui-se que a vibração durante quatro e oito semanas promoveu aumento da massa óssea e não apresentou efeitos sobre o nervo isquiático de ratas *Wistar* ooforectomizadas.

**Palavras-chave:** ovariectomia; osteoporose pós-menopausa; sistema nervoso periférico; vibração do corpo inteiro.

## GENERAL ABSTRACT

Vibratory platform vibration therapy used in the treatment of postmenopausal osteoporosis because it can promote anabolic effects on bone tissue, but the parameters of use, especially the time of application, are not established. In addition, despite the beneficial effects of vibration, it is known that it can cause peripheral nerve damage. However although mentioned, there is no scientific evidence documenting the effects of this stimulus on the peripheral nerve in parameters used in therapies. Thus, is relevant the study of the mechanical vibration during different periods on the bone tissue, besides analyzing the effects on the nervous tissue. The aim of this study was to analyze and compare the effects of mechanical vibration applied over four and eight weeks on the femur and sciatic nerve of oophorectomized Wistar rats. Sixty-six randomized rats were used in the oophorectomy (GO) and sham-oophorectomy (GP) groups (n = 32 / group). Subsequently, each group was subdivided into 4, euthanized groups in the 12th week of experiment (GP4, GO4, GPV4 and GOV4), and GPV4 and GOV4 were submitted to vibration for 4 weeks; (GP8, GO8, GPV8 and GOV8), and GPV8 and GOV8 groups were submitted to vibration for 8 weeks. The vibration was performed with frequency of 60Hz, for 10 minutes, three days a week. Nociception of the right hind paw was evaluated before the surgical procedure, at the beginning of the treatment and at the end of the treatment with vibration. After the experimental period, the animals were euthanized, and the right sciatic nerve and femur were dissected for histomorphometric analysis. Were measured in 100 fibers nerve the diameter of the fiber, axon, myelin sheath, and quotient g, also were realized the counts of smaller fibers and larger than four micrometers and of the Schwann cell nuclei, as well as the percentage of connective tissue. The femur was analyzed for femoral neck diameter, mean area of cortical bone, percentage of spongy bone, thickness measurement and percentage of cortical bone, as well as osteocyte count. From the analyzes it was observed that the nociception and morphometry of the sciatic nerve morphometry did not have a statistically significant difference; in addition, in the morphological analysis of the sciatic nerve, the groups presented similar characteristics among themselves, without altering the typical morphology. While in the femur, the vibration in the oophorectomized groups led to the increase of the bone mass, being observed the increase of the percentage of the spongy tissue, which was also evidenced in the cortical tissue, with increase of the thickness and the percentage of bone tissue, being the was able to reverse these changes. However, the variables of the mean area of the cortical bone, number of osteocytes and the diameter of the femoral neck were not altered by vibration. With this, it was concluded that the vibration during four and eight weeks promoted increase of the bone mass, whereas it did not have effects on the sciatic nerve of oophorectomized Wistar rats.

**Keywords:** ovariectomy; postmenopausal osteoporosis; peripheral nervous system; whole-body vibration.

## SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	8
LISTA DE ABREVIACÕES.....	9
INTRODUÇÃO GERAL .....	10
OBJETIVOS.....	13
Objetivo Geral .....	13
Objetivos Específicos .....	13
REVISÃO DE LITERATURA .....	14
Tecido Ósseo e Remodelação .....	14
Nervo Periférico e Regeneração .....	19
Estrogênio.....	22
Efeitos do Estrogênio no Tecido Ósseo e Osteoporose .....	23
Efeito do Estrogênio no Tecido Nervoso.....	26
Efeitos da Vibração Mecânica Sobre os Tecidos Ósseo e Nervoso Periférico.....	28
REFERÊNCIAS .....	32
ARTIGO CIENTÍFICO 1 .....	42
Anexo A.....	78
Anexo B.....	79
Anexo C .....	86



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	Esquema das células constituintes do tecido ósseo	16
<b>Figura 2</b>	Diferenciação dos osteoclastos	17
<b>Figura 3</b>	Imagem da divisão do tecido ósseo em compacto e esponjoso	18
<b>Figura 4</b>	Desenho esquemático do nervo periférico e seus envoltórios conjuntivos	20

## LISTA DE ABREVIações

- BMP – Bone morphogenetic protein; proteína morfogenética do osso
- Ca<sup>++</sup> - Cálcio
- Células Th – Células T-auxiliares
- DMO - Densidade mineral óssea
- ER - Estrogen receptor; receptor de estrogênio
- FGF - Fibroblast growth fator; fator de crescimento de fibroblastos
- H<sup>+</sup> - Hidrogênio
- HE – Hematoxilina e eosina
- IL - Interleucina
- LNP - Lesão nervosa periférica
- MCSF - Macrophage colony-stimulating factor; *fator estimulador de colônias* de macrófagos
- MSCs - Mesenchymal stromal cells; células estromais mesenquimais
- OPG – Osteoprotegerin; osteoprotegerina
- pH - Potencial hidrogeniônico
- RANK - Receptor activator of nuclear factor kappa B; receptor ativador do fator de transcrição nuclear Kapa B
- RANKL - Receptor activator of nuclear factor kappa B ligant; receptor ativador do fator de transcrição nuclear Kapa B ligante
- SNC - Sistema nervoso central
- SNP - Sistema nervoso periférico
- TNF - Tumor necrosisfactor; fator de necrose tumoral

## INTRODUÇÃO GERAL

Com o processo de envelhecimento da população, o número de idosos é crescente, sendo composto principalmente por mulheres, pois elas possuem maior expectativa de vida do que os homens. Esse fato também presume que elas passarão uma porção maior da vida no estado hipoestrogênico pós-menopausa, convivendo com as diversas alterações que ocorrem nesse período. Com isso, a compreensão dos impactos fisiológicos das hormônios sexuais feminino torna-se uma questão importante de saúde pública (ENGLER-CHIURAZZI et al., 2017).

A menopausa, definida como a última menstruação, ocorre devido ao cessar natural da produção do estrogênio, na principal fonte desse hormônio na mulher, os ovários (CARVAJAL-LOHR et al., 2016; DAAN et al., 2015; KHALID; KRUM, 2016). A partir disso, ocorrem diversas desordens na saúde da mulher, sendo relacionadas principalmente à deficiência de estrogênio, consistindo em sintomas vasomotores, em alterações no trato urogenital (AL-SAFI; SANTORO, 2014) e no sistema cardiovascular. Além disso, pode afetar o tecido nervoso (NEWINGTON; HARRIS; WALKER-BONE, 2015) e o osso (TELLA; GALLAGHER, 2014).

As mulheres no período pós-menopausa apresentam alta prevalência de diminuição da densidade mineral óssea (DMO), predominantemente no osso esponjoso, ocasionando com frequência a osteopenia (65%), forma mais branda de perda óssea, que pode evoluir para osteoporose (12%) (FERNANDES et al., 2015; JI; YU, 2015). Isso ocorre porque a diminuição da concentração de estrogênio resulta no aumento da expressão de fatores que estimulam a diferenciação e mantém a viabilidade

dos osteoclastos (JI; YU, 2015; NAKASHIMA; HAYASHI; TAKAYANAGI, 2012; TELLA; GALLAGHER, 2014). Dessa forma, ocorre maior remoção do que deposição de matriz óssea (TELLA; GALLAGHER, 2014).

Dentre as formas de tratamento para promover o aumento da massa óssea, está a vibração mecânica, que pode ser aplicada por meio da plataforma vibratória, utilizada como recurso para realização de exercício por ser uma terapia de curta aplicação (WEBER-RAJEK et al., 2015). A terapia de vibração mecânica é utilizada com base em seu efeito mecanotransdutor pelos osteócitos, que converte forças mecânicas externas em respostas bioquímicas, inibindo a diferenciação dos osteoclastos (KULKARNI; VOGLEWEDE; LIU, 2013).

As respostas dessa terapia dependem da intensidade, da frequência e da duração do estímulo; contudo, esses parâmetros não estão bem estabelecidos, havendo discrepância entre os estudos (BUTEZLOFF et al., 2015; KULKARNI; VOGLEWEDE; LIU, 2013; LIANG et al., 2014; RODRIGUEZ-MIGUELEZ et al., 2015; WEI et al., 2014; ZHOU et al., 2015). O tempo de duração da terapia, apesar de ser pouco explorado (MOREIRA-MARCONI et al., 2016), é considerado um parâmetro importante (FRATINI; BONCI, 2016), pois a exposição prolongada pode causar danos ao tecido (XIE et al., 2016).

Apesar do frequente uso da plataforma vibratória na terapêutica para osteoporose, sabe-se que a vibração pode causar lesão nervosa periférica (LNP), o que é comumente conhecida no âmbito ocupacional, pela síndrome do túnel do carpo (CHAMMAS, 2014; NEWINGTON; HARRIS; WALKER-BONE, 2015; PALMER; BOVENZI, 2015). Um dos possíveis mecanismos de lesão foi observado em estudos experimentais com a diminuição do limiar nociceptivo, decorrente da produção de movimentos de flexo-extensão na coluna pela vibração, resultando em lesão dos discos intervertebrais (BAIG et al., 2013; KARTHA; ZEEMAN; BAIG, 2015).

No estudo de Baig et al. (2013), foram observados sinais de LNP a partir de uma única sessão, pela diminuição do limiar nociceptivo, e demonstrou que a severidade aumenta quanto maior for a intensidade diária e frequência semanal; o que torna relevante o estudo dos efeitos da vibração sobre o tecido nervoso durante a prática terapêutica. Além disso, durante o

tratamento de osteoporose pós-menopausa com vibração, há a associação do estímulo mecânico e da restrição hormonal, que são fatores de risco para LNP (HAYLOCK-VIZE; CHOI, 2015). Assim, é importante verificar os efeitos da plataforma vibratória sobre a remodelação óssea em diferentes períodos para padronização desse parâmetro, levando em consideração os efeitos sobre o tecido nervoso periférico.

## OBJETIVOS

### Objetivo Geral

- Analisar e comparar os efeitos da vibração mecânica aplicada durante quatro e oito semanas, sobre o fêmur e o nervo isquiático de ratas *Wistar* ooforectomizadas.

### Objetivos Específicos

- Analisar a morfologia do tecido ósseo cortical e esponjoso, com o uso de parâmetros morfométricos;
- Avaliar o limiar nociceptivo do nervo isquiático;
- Verificar a presença de sinais de lesão no nervo isquiático por meio de parâmetros morfométricos e morfológicos qualitativos.

## REVISÃO DE LITERATURA

A presente revisão abrangeu temas amplos relativos à estrutura e à função do tecido ósseo e nervo periférico e à influência do estrogênio e da terapia de vibração mecânica sobre os tecidos.

### **Tecido Ósseo e Remodelação**

O osso é uma forma especializada de tecido conjuntivo, constituído por células especializadas e por componentes extracelulares calcificados, denominados de matriz óssea. A matriz óssea é dividida de acordo com a sua composição: as porções orgânica e inorgânica. A fração inorgânica é constituída principalmente por cálcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) e fosfato, e pequenas quantidades de bicarbonato, magnésio, potássio, sódio e citrato. E a porção orgânica é composta em sua maioria por colágeno tipo I, além de colágeno tipo V, VI e VII, proteoglicanos e proteínas não colágenas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

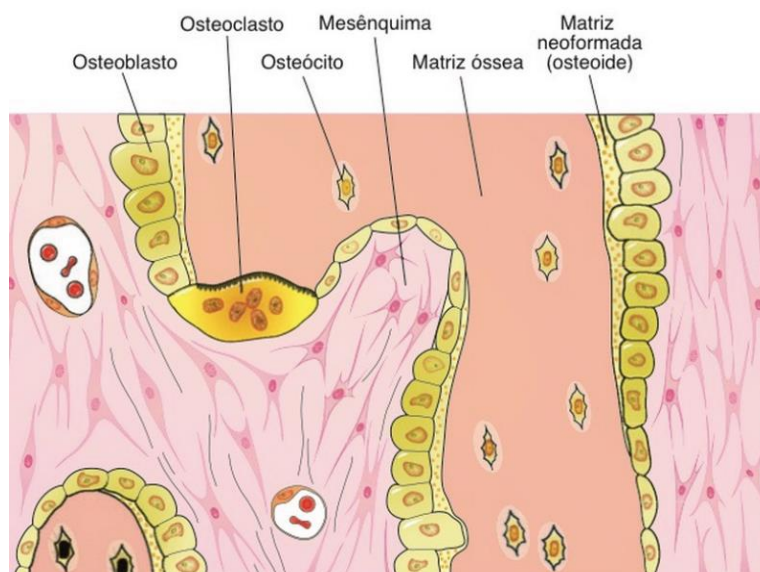
As células especializadas presentes no tecido ósseo são os osteoclastos, osteoblastos e osteócitos (Figura 1). Os osteoclastos são células multinucleadas de origem hematopoiética que realizam a reabsorção óssea (JI; YU, 2015; LOI et al., 2016; STEVENSON; MARSH 1992). Sua diferenciação, processo denominado de osteoclastogênese, ocorre quando o receptor do fator nuclear Kapa B (RANK), expresso em sua superfície, interage com seu ligante RANKL (Figura 2). Esse ligante é uma citocina da família do fator de necrose

tumoral (TNF), expresso principalmente por osteócitos, além das células T- auxiliares (células Th) e osteoblastos (NAKASHIMA; HAYASHI; TAKAYANAGI, 2012).

Os osteoblastos são derivados de células estromais mesenquimais (MSCs) e apresentam grandes núcleos, estrutura de Golgi dilatada e retículo endoplasmático extenso. Essas células promovem a deposição da matriz óssea, sintetizando colágeno tipo I e outras proteínas da matriz (IÑIGUEZ-ARIZA; CLARKE, 2015). Ademais, junto com linfócitos B, células dendríticas, MSCs e osteócitos, secretam a osteoprotegerina (OPG), um receptor solúvel da família do TNF. Esse receptor atua como antagonista ao RANKL, para impedir a interação RANK/RANKL, e assim impossibilita a ativação dos pré-osteoclastos (LOI et al., 2016).

Os principais constituintes do tecido ósseo são os osteócitos, correspondendo a 90% das células ósseas (KLEIN-NULEND et al., 2015). Tais células são derivadas de osteoblastos incorporados dentro da matriz óssea calcificada (NAKASHIMA; HAYASHI; TAKAYANAGI, 2012), os quais estão localizados dentro de uma rede de lacunas ósseas, por meio das quais seus prolongamentos entram em contato com outras células, permitindo a comunicação. A principal função dos osteócitos é a manutenção da matriz óssea, pois esses são capazes de regular seu meio ambiente e, assim, são responsáveis pela regulação da remodelação óssea, visto que atuam como receptores de estímulos endócrinos e mecânicos (PRIDEAUX; FINDLAY; ATKINS, 2016).





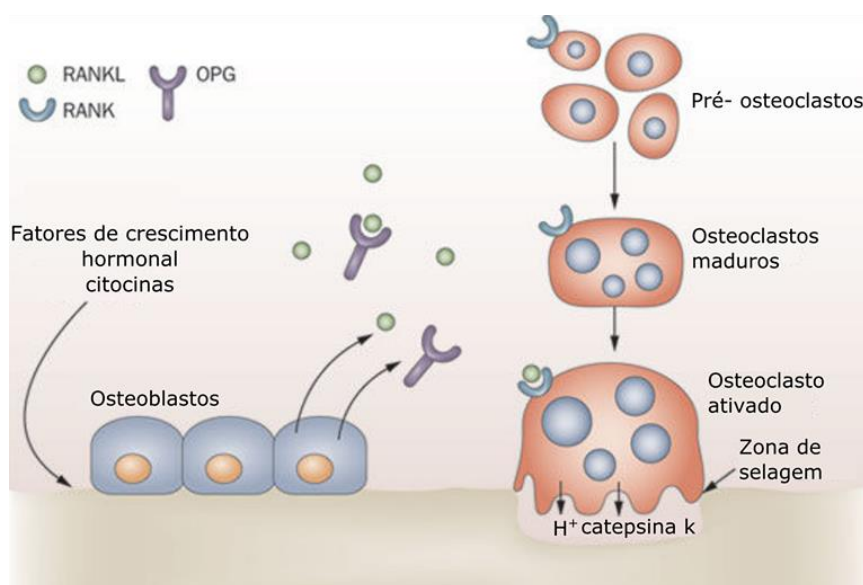
**Figura 1** - Esquema das células constituintes do tecido ósseo. Indicando o osteoclasto, grande célula multinucleada que promove a reabsorção óssea; os osteoblastos, posicionados lado a lado, promovem a deposição da matriz óssea e quando esta se calcifica, os osteoblastos ficam presos, passando a serem denominados osteócitos; os osteócitos, células que promovem a manutenção da matriz óssea. Fonte: Junqueira; Carneiro (2013).

O tecido ósseo é um órgão altamente dinâmico, que está em constante remodelação, renovando o tecido para evitar acúmulo de micro lesões, e a fim de responder ao estímulo de crescimento, mantendo a resistência óssea e preservando a homeostase mineral (GOLOB; LAYA, 2015; IÑIGUEZ-ARIZA; CLARKE, 2015). O ciclo da remodelação é realizado pelos osteoclastos, osteoblastos e osteócitos, e é composto por quatro fases sequenciais: o recrutamento e ativação de osteoclastos, reabsorção, reversão e formação (JI; YU, 2015).

No início do ciclo, na fase de recrutamento e ativação dos osteoclastos, ocorre a liberação de Fator estimulador de colônias de macrófagos (MCSF), interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6) e RANKL pelos osteoblastos, células Th e osteócitos. Esses fatores, assim como o hormônio paratireoide, vitamina D e calcitonina, estimulam a osteoclastogênese e induzem a maturação e a ativação dos osteoclastos (Figura 2) (IÑIGUEZ-ARIZA; CLARKE, 2015; SIMS; VRAHNAS, 2014). Essas células ativadas são recrutadas para a superfície óssea, e se ligam à matriz por meio de interações entre os receptores de integrina em suas membranas e os peptídeos da matriz, formando uma vedação entre o osteoblasto e a matriz óssea (JI; YU, 2015; LOI et al., 2016).

A partir disso, inicia-se a fase de reabsorção, na qual os osteoclastos liberam íons de hidrogênio ( $H^+$ ) (Figura 2) pelas bombas de ATPase e canais de cloreto. Isso promove a acidificação do potencial hidrogeniônico (pH) de até 4,5 dentro do compartimento de reabsorção óssea, o que auxilia a solubilizar a matriz mineral óssea. Além disso, os osteoclastos secretam fosfatase resistente ao tartarato ácido, catepsina K, metaloproteinase da matriz, e gelatinase de lisossomas citoplasmáticos, para digerir a matriz orgânica (IÑIGUEZ-ARIZA; CLARKE, 2015).

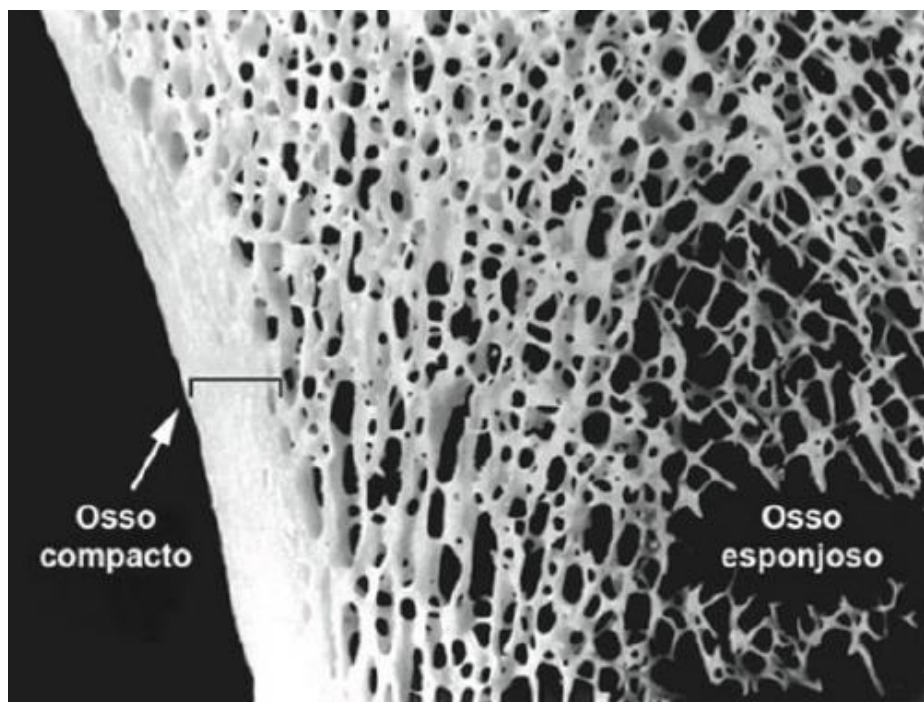
A fase de reabsorção é concluída quando os osteoclastos param de funcionar e sofrem apoptose. Isso ocorre com a diminuição do MCSF e com o aumento da liberação de interferon-Beta e de OPG (Figura 2), o que resulta na diminuição da interação RANK/RANKL, necessária para a osteoclastogênese e para a sobrevivência dos osteoclastos. Assim, inicia-se a fase de reversão, com a liberação de fatores que ativam os precursores dos osteoblastos, como o fator de crescimento transformante Beta, fator de crescimento semelhante à insulina 1 e 2, às proteínas morfogenéticas do osso (BMPs) e aos fatores de crescimento de fibroblastos (FGFs) (IÑIGUEZ-ARIZA; CLARKE, 2015).



**Figura 2** – Diferenciação dos osteoclastos. Fatores de crescimento, hormônios e citocinas induzem a expressão do receptor RANKL, este quando interage com o receptor RANK presente na célula precursora de osteoclasto, ele se diferencia em osteoclasto maduro e ativa esta célula, que inicia a reabsorção da matriz com a liberação de catepsina K e íons  $H^+$ . Posteriormente os osteoblastos liberam OPG que se liga ao RANKL impedindo a sobrevivência dos osteoclastos e sua maturação. Fonte: [www.nature.com/nrrheumjournal/v7n11/full/nrrheum.2011.130.html](http://www.nature.com/nrrheumjournal/v7n11/full/nrrheum.2011.130.html) (imagem adaptada).

A última fase da remodelação consiste na formação de tecido ósseo, quando os osteoblastos iniciam a deposição de colágeno, seguido da mineralização pela deposição de sais de  $\text{Ca}^{++}$  (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; TELLA; GALLAGHER, 2014). Após a conclusão da formação da matriz óssea, cerca de 50-70% dos osteoblastos sofrem apoptose, enquanto o restante incorpora-se à matriz óssea calcificada, passando a serem denominados como osteócitos (IÑIGUEZ-ARIZA; CLARKE, 2015).

A remodelação óssea ocorre em intensidade diferente dependendo da composição e estrutura. O tecido ósseo tem uma divisão estrutural, osso esponjoso e compacto (também chamado de cortical) (Figura 3), e sua superfície é revestida por membranas conjuntivas, o periósteo e endósteo, ambos correspondendo às camadas externa e interna, respectivamente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; REZNIKOV; SHAHAR; WEINER, 2014). A taxa de renovação do osso cortical e do periósteo é menor, pois precisa manter a característica de força biomecânica, enquanto que no osso esponjoso e no endósteo a reabsorção ocorre de forma mais rápida, o que indica um papel importante no metabolismo mineral (IÑIGUEZ-ARIZA; CLARKE, 2015; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).



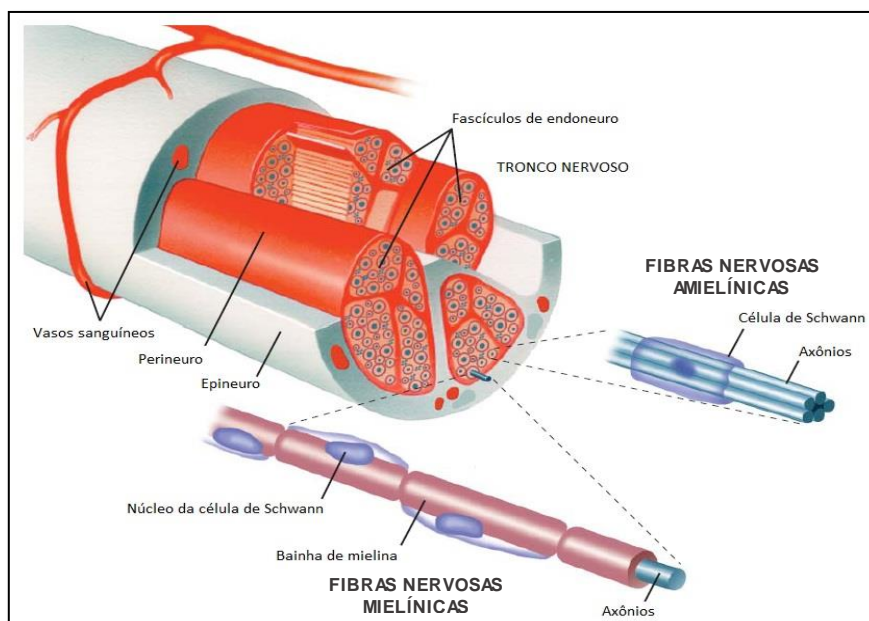
**Figura 3** – Imagem da divisão do tecido ósseo em compacto e esponjoso. Fonte: Junqueira; Carneiro (2013).

A remodelação do tecido ósseo é regulada por estímulos mecânicos (NYARY; SCAMMELL, 2012; PRIDEAUX; FINDLAY; ATKINS, 2016), como pela contração muscular e pela carga externa (ROSA et al., 2015). Também é regulada por fatores intrínsecos como citocinas, fatores de crescimento e hormonais, como o hormônio paratireóide, o hormônio de crescimento e os hormônios sexuais, como o estrogênio (TELLA; GALLAGHER, 2014).

### **Nervo Periférico e Regeneração**

O tecido nervoso é formado pelos neurônios e as células da glia ou neuroglia e, conforme sua localização, divide-se em sistema nervoso central (SNC), composto pelo encéfalo e medula espinal, e sistema nervoso periférico (SNP), formado pelos gânglios, nervos periféricos e terminações nervosas. O neurônio é a unidade funcional desse tecido, cuja função é a recepção, a transmissão e o processamento de estímulos. Essas células são formadas pelo corpo celular, que é o centro trófico de onde partem diversos prolongamentos, os dendritos, com função de receber estímulos. Do corpo celular também origina-se a fibra nervosa, formada pelo axônio, envolto por bainha de mielina, cuja função é a condução de impulsos para transmitir informações para outras células (GUYTON; HALL, 2006; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004, 2013).

Nos neurônios do SNP, o corpo celular está localizado na medula ou no gânglio espinal, e o axônio forma a fibra nervosa que pode ser miélnica ou amiélnica (Figura 4). Quando a fibra é envolta por apenas uma camada de bainha de mielina, produzida pelas células de *Schwann*, é denominada amiélnica. Já a fibra miélnica é envolta por várias camadas de bainha de mielina, além disso, apresenta nódulos de Ranvier (bainha de mielina interrompida em intervalos regulares), que permitem a condução saltatória do impulso nervoso (DANGELO; FATTINI, 2010; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).



**Figura 4** – Desenho esquemático do nervo periférico e seus envoltórios conjuntivos. Na figura o endoneuro, tecido que envolve cada fibra nervosa; o conjunto de fibras formam um fascículo, envolto por outra camada de tecido conjuntivo denominado perineuro; e o conjunto dos fascículos forma o nervo, envolto pelo epineuro. Fonte: [what-when-how.com/acp-medicine/diseases-of-the-peripheral-nervous-system-part-1/](http://what-when-how.com/acp-medicine/diseases-of-the-peripheral-nervous-system-part-1/) (Imagem adaptada).

Cada fibra nervosa é envolta pelo endoneuro, tecido conjuntivo frouxo composto por uma delgada camada de fibras reticulares (produzidas pelas células de Schwann subjacentes), fibroblastos dispersos, macrófagos fixos, capilares e mastócitos perivasculares na matriz extracelular. O conjunto de fibras nervosas formam fascículos envoltos pelo perineuro, tecido conjuntivo denso cuja espessura se reduz progressivamente até ficar uma lâmina de células achatadas. E o conjunto de fascículos formam o nervo periférico, envolto pelo epineuro (Figura 4), tecido conjuntivo colagenoso denso, não modelado, contendo algumas fibras elásticas grossas que envolvem totalmente o nervo (BIGNOTTI; TAGLIAFICO; MARTINOLI, 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Os nervos podem ser compostos por dois tipos de fibras nervosas, as aferentes, que levam as informações para os centros nervosos, e as eferentes, que trazem informações dos centros nervosos para os órgãos alvo. Assim, os nervos promovem a comunicação entre os centros nervosos e os órgãos da sensibilidade e órgãos efetores. Os nervos que têm somente fibras aferentes são denominados sensitivos, e os formados exclusivamente por fibras eferentes são nervos motores. A maioria dos nervos contém fibras

dos dois tipos, sendo considerados nervos mistos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Devido à localização dos nervos periféricos, esses podem ser acometidos por diversas forças externas, como o trauma, o estiramento (BIGNOTTI; TAGLIAFICO; MARTINOLI, 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013) e a vibração (NEWINGTON; HARRIS; WALKER-BONE, 2015), que podem resultar em lesão desse tecido, com déficit motor e/ou sensitivo. Apesar da capacidade de crescimento neural ser reprimida após a fase embrionária, a fibra nervosa pode se regenerar dependendo do tipo de lesão (ALLODI; UDINA; NAVARRO, 2012; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Existem dois modelos para classificar o tipo de lesão nervosa periférica: o modelo de Seddon (1943), que classifica a gravidade da lesão em três graus; e, posteriormente, o modelo de Sunderland (1978), que expande a classificação em cinco graus (MITCHELL; FAYAD; AHLAWAT, 2018).

Segundo Seddon (1943), as lesões são classificadas em neuropraxia, axonotmese e neurotmeze. A neuropraxia é o tipo mais leve de lesão, com recuperação em dias ou semanas, pois é decorrente de uma desmielinização que resulta em um bloqueio temporário da condução nervosa. Nesse tipo de lesão, há paralisia motora e perda da sensibilidade proprioceptiva e tátil. A axonotmese é caracterizada pela perda da continuidade axonal, mas com preservação da maior parte do envoltório conjuntivo, incluindo o endoneuro. Após esse tipo de lesão, ocorre uma série de eventos da degeneração *Walleriana*, com degeneração axonal e fagocitose da bainha de mielina do coto distal a lesão, até a possível reinervação que pode durar semanas a meses. E na neurotmeze, ocorre a perda da continuidade total do nervo, com formação de tecido cicatricial entre as fibras interrompidas, o que impossibilita a regeneração espontânea e requer tratamento cirúrgico (MARTINS et al., 2013).

No modelo de Sunderland (1978), a lesão é classificada em cinco graus, com alguns itens semelhantes ao de Seddon (1943). A lesão tipo neuropraxia do modelo de Seddon equivale à lesão de primeiro grau, enquanto que a axonotmese equipara-se à lesão de segundo grau e é expandida em mais dois graus de lesão, quando também há lesão no endoneuro (terceiro grau) e quando há lesão no endoneuro e perineuro (quarto grau). E o quinto

grau é semelhante à neurotmeose, com secção completa do nervo (CAMPBELL, 2008).

Além dos estímulos mecânicos, a integridade do tecido nervoso também pode ser afetada por deficiências vitamínicas, doenças sistêmicas, distúrbios metabólicos e endócrinos e desequilíbrios hormonais (HAYLOCK-VIZE; CHOI, 2015), como a deficiência estrogênica no período pós menopausa (KAPLAN; KURT; KARAER, 2008; THURSTON, 2013).

## **Estrogênio**

O estrogênio é um grupo de hormônios da família dos esteroides, formado principalmente por meio de um processo que converte o colesterol em pregnenolona, do qual todos os hormônios esteroides derivam. A partir disso, diferentes hormônios são produzidos, dependendo das enzimas e dos receptores presentes nas células produtoras (AMANDUSSON; BLOMQUIST, 2013). A secreção de estrogênio, na mulher não gravídica, ocorre em maior quantidade nos ovários, sendo o  $\beta$ -estradiol, estrona e estriol os principais estrogênios secretados (GUYTON; HALL, 2006).

Nos ovários, as células que produzem o estrogênio são os folículos primordiais, que são constituídas pelo ovócito primário envolto por uma camada de células foliculares. Os folículos primordiais são formados apenas durante a fase embrionária, e a partir disso a maioria sofre atresia (morte celular), e outros são liberados para a fecundação (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

O processo de liberação dos folículos ocorre em cada ciclo menstrual e inicia-se a partir da puberdade. O hipotálamo excreta o hormônio liberador de gonadotropina, que induz a secreção de hormônio folículo estimulante e hormônio luteinizante pela hipófise. Esses hormônios estimulam os ovários a produzirem a progesterona, que prepara o útero para a gravidez, e os estrogênios que irão estimular a proliferação e crescimento de células responsáveis pelas características femininas sexuais secundárias. E conforme há o aumento da secreção de estrogênio e progesterona, ocorre um *feed back*

negativo no hipotálamo e hipófise, para cessar a liberação hormonal (GUYTON; HALL, 2006).

O estrogênio atua não só no sistema reprodutivo, mas em quase todos os tecidos do corpo, por meio da interação com os receptores de estrogênio (ER) alfa e beta (ER $\alpha$  e ER $\beta$ ) (KHALID; KRUM, 2016). Esses receptores foram encontrados em diversos tecidos, como, cardiovascular, células imunes, fígado, sistema nervoso central e no tecido ósseo (ENGLER-CHIURAZZI et al., 2017; PLANEY; KUMAR; ARNOTT, 2014). Os ERs atuam como um fator de transcrição, pois, após a sua ativação, que ocorre a partir da ligação com estrogênio, como também por proteínas quinases, fator de crescimento transformante e adenosina 3',5'-monofosfato cíclico, promove a síntese de proteínas específicas (AMANDUSSON; BLOMQVIST, 2013).

Na mulher, ocorre naturalmente a diminuição até o cessar da produção do estrogênio pela sua principal fonte, decorrente da diminuição do número de folículos primários (CARVAJAL-LOHR et al., 2016; DAAN et al., 2015; KHALID; KRUM, 2016). Com isso, ocorre a última menstruação, denominada menopausa, um marco importante do período de transição entre as fases fértil e infértil da mulher, o climatério. Esse período de transição, chamado climatério, pode ser dividido em peri e pós-menopausa. O primeiro período inicia-se dois anos antes da última menstruação e estende-se até um ano após, e o segundo período tem seu início um ano após a menopausa (CARVAJAL-LOHR et al., 2016; O'NEILL; EDEN, 2014).

A menopausa traz consequências para a saúde da mulher, sendo relacionadas principalmente com deficiência de estrogênio, consistindo em sintomas vasomotores, alterações no trato urogenital (AL-SAFI; SANTORO, 2014), sistema cardiovascular, bem como, ao tecido nervoso (AMANDUSSON; BLOMQVIST, 2013) e ósseo (JI; YU, 2015; TELLA; GALLAGHER, 2014).

### **Efeitos do Estrogênio no Tecido Ósseo e Osteoporose**

O estrogênio exerce efeito protetor sobre o tecido ósseo, pois atua de diferentes formas promovendo a diminuição da reabsorção óssea. Isso ocorre porque esse hormônio diminui a excreção do Ca<sup>++</sup> pelos rins e aumenta



sua reabsorção pelo intestino, além disso, aumenta a produção de calcitonina (JI; YU, 2015), hormônio que diminui a atividade osteoclastica e estimula a deposição do  $\text{Ca}^{++}$  no tecido ósseo (GUYTON; HALL, 2006).

Outro mecanismo ocorre por meio dos receptores de estrogênio presentes nesse tecido, que regulam a razão RANKL/OPG, aumentando a transcrição de OPG, afetando a localização de RANKL na superfície celular e reduzindo a expressão de MCSF, o que, conseqüentemente, diminui a atividade do osteoclasto (JI; YU, 2015). Além disso, o  $\text{ER}\alpha$  e  $\text{ER}\beta$  foram detectados por imuno-histoquímica em osteoblastos e atua como anti-apoptótico (CARNESECCHI; VANACKER, 2015; KHALID; KRUM, 2016).

Quando ocorre a supressão do estrogênio no período pós-menopausa, seus efeitos são revertidos, alterando a remodelação óssea (KHALID; KRUM, 2016). Ocorre o aumento da liberação de RANKL e MCSF e a diminuição da expressão de OPG (KOMORI, 2015), que resulta no aumento da osteoclastogênese, aumentando a remoção óssea. Isso é reforçado com o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como  $\text{TNF-}\alpha$  e IL-6, que atuam no recrutamento dos precursores de osteoclastos; e IL-1, que melhora o tempo de vida dos osteoclastos (BRIOT et al., 2017; KOMORI, 2015).

As mulheres no período pós-menopausa apresentam uma alta prevalência de diminuição da DMO, com predominância da osteopenia (65%), forma mais branda de perda óssea, que pode evoluir para osteoporose (12%) (FERNANDES et al., 2015). Essa alteração é diagnosticada principalmente pelo exame de densitometria por dupla emissão de raios-X, que mensura a DMO na coluna lombar ou fêmur, e seu resultado é apresentado por desvio padrão (índice T) comparado com a média para essa população. Desse modo, é possível classificar como osteopenia (índice T entre -1 e -2,5) e como osteoporose (índice T  $<$ -2,5) (HITA-CONTRERAS et al., 2015; TELLA; GALLAGHER, 2014).

A baixa massa óssea é uma característica da osteoporose, doença que têm apresentado acréscimo na prevalência, decorrente do aumento mundial no número de idosos (HITA-CONTRERAS et al., 2015; JI; YU, 2015). No Brasil, a osteoporose possui prevalência que varia de 6% a 33% e está associada ao aumento do risco de fraturas, que podem resultar desde a perda da mobilidade e de autonomia até o óbito (15% a 30% dos pacientes

com fratura de quadril). Ademais, possui um impacto importante sobre os gastos públicos, desde a utilização de fármacos que correspondem a 10,9% do total de gastos com medicamentos de alto custo, até os gastos com hospitalização, geralmente após fratura de fêmur (MARINHO et al., 2014).

O desenvolvimento ou agravamento da osteoporose são dependentes de diversos fatores além da deficiência estrogênica, como a genética (JI; YU, 2015; TELLA; GALLAGHER, 2014), outras alterações hormonais, o hormônio de crescimento, deficiência de vitamina D, estados catabólicos por condição inflamatória crônica e uso de medicamentos, como glicocorticoides (BRIOT et al., 2017; HITA-CONTRERAS et al., 2015). Além de fatores comportamentais, como fumo, nutrição, baixa ingestão de  $\text{Ca}^{++}$  e proteína, e baixo nível de atividade física (GOLOB; LAYA, 2015).

O tratamento da osteoporose pode ser dividido em intervenções farmacológicas e não-farmacológicas (GUPTA; MARCH, 2016; TELLA; GALLAGHER, 2014). As intervenções farmacológicas podem ser classificadas em fármacos com ação anti-reabsorção e anabólicos. Os fármacos de ação anti-reabsorção, como a terapia de reposição hormonal, bifosfonatos e denosumab, e catépsina K, impedem a reabsorção óssea, por lentificação da remodelação. Enquanto os fármacos que contêm agentes anabólicos, como o teriparatide, activina A e BMPs, estimulam a renovação óssea de forma relativamente rápida, promovendo inicialmente a formação óssea, seguido da reabsorção óssea mais lenta (IÑIGUEZ-ARIZA; CLARKE, 2015).

Na menopausa, a primeira terapia utilizada é a reposição hormonal; porém, essa pode estar relacionada ao câncer de mama, à doença cardíaca coronária, a acidentes vasculares cerebrais e a tromboembolismo. Dessa forma, a terapia deve ser utilizada observando os riscos e benefícios, considerando o complemento com outras terapias (JI; YU, 2015; KHALID; KRUM, 2016). Dentre as terapias não farmacológicas estão a redução dos fatores de risco modificáveis, com a ingestão ideal de  $\text{Ca}^{++}$  e proteínas, diminuição/ cessar de hábitos de fumar e ingestão de bebidas alcoólicas, pois esses produtos são prejudiciais para o esqueleto, bem como para a saúde geral (TELLA; GALLAGHER, 2014).

Além disso, outra medida é a realização regular de exercício físico para melhorar a densidade mineral óssea (GUPTA; MARCH, 2016), pois a

carga mecânica regula a remodelação óssea. Esse efeito é conhecido como a lei de Wolff, cujo estresse mecânico promove o aumento da massa óssea e a diminuição/ ausência do estímulo promove a remoção óssea (NYARY; SCAMMELL, 2012). Outra forma de aplicar carga mecânica sobre o tecido ósseo é por meio da terapia de vibração, cujos estímulos imitam o movimento e podem influenciar a função muscular, melhorar o equilíbrio e coordenação, além de poder atuar sobre a DMO (CERCIELLO et al., 2016; CORRIE et al., 2015; WEBER-RAJEK et al., 2015).

Na pesquisa experimental, o modelo de ooforectomia em ratas simula uma condição pós-menopausa, em que a repentina redução de estrogênio provoca perda óssea principalmente do osso esponjoso (AMUGONGO et al., 2015; KOMORI, 2015). Diante disso, é um modelo viável para o estudo de formas de tratamento para osteoporose.

### **Efeito do Estrogênio no Tecido Nervoso**

Os efeitos do estrogênio sobre o tecido nervoso ainda não são esclarecidos; todavia, há evidências que esse hormônio atua como neuroprotetor no SNC, pois possui capacidade antioxidante, reduz o edema, ativa vias antiapoptóticas e, assim, diminui a morte celular. Essas repercussões sobre o tecido nervoso começaram a ser investigadas a partir das diferenças das respostas entre homens e mulheres após lesão no SNC. E foi observado que as mulheres pré-menopausa apresentam menos danos neurológicos e melhor recuperação, porém, após a menopausa esses danos se equivalem ao dos homens (LEON et al., 2011).

O mecanismo de ação do estrogênio no SNC pode ocorrer por duas vias: genômica ou não genômica. Na via genômica, ocorre a ativação dos ERs ( $ER\alpha$  e  $ER\beta$ ) já localizados em neurônios no córtex e no hipocampo, tendo um longo período de latência e um efeito de duração prolongada (BAUDRY; BI; AGUIRRE, 2013). Já a via não genômica ocorre pela ativação de receptores de membrana, como os receptores acoplados à proteína G, com efeitos que ocorrem de forma rápida e a curto prazo. E a partir disso, segue por diversas vias intracelulares (LEON et al., 2011).

Além da função reprodutiva, o estrogênio pode atuar na modulação da dor (LIANG; YAO, 2016), tendo indícios que as mulheres sentem menos dor que os homens; porém, após a menopausa, elas apresentam maiores condições de dor crônica (AMANDUSSON; BLOMQVIST, 2013). Também foi observado que após lesão nervosa periférica em ratas, a ooforectomia promove hiperalgesia térmica e mecânica (SARAJARI; OBLINGER, 2010).

O estrogênio também pode influenciar a sobrevivência e migração neuronal (AMANDUSSON; BLOMQVIST, 2013) e atuar sobre a memória e aprendizagem, por a estrutura e função dos dendritos, ativando cascatas de sinalização anti-apoptótica. Pode regular a plasticidade sináptica, aumentando a transmissão sináptica e conseqüentemente atuando na potenciação de longa duração (BAUDRY; BI; AGUIRRE, 2013). Como também pode atuar como vasodilatador e aumentar a perfusão sanguínea do cérebro (AMANDUSSON; BLOMQVIST, 2013).

O efeito neuroprotetor do estrogênio também foi observado no estudo de LI et al. (2007), cuja aplicação de estrogênio exógeno após lesão medular crônica em ratas ooforectomizadas, minimizou as alterações patológicas e diminuiu a apoptose celular. Além disso, foi observado que esse hormônio também atua na formação da bainha de mielina, aumentando a proliferação das células de Schwann e oligodendrócitos e seus progenitores, assim como no aumento na síntese da proteína básica da mielina (AREVALO; SANTOS-GALINDO; BELLINI, 2010).

Apesar das evidências dos efeitos neuroprotetores sobre o tecido nervoso, essas influências são pouco exploradas no SNP. Estudos demonstram que a falta de estrogênio, que ocorre na menopausa, é um fator de risco para o desenvolvimento de lesão nervosa periférica, como a síndrome do túnel do carpo (KAPLAN; KURT; KARAER, 2008; THURSTON, 2013). Já que a prevalência de síndrome do túnel do carpo é quatro vezes maior nas mulheres pós-menopausa, do que nos homens (PADUA et al., 2016). Em estudo com ratas ooforectomizadas, observou-se que o estrogênio exógeno pode estimular a regeneração do nervo isquiático, após lesão por compressão, em ratas ooforectomizadas (ISLAMOV et al., 2002; ISLAMOV et al., 2003),

denotando um possível papel protetor, também sobre o nervo periférico, e com a menopausa esses efeitos podem ser revertidos.

A LNP, como na síndrome do túnel do carpo, é considerada multifatorial quanto a sua etiologia, tendo diversos fatores que podem provocar ou exacerbar os sintomas. Assim sendo, é necessário reconhecer os fatores de risco (THURSTON, 2013) e verificar a associação destes, para que sejam realizados programas de prevenção.

### **Efeitos da Vibração Mecânica Sobre os Tecidos Ósseo e Nervoso Periférico**

A vibração mecânica pode ser aplicada por meio de uma plataforma vibratória que produz estímulo mecânico caracterizado por oscilações, que se propagam por diversos tecidos pelo contato das extremidades distais dos segmentos corporais com o aparelho vibratório. Existem dois tipos principais de plataformas: as oscilatórias, que se movimentam verticalmente em torno de um eixo central; e as triplanares, que se movimentam de maneira uniforme em três planos, frontal, sagital e transversal. As plataformas vibratórias oscilatórias possuem maior adesão em clínicas de estética, enquanto as triplanares são mais utilizadas na área terapêutica, como forma de tratamento e prevenção de diversas condições, como a osteoporose (AMARAL; PÉRCORA, 2012).

Essa prática vem sendo estudada para a prevenção e tratamento de osteoporose (GNYUBKIN et al., 2016; WEBER-RAJEK et al., 2015; XU et al., 2016), o que se deve principalmente devido à função dos osteoblastos e osteócitos, que são capazes de responder à deformação óssea, transformando esse estímulo em respostas bioquímicas. Esse processo é chamado de mecanotransdução, e apesar do processo não estar totalmente esclarecido, sabe-se que pode ocorrer a partir do efeito piezoelétrico, pela abertura de canais iônicos, assim como pela estimulação de cílios, e das integrinas, proteínas do citoesqueleto que atuam como receptores na membrana, presentes nos osteócitos (ROSA et al., 2015).

A carga mecânica sobre o tecido pode gerar um potencial elétrico sobre a superfície, resultando na abertura dos canais iônicos dependentes de voltagem (efeito piezoelétrico), como os canais de  $\text{Ca}^{++}$ . Essa carga gera uma pequena deformação na matriz óssea, que pode deformar as integrinas, e assim induzir as respostas do núcleo celular. A deformação da matriz também produz uma pressão sobre o fluido intersticial em torno dos osteócitos, iniciando um fluxo entre as lacunas e canaliculos, que pode estimular os cílios, aumentando a expressão de prostaglandina E2 e a proporção de OPG/RANKL (ROSA et al., 2015).

Não há apenas uma única via de sinalização e, independente do mecanismo, está comprovado que o estímulo mecânico altera a produção de prostaglandina E2, que estimula a osteogênese e o recrutamento dos osteoblastos, bem como o óxido nítrico que inibe a formação dos osteoclastos, estimula a diferenciação dos osteoblastos e mantém a viabilidade dos osteócitos. Além disso, altera uma variedade de moléculas de sinalização, tais como BMPs, WNTs, que resultam no estímulo aos núcleos celulares para realizarem a transcrição e expressão de proteínas que modulam o recrutamento, a diferenciação e atividade dos osteoblastos e osteoclastos. Ocorre, com isso, o aumento da proporção de OPG/RANKL, redução da expressão de RANKL, e conseqüente redução no número de osteoclastos (KLEIN-NULEND et al., 2015).

A resposta das células ósseas à vibração é dependente dos parâmetros da magnitude/aceleração do pico (g), da amplitude ou deslocamento (mm), da frequência (Hz) e da duração da carga aplicada (meses/semanas) (DIONELLO et al., 2016; MOREIRA-MARCONI et al., 2016). Foram observados efeitos anabólicos da vibração sobre o tecido ósseo, com frequência entre 30 e 60 Hz (BUTEZLOFF et al., 2015; TAN et al., 2016; WEBER-RAJEK et al., 2015). Estudos mostram que a aplicação diária de vibração tem efeitos anabólicos em curtos períodos, entre 5 e 20 minutos (BUTEZLOFF et al., 2015; TAN et al., 2016; WEBER-RAJEK et al., 2015).

Já o tempo de duração da terapia, apesar de ser considerado como um importante parâmetro (FRATINI; BONCI, 2016), ainda é pouco explorado (MOREIRA-MARCONI et al., 2016). Estudos mostram que um período prolongado, durante 16 ou 32 semanas, pode agravar a deterioração

osteoporótica óssea e reduzir a carga máxima no teste de fratura sobre o fêmur ou não apresentar resultados significativos, respectivamente (SANTIN-MEDEIROS et al., 2015; XIE et al., 2016). Assim, é fundamental determinar protocolos eficazes e seguros durante uma exposição prolongada, pois esse estímulo pode ser nocivo ao tecido ósseo (CARDINALE; POPE, 2003).

Apesar de a vibração ser utilizada no tratamento para osteopenia e osteoporose, sabe-se que esse estímulo pode apresentar riscos ao corpo frequentemente vistos no meio ocupacional; contudo, pouco explorado na área terapêutica (CARDINALE; POPE, 2003). Sabe-se ainda que a vibração pode causar LNP, como na síndrome do túnel do carpo, doença ocupacional com alta prevalência (CHAMMAS, 2014; NEWINGTON; HARRIS; WALKER-BONE, 2015; PADUA et al., 2016).

A vibração pode causar danos ao nervo periférico, resultando em edema, aumento dos axônios mielinizados interrompidos e dilatação das arteríolas, como foi observado no estudo de Govindaraju et al. (2008), após vibração com frequência de 30, 120 ou 800 Hz, durante 4 horas contínuas. Os mecanismos desse tipo de lesão ainda não estão esclarecidos, mas é provável que seja pelos grandes deslocamentos que a vibração causa entre as vértebras. Isso pode resultar em degeneração vertebral, ruptura dos discos intervertebrais, e consequente herniação (PALMER; BOVENZI, 2015), que pode comprimir o nervo isquiático (STAFFORD; PENG; HILL, 2007).

Esse mecanismo de lesão foi observado em estudos experimentais, cuja vibração até mesmo durante curtos períodos, a partir de uma sessão, pode provocar o movimento de flexo-extensão da coluna cervical e diminuir o limiar nociceptivo (BAIG et al., 2013). Posteriormente, esses pesquisadores avaliaram o efeito da vibração em oito semanas, nos mesmo parâmetros do estudo anterior, e verificaram o aumento de fatores de crescimento nos discos intervertebrais (KARTHA; ZEEMAN; BAIG, 2015). Isso condiz com o mecanismo de lesão sugerido no estudo de Palmer e Bovenzi (2015).

Os efeitos sobre o tecido nervoso supracitados foram observados na baixa 15 Hz (BAIG et al., 2013; KARTHA; ZEEMAN; BAIG, 2015) e alta frequência 30 HZ (YAN et al., 2015), durante uma aplicação diária por 30 minutos (BAIG et al., 2013; KARTHA; ZEEMAN; BAIG, 2015) até 4 horas (YAN

et al., 2015). Esses parâmetros divergem no tempo de aplicação diário em comparação aos estudos que obtiveram efeitos anabólicos sobre o tecido ósseo. Isso demonstra que é necessário verificar os efeitos da vibração como forma terapêutica para melhorar a massa óssea, como em condições de privação hormonal. E investigar se nesses parâmetros haverá influência sobre o nervo periférico.



## REFERÊNCIAS

- ALLODI, I.; UDINA, E.; NAVARRO, X. Specificity of peripheral nerve regeneration: Interactions at the axon level. **Progress in Neurobiology**, v. 98, p. 16–37, jul. 2012. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22609046](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22609046)>. Acesso em: 15 jul. 2016.
- AL-SAFI, Z. A.; SANTORO, N. Menopausal hormone therapy and menopausal symptoms. **Fertility and Sterility**, v. 10, n. 4, p. 905-915, apr. 2014. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24613533](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24613533)>. Acesso em: 05 abr. 2016.
- AMANDUSSON, Å.; BLOMQUIST, A. Estrogenic influences in pain processing. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 34, p. 329–349, fev. 2013. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23817054](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23817054)>. Acesso em: 21 mar. 2017.
- AMARAL, P. C.; PÉRCORA, C. W. **Plataforma Vibratória: introdução do treinamento vibratório**. São Paulo, 2012.
- AMUGONGO, S. K.; YAO, W.; JIA, J.; LAY, Y. E.; DAI, W.; JIANG, L.; LI, C.; DAVE, N. K. N.; OLIVERA, D.; PANGANIBAN, B.; ROBERT, O.; LANE, N. E. Effects of sequential osteoporosis treatments on trabecular bone mass and strength in osteopenic rats sarah. **Osteoporosis International**, v. 25, n. 6, p. 1735–1750, jun. 2014. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4394748](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4394748)>. Acesso em: 15 jul. 2016.
- AREVALO, M.; SANTOS-GALINDO, M.; BELLINI, M. Actions of estrogens on glial cells : Implications for neuroprotection. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1800, p. 1106–1112, out. 2010. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19818384](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19818384)>. Acesso em: 21 mar. 2017.
- BAIG, H. A.; GUARINO, B. B.; LIPSCHUTZ, D.; WINKELSTEIN, B. A. Whole body vibration induces forepaw and hind paw behavioral sensitivity in the rat. **Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 31, n. 11, p. 1739–44, nov. 2013. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23832376](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23832376)>. Acesso em: 20 jul. 2016.
- BAUDRY, M.; BI, X.; AGUIRRE, C. Progesterone – estrogen interactions in synaptic plasticity and neuroprotection. **Neuroscience**, v. 239, p. 280–294, jun. 2013. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23142339](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23142339)>. Acesso em: 21 mar. 2017.
- BEMBEN, D. A.; PALMER, I. J.; BEMBEN, M. G.; KNEHANS, A. W. Effects of combined whole-body vibration and resistance training on muscular strength and bone metabolism in postmenopausal women. **Bone**, v. 47, n. 3, p. 650–656, set. 2010. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20601282](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20601282)>. Acesso em: 10 dez. 2016.

BIGNOTTI, B.; TAGLIAFICO, A.; MARTINOLI, C. Ultrasonography of Peripheral Nerves Anatomy and Pathology Peripheral nerve Ultrasonography Anatomy Pathology. **Ultrasound Clinic**, v. 9, p. 525–536, fev. 2014. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3675797](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3675797)>. Acesso em: 05 jun. 2016.

BRIOT, K. GEUSENS, P.; BULTINK, I. E.; LEMS, W. F.; ROUX, C. Inflammatory diseases and bone fragility. **Osteoporosis international**, v. 28, n. 12, p. 3301–3314, jun. 2017. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28916915](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28916915)>. Acesso em: 10 jan. 2018.

BUTEZLOFF, M. M.; ZAMARIOLI, A.; LEONI, G. B.; VOLPON, J. B. Whole-body vibration improves fracture healing and bone quality in rats with ovariectomy-induced osteoporosis. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 30, n. 11, p. 727–735, nov. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26647791](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26647791)>. Acesso em: 20 mar. 2016.

CAMPBELL, W. W. Evaluation and management of peripheral nerve injury. **Clinical neurophysiology**, v. 119, n. 9, p. 1951–1965, set. 2008. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18482862](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18482862)>. Acesso em: 09 set. 2016.

CARDINALE, M.; POPE, M. H. The effects of whole body vibration on humans: Dangerous or advantageous? **Acta Physiologica Hungarica**, v. 90, n. 3, p. 195–206, jun. 2003. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14594190](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14594190)>. Acesso em: 09 set. 2016.

CARSON, J. A.; MANOLAGAS S. C. Effects of sex steroids on bones and muscles: similarities, parallels, and putative interactions in health and disease. **Bone**, v. 80, p. 67-68, nov. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26453497](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26453497)>. Acesso em: 22 nov. 2016.

CARNESECCHI, J.; VANACKER, J. Estrogen-Related Receptors and the control of bone cell fate. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 432, p. 37–43, set. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26206717](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26206717)>. Acesso em: 04 abr. 2017.

CARVAJAL-LOHR, A.; FLORES-RAMOS, M.; MONTEJO, S. I. M.; VIDAL, C. G. M. Los trastornos de ansiedad durante la transición a la menopausia. **Perinatología y Reproducción Humana**, v. 30, n. 1, p. 39–45, jan/mar. 2016. Disponível em: <[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S018753371600011X](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S018753371600011X)>. Acesso em: 05 abr. 2016.

CERCIELLO, S.; ROSSI, S.; VISONÀ, E.; OLIVA, F. Clinical applications of vibration therapy in orthopaedic practice. **Muscles, Ligaments and Tendons Journal**, v. 6, n. 1, p. 147–156, maio 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27331044](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27331044)>. Acesso em: 22 abr. 2016.

CHAMMAS, M. Carpal tunnel syndrome. **Chirurgie de la Main**, v. 33, n. 2, p. 75–94, abr. 2014. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24646612](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24646612)>. Acesso em: 07 maio 2016.

CHANOU, K.; GERODIMOS, V.; KARATRANTOU, K.; JAMURTAS, A. Whole-body vibration and rehabilitation of chronic diseases : A review of the literature. **Journal of Sports Science and Medicine**, n. 11, p. 187–200, jun. 2012. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3737877/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3737877/)>. Acesso em: 07 ago. 2017.

CORRIE, H.; BROOKE-WAVELL, K.; MANSFIELD, N. J.; COWLEY, A.; MORRIS, R.; MASUD, T. Effects of vertical and side-alternating vibration training on fall risk factors and bone turnover in older people at risk of falls. **Age and Ageing**, v. 44, n. 1, p. 115–22, set. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25294839](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25294839)>. Acesso em: 07 ago. 2016.

DAAN, N. M. P.; FAUSER, B. C. J. M. Menopause prediction and potential implications. **Maturitas**, v. 82, p. 257-265, nov. 2015. Disponível em <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26278873](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26278873)>. Acesso em: 02 jul. 2016.

DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia Humana Básica**. 2ª edição. São Paulo: Atheneu. 2010.

DIONELLO, C. F.; SÁ-CAPUTO, D.; PEREIRA, H. V. F. S.; SOUZA-GONÇALVES, C. R.; MAIWORM, A. I.; MOREL, D. S.; MOREIRA-MARCONI, E. PAINEIRAS-GOMINGOS, L. L.; BEMBEN, D.; BERNARDO-FILHO, M. Effects of whole body vibration exercises on bone mineral density of women with postmenopausal osteoporosis without medications : novel findings and literature review. **Journal Musculoskelet Neuronal Interact**, v. 16, n. 3, p. 193–203, set. 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27609034](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27609034)>. Acesso em: 12 jan. 2017.

ENGLER-CHIURAZZI, E. B.; BROWN, C. M.; POVROZNIK, J. M.; SIMPKINS, J. W. Estrogens as neuroprotectants: Estrogenic actions in the context of cognitive aging and brain injury. **Progress in Neurobiology**, v. 157, p. 188–211, out. 2017. Disponível em:<[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26891883](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26891883)>. Acesso em: 05 jan. 2018.

FERNANDES, T. R. L.; OLIVEIRA, J. B.; LORENCETE, T. V.; AMADEI, J. L. Fatores associados à osteoporose em mulheres na pós-menopausa. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 36, n. 1, p. 93–106, jan/jun. 2015. Disponível em: <[www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/21035](http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/21035)>. Acesso em: 15 jul. 2016.

FRATINI, A.; BONCI, T.; J., B. A. M. Whole body vibration treatments in postmenopausal women can improve bone mineral density: results of a stimulus focussed meta-analysis. **PloS one**, v. 11, n. 12, p. 1–19, dez. 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5132247/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5132247/)>. Acesso em: 21 abr. 2017.

GNYUBKIN, V.; GUIGNANDON, A.; LAROCHE, N.; VANDEN-BOSSCHE, A.; MALAVAL, L.; VICO, L. High-acceleration whole body vibration stimulates cortical bone accrual and increases bone mineral content in growing mice.

**Journal of Biomechanics**, v. 14, n. 49, p. 1899–1908, jun. 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27178020](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27178020)>. Acesso em: 10 mar. 2017.

GOLOB, A. L.; LAYA, M. B. Screening, prevention, and management. **Osteoporosis**, v. 99, p. 587–606, maio 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25841602](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25841602)>. Acesso em: 18 maio 2016.

GOVINDARAJU, S. R.; CURRY, B. D.; BAIN, J. L. W.; RILEY, D. A. Nerve damage occurs at a wide range of vibration frequencies. **International Journal of Industrial Ergonomics**, v. 38, p. 687–692, set/out. 2008. Disponível em: <[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169814107001850](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169814107001850)>. Acesso em: 10 mar. 2017.

GUPTA, A.; MARCH, L. Treating osteoporosis. **Australian Prescriber**, v. 39, n. 2, p. 40–46, abr. 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4917632](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4917632)>. Acesso em: 15 maio 2016.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11 edição. Rio de Janeiro: Elsevier. 2006.

HAYLOCK-VIZE, P.; CHOI, D. Peripheral nerve lesions. **Surgery**, v. 33, n. 8, p. 377–383, ago. 2015. Disponível em: <[http://www.surgeryjournal.co.uk/article/S0263-9319\(15\)00095-2/fulltext](http://www.surgeryjournal.co.uk/article/S0263-9319(15)00095-2/fulltext)>. Acesso em: 15 jul. 2016.

HITA-CONTRERAS, F.; MARTÍNEZ-AMAT, A.; CRUZ-DÍAZ, D.; PÉREZ-LÓPEZ, F. R. Osteosarcopenic obesity and fall prevention strategies. **Maturitas**, v. 80, p. 126–132, nov. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25533145](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25533145)>. Acesso em: 15 jul. 2016.

HOFFMANN, D. B.; GRIESEL, M. H.; BROCKHUSEN, B.; TEZVAL, M.; KOMRAKOVA, M.; MENGER, B.; WASSMANN, M.; STUERMER, K. M.; SEHMISCH, S. Effects of 8-prenylnaringenin and whole-body vibration therapy on a rat model of osteopenia. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2016, p. 1-9, dez. 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26904278](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26904278)>. Acesso em: 01 jun. 2016.

IÑIGUEZ-ARIZA, N. M.; CLARKE, B. L. Bone biology, signaling pathways, and therapeutic targets for osteoporosis. **Maturitas**, v. 82, n. 2, p. 245–255, out. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26255682](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26255682)>. Acesso em: 14 abr 2016.

ISLAMOV, R. R.; HENDRICKS, W. A.; JONES, R. J.; LYALL, G. J.; SPANIER, N. S.; MURASHOV, A. K. 17 $\beta$ -Estradiol stimulates regeneration of sciatic nerve in female mice. **Brain Research**, v. 943, p. 283–286, set. 2002. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12101051](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12101051)>. Acesso em: 20 maio 2017.

ISLAMOV, R. R.; HENDRICKS, W. A.; KATWA, L. C.; MCMURRAY, R. J.; PAK, E. S.; SPANIER, N. S.; MURASHOV, A. K. Effect of 17 $\beta$ -estradiol on gene expression in lumbar spinal cord following sciatic nerve crush injury in

ovariectomized mice. **Brain**, v. 966, p. 65–75, dez. 2003. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12646309](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12646309)>. Acesso em: 20 maio 2017.

Jl, M.; YU, Q. Primary osteoporosis in postmenopausal women. **Chronic Diseases and Translational Medicine**, v. 1, p. 9–13, mar. 2015. Disponível em: <[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095882X15000079](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095882X15000079)>. Acesso em: 18 maio 2016.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

JUNQUEIRA, L. C.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas Básicas de Citologia e Histologia**. São Paulo: Santos, 1983.

KAPLAN, Y.; KURT, S. G.; KARAER, H. Carpal tunnel syndrome in postmenopausal women. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 270, p. 77–81, fev. 2008. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18325536](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18325536)>. Acesso em: 20 maio 2016.

KARTHA, S.; ZEEMAN, M. E.; BAIG, H. A. Upregulation of BDNF & NGF in Cervical Intervertebral discs exposed to painful whole body vibration. **Spine**, v. 39, n. 19, p. 1542–1548, set. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4149599](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4149599)>. Acesso em: 06 maio 2016.

KHALID, A. B.; KRUM, A. S. Estrogen receptors alpha and beta in bone. **Bone** v. 87, p. 130–135, jun. 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5336249](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5336249)>. Acesso em: 18 mar. 2017.

KLEIN-NULEND, J. OERS, R. F. M. V.; BAKKER, A. D.; BACABAC, R. G. Bone cell mechanosensitivity , estrogen deficiency , and osteoporosis. **Journal of Biomechanics**, v. 48, p. 855–865, mar. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25582356](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25582356)>. Acesso em: 09 abr. 2016.

KOMORI, T. Animal models for osteoporosis. **European Journal of Pharmacology**, v. 759, p. 287–294, jun. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25814262](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25814262)>. Acesso em: 15 jul. 2016.

KULKARNI, R. N.; VOGLEWEDE, P. A; LIU, D. Mechanical vibration inhibits osteoclast formation by reducing DC-STAMP receptor expression in osteoclast precursor cells. **Bone**, v. 57, n. 2, p. 493–498, dez. 2013. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23994170](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23994170)>. Acesso em: 09 abr. 2016.

LEON, R. L.; HUBER, J. D.; ROSEN, C. L.; VIRGINIA, W. Potential ad-dependent effects o estrogen on neural injury. **The American Journal of Pathology**, v. 178, n. 6, p. 2450–2460, jun. 2011. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21641373](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21641373)>. Acesso em: 20 maio 2017.

LI, Y.; WANG, S.; XIA, Y.; WANG, J.; PAN, W.; SHI, Y.; WANG, M. Neuroprotective effect of estrogen after chronic spinal cord injury in ovariectomized rats. **Neural Regeneration Research**, v. 2, n. 8, p. 471–474,

ago. 2007. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5567743](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5567743)>. Acesso em: 20 maio 2017.

LIANG, Y.; YAO, S. Potential role of estrogen in maintaining the imbalanced sympathetic and sensory innervation in endometriosis. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 424, p. 42–49, mar. 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26777300](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26777300)>. Acesso em: 20 maio 2017.

LIANG, Y. Q.; QI, M. C.; XU, J.; XU, J.; LIU, H. W.; DONG, W.; LI, J. Y.; HU, M. Low-magnitude high-frequency loading, by whole-body vibration, accelerates early implant osseointegration in ovariectomized rats. **Molecular Medicine Reports**, v. 10, n. 6, p. 2835–2842, dez. 2014. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4227418](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4227418)>. Acesso em: 15 maio 2016.

LOI, F.; CÓRDOVA, L. A.; PAJARINEN, J.; LIN, T. H.; YAO, Z.; GOODMAN, S. B. Inflammation, fracture and bone repair. **Bone**, v. 86, p. 119–130, maio 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26946132](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26946132)>. Acesso em: 19 jul. 2016.

MARINHO, B. C. G.; GUERRA, L. P.; DRUMMOND, J. B.; SILVA, B. C.; SOARES, M. M. S. The burden of osteoporosis in Brazil. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 58, n. 5, p. 434–443, jul. 2014. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25166033](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25166033)>. Acesso em: 15 jul. 2016.

MARTINS, R. S.; BASTOS, D.; SIQUEIRA, M. G.; HEISE, C. O.; TEIXEIRA, M. J. Traumatic injuries of peripheral nerves: a review with emphasis on surgical indication. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 71, n. 10, p. 811–814, out. 2013. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24212521](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24212521)>. Acesso em: 20 maio 2017.

MITCHELL, C. H.; FAYAD, L. M.; AHLAWAT, S. Magnetic Resonance Imaging of the Digital Nerves of the Hand: Anatomy and Spectrum of Pathology. **Current Problems in Diagnostic Radiology**, v. 47, p. 42–50, jan. 2018. Disponível em: <[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S036301881630161X](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S036301881630161X)>. Acesso em: 20 maio 2017.

MOREIRA-MARCONI, E.; DIONELLO, C. F.; DANIELLE, S. M.; SÁ-CAPUTO, D.; SOUZA-GONÇALVES, C. R.; PAINEIRAS-DOMINGOS, L. L.; GUEDES-AGUIAR, E. O.; MARIN, P. J.; CRUZ, B. P.; BERNARDO-FILHO, M. Could whole body vibration exercises influence the risk factors for fractures in women with osteoporosis? **Osteoporosis and Sarcopenia**, v. 2, n. 4, p. 214–220, dez. 2016. Disponível em: <[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405525516300589](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405525516300589)>. Acesso em: 20 maio 2017.

NAKASHIMA, T.; HAYASHI, M.; TAKAYANAGI, H. New insights into osteoclastogenic signaling mechanisms. **Trends in Endocrinology and**

**Metabolism**, v. 23, n. 11, p. 582–590, nov. 2012. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22705116](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22705116)>. Acesso em: 10 maio 2016.

NEWINGTON, L.; HARRIS, E. C.; WALKER-BONE, K. Carpal tunnel syndrome and work. **Best Practice Res Clin Rheumatology**, v. 29, n. 3, p. 440–453, maio 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4759938/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4759938/)>. Acesso em: 08 nov. 2016.

NYARY, T.; SCAMMELL, B. E. Principles of bone and joint injuries and their healing. **Orthopaedics I: General Principles**, v. 30, n. 2, p. 54–60, fev. 2012. Disponível em: <[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0263931911002444](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0263931911002444)>. Acesso em: 14 dez. 2016.

O'NEILL, S.; EDEN, J. The pathophysiology of menopausal symptoms. **Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine**, v. 24, n. 12, p. 349–356, mar. 2014. Disponível em: <[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751721411002272](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751721411002272)>. Acesso em: 18 maio 2016.

PADUA, L.; CORACI, D.; ERRA, C.; PAZZAGLIA, C.; PAOLASSO, I.; LORETI, C.; CALIANDRO, P.; HOBSON-WEBB, L. D. Carpal tunnel syndrome: clinical features, diagnosis, and management. **Lancet Neurology**, v. 15, p. 1273–1284, nov. 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27751557](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27751557)>. Acesso em: 07 mar. 2017.

PALMER, K. T.; BOVENZI, M. Rheumatic effects of vibration at work. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 29, p. 424–439, jun. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/26612239/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/26612239/)>. Acesso em: 18 maio 2016.

PLANEY, S. L.; KUMAR, R.; ARNOTT, J. A. Estrogen receptors (ER a versus ER b : friends or foes in human biology). **Journal of Receptors and Signal Transduction**, v. 38, n. 1, p. 1–5, fev. 2014. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24188405](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24188405)>. Acesso em: 06 fev. 2017.

PRIDEAUX, M.; FINDLAY, D. M.; ATKINS, G. Osteocytes: The master cells in bone remodelling. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 28, p. 24–30, jun. 2016. Disponível em: <[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471489216300091](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471489216300091)>. Acesso em: 19 jul. 2016.

RAJA, S.; CARLOS, A. J. Carpal tunnel syndrome e current controversies. **Orthopaedics and trauma**, v. 29, n. 4, p. 273–277, ago. 2015. Disponível em: <[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877132715000688](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877132715000688)>. Acesso em: 08 nov. 2016

REZNIKOV, N.; SHAHAR, R.; WEINER, S. Bone hierarchical structure in three dimensions. **Acta Biomaterialia**, v. 10, p. 3815–3826, set. 2014. Disponível

em: <[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706114002360](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706114002360)>. Acesso em: 24 jun. 2016.

RODRIGUEZ-MIGUELEZ, P. BARIOTO, J. G.; DIAS, D. V. Whole-body vibration improves the anti-inflammatory status in elderly subjects through toll-like receptor 2 and 4 signaling pathways. **Mechanisms of ageing and development**, v. 150, p. 12–19, ago. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26253933](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26253933)>. Acesso em: 22 abr. 2016.

ROSA, N.; SIMOES, R.; MAGALHÃES, F. D.; MARQUES, A. T. From mechanical stimulus to bone formation: A review. **Medical engineering & physics**, v. 37, n. 8, p. 719–728, ago. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26117332](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26117332)>. Acesso em: 15 maio 2016.

SANTIN-MEDEIROS, F.; SANTOS-LOZANO, A.; REY-LÓPEZ, J. B.; GARATACHEA, N. Effects of eight months of whole body vibration training on hip bone mass in older women. **Nutrición hospitalaria**, v. 31, n. 4, p. 1654–1659, abr. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25795954](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25795954)>. Acesso em: 15 maio 2016.

SARAJARI, S.; OBLINGER, M. M. Estrogen effects on pain sensitivity and neuropeptide expression in rat sensory neurons. **Experimental Neurology**, v. 224, p. 163–169, jul. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20303952>>. Acesso em: 06 fev. 2017.

SEDDON, H. J. Three types of nerve injury. **Brain**, v. 66, p. 237–288, dez. 1943. Disponível em: <[academic.oup.com/brain/article-abstract/66/4/237/323776?redirectedFrom=fulltext](http://academic.oup.com/brain/article-abstract/66/4/237/323776?redirectedFrom=fulltext)>. Acesso em: 06 fev. 2017.

SIMS, N. A.; VRAHNAS, C. Regulation of cortical and trabecular bone mass by communication between osteoblasts, osteocytes and osteoclasts. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 561, n. 1, p. 22–28, maio 2014. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24875146](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24875146)>. Acesso em: 20 maio 2016.

STAFFORD, M. A; PENG, P.; HILL, D. A. Sciatica: a review of history, epidemiology, pathogenesis, and the role of epidural steroid injection in management. **British journal of anaesthesia**, v. 99, n. 4, p. 461–473, out. 2007. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17704089](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17704089)>. Acesso em: 26 mar. 2017.

STEVENSON, J.; MARSH, M. **An Atlas of Osteoporosis**. New

Jersey: Parthenon Publishing Group Lda, 1992.

SUNDERLAND, S. Nerve and nerve injuries. 2ª edição. London: Churchill-Livingston, 1978. Disponível em: <[trove.nla.gov.au/work/11766765](http://trove.nla.gov.au/work/11766765)>. Acesso em: 06 fev. 2017.

TAKANO-YAMAMOTO, T. Osteocyte function under compressive mechanical force. **Japanese Dental Science Review**, v. 50, n. 2, p. 29–39, maio 2014.



Disponível em:

<[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1882761613000641?via%3Dihub](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1882761613000641?via%3Dihub)>  
. Acesso em: 22 abr. 2016.

TAN, L.; LI, Y. H.; DONG, X.; SHAO, B.; ZHU, D. Effect of 4-week whole body vibration on distal radius density. **Chinese Medical Sciences Journal**, v. 31, n. 2, p. 95–99, jun. 2016. Disponível em:

<[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28031097](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28031097)>. Acesso em: 07 fev. 2017.

TELLA, S. H.; GALLAGHER, J. C. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 142, p. 155–170, out. 2014. Disponível em:

<[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24176761](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24176761)>. Acesso em: 15 jul. 2016.

THURSTON, A. Carpal tunnel syndrome. **Orthopaedics and trauma**, v. 27, n. 5, p. 332–341, out. 2013. Disponível

em:<[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877132713000936](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877132713000936)>. Acesso em: 04 ago 2016.

WEBER-RAJEK, M.; MIESZKOWSKI, J.; NIESPODZIŃSKI, B.;

CIECHANOWSKA, K. Whole-body vibration exercise in postmenopausal osteoporosis. **Przegląd Menopauzalny**, v. 14, n. 1, p. 41–47, mar. 2015.

Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4440196](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4440196)>. Acesso em: 15 maio 2016.

WEI, Q.; HUANG, L.; CHEN, X. H.; WANG, H. B.; SUN, W. S.; LI, Z. Q.;

DENG, W. M. Effect of whole body vibration therapy on circulating serotonin levels in an ovariectomized rat model of osteoporosis. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 17, n. 1, p. 62–68, jan. 2014. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24592309>>. Acesso em: 01 jun. 2016.

XIE, P.; TANG, Z.; QING, F.; CHEN, X.; ZHU, X.; FAN, Y.; YANG, X. ZHANG, X. Bone mineral density, microarchitectural and mechanical alterations of osteoporotic rat bone under long-term whole-body vibration therapy. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 53, p. 341–349, set. 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26398779](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26398779)>. Acesso em:

22 abr. 2016.

XU, J.; LOMBARDI, G.; JIAO, W.; BANFI, G. Effects of exercise on bone status in female subjects , from young girls to postmenopausal women: an overview of systematic reviews and meta-analyses. **Sports Medicine**, v. 46, n. 8, p. 1165–1182, ago. 2016. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26856338](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26856338)>.

Acesso em: 07 fev. 2017.

YAN, J.-G.; ZHANG, L. L.; AGRETI, M.; LO GIUDICE, J.; SANGER, J. R.;

MATLOUB, H. S.; HAVLIK, R. Neural systemic impairment from whole-body vibration. **Journal of neuroscience research**, v. 93, n. 5, p. 736–44, maio 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25557339](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25557339)>. Acesso em:

07 abr. 2016.

ZHOU, Y.; GUAN, X.; LIU, T.; WANG, X.; YU, M.; YANG, G.; WANG, H. Whole body vibration improves osseointegration by up-regulating osteoblastic activity but down-regulating osteoblast-mediated osteoclastogenesis via ERK1/2 pathway. **Bone**, v. 71, p. 17–24, out. 2015. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25304090](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25304090)>. Acesso em: 22 abr. 2016.

**ARTIGO CIENTÍFICO 1****EFEITOS MORFOMÉTRICOS DA VIBRAÇÃO MECÂNICA NO  
FÊMUR DE RATAS OOFORECTOMIZADAS**

O artigo será submetido à revista Journal of Bone and Mineral Metabolism (normas Anexo B).

## **EFEITOS MORFOMÉTRICOS DA VIBRAÇÃO MECÂNICA NO FÊMUR DE RATAS OOFORECTOMIZADAS**

### **MORPHOMETRIC EFFECTS OF MECHANICAL VIBRATION IN THE FEMALE OF OOFORECTOMIZED RATS**

Camila Mayumi Martin Kakihata<sup>1</sup>, Ana Luiza Peretti<sup>1</sup>, Alana Ludemila de Freitas Tavares<sup>1</sup>, Maria Luiza Serradourada Wutzke<sup>1</sup>, Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro<sup>1,2</sup>, Rose Meire Costa Brancalhão<sup>1,2</sup>, Gladson Ricardo Flor Bertolini<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF), da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil

<sup>2</sup> Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional (LBEF) da UNIOESTE, Cascavel, PR, Brasil

Endereço para correspondência:

Gladson Ricardo Flor Bertolini

LELRF - UNIOESTE

Rua Universitária, 2069 – Jardim Universitário 85819-110. Cascavel, PR, Brasil.

Telefone/ Fax: 3220-3157 ou 3220-3236

E-mail: gladson\_ricardo@yahoo.com.br

## RESUMO

A terapia de vibração é utilizada no tratamento de osteoporose pós-menopausa; porém, não há consenso sobre os parâmetros, principalmente no tempo total do tratamento. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar os efeitos morfométricos da vibração mecânica durante 4 e 8 semanas sobre o fêmur de ratas *Wistar* ooforectomizadas. 64 ratas foram submetidas à ooforectomia ou pseudo-ooforectomia, e cada grupo foi randomizado em 4 (n=8/grupo) – eutanasiados na 12<sup>a</sup> semana, grupo não tratado e grupo tratado por 4 semanas; eutanasiados na 16<sup>a</sup> semana, grupo não tratado e grupo tratado por 8 semanas. O tratamento com vibração foi realizado durante 10 minutos/dia, frequência de 60 Hz, três dias/semana. Ao final, as ratas foram eutanasiadas e o fêmur direito foi dissecado. Posteriormente foram realizadas análises histomorfométricas na epífise proximal e diáfise, do osso esponjoso e cortical, respectivamente. Nos resultados, os grupos ooforectomia apresentaram diminuição do tecido ósseo esponjoso e cortical. A vibração nos grupos ooforectomizados levou ao aumento da massa óssea, sendo observado o aumento da porcentagem do tecido esponjoso, e aumento da espessura e porcentagem de tecido cortical. No entanto, as variáveis do diâmetro do colo do fêmur, área média da diáfise e número de osteócitos não foram alterados pela ooforectomia e vibração. Com isso, conclui-se que a vibração mecânica, foi eficaz no aumento da massa óssea do fêmur de ratas *Wistar* ooforectomizadas, observado pelo aumento da porcentagem do osso esponjoso e aumento da porcentagem e espessura do osso cortical.

**Palavras-chave:** ovariectomia; osteoporose pós-menopausa; vibração do corpo inteiro; osso cortical; osso esponjoso.

## INTRODUÇÃO

A população brasileira está em processo de envelhecimento e transição epidemiológica, resultando no aumento de doenças crônico-degenerativas [1], como a osteoporose. Essa doença é caracterizada pela diminuição da densidade mineral óssea (DMO) e, geralmente, sua primeira manifestação clínica são as fraturas [2], que podem diminuir a qualidade de vida ou até levar ao óbito, devido as suas complicações. Além disso, as fraturas osteoporóticas acarretam em impactos econômicos, como os gastos públicos com medicamentos e hospitalização [3, 4].

Na osteoporose, há um desequilíbrio entre a formação e a reabsorção óssea, e uma das causas é a deficiência estrogênica que ocorre no período pós-menopausa [4, 5]. As mulheres, nesse período, apresentam alta prevalência de diminuição da DMO, predominantemente no osso esponjoso, ocasionando com frequência a osteopenia (65%), forma mais branda de perda óssea, que pode evoluir para osteoporose (12%) [6, 7].

A diminuição da concentração de estrogênio resulta no aumento da diferenciação das células precursoras dos osteoclastos, processo denominado osteoclastogênese, por meio do aumento da expressão do receptor ativador do fator de transcrição nuclear Kapa B ligante (RANKL) pelos osteoblastos e osteócitos [5, 7, 8]. Dessa forma, apesar da preservação da funcionalidade das células ósseas, que promovem deposição (osteoblastos) e manutenção (osteócitos) da matriz óssea, verifica-se um aumento na sua reabsorção pelos osteoclastos [5, 9].

Além do estrogênio, a carga mecânica também regula a remodelação óssea, efeito conhecido como a lei de Wolff, ocorrendo o aumento da massa óssea nas áreas de estresse mecânico e a remoção em locais com pouco estímulo [10]. Uma das formas de submeter o tecido à carga mecânica é por meio da vibração, que pode ser aplicada pelo uso de plataforma vibratória [11]. Essa prática vem sendo amplamente estudada para a prevenção e tratamento de osteoporose [12, 13], pois o tecido ósseo é capaz de converter forças mecânicas externas em respostas bioquímicas, diminuindo a expressão de RANKL, o que inibe a diferenciação e a ativação dos osteoclastos [14].

A resposta das células ósseas à vibração é dependente dos parâmetros utilizados, como a frequência (Hz), magnitude/aceleração do pico

(G) amplitude ou deslocamento (mm) e a duração da carga aplicada (meses/semanas) [15, 16]. Para esses parâmetros, apesar de divergentes nos estudos, pesquisas mostram efeitos anabólicos da vibração em altas frequências, entre 30 e 60 Hz, e em curtos períodos de aplicação diária, entre 5 e 20 minutos [12, 17].

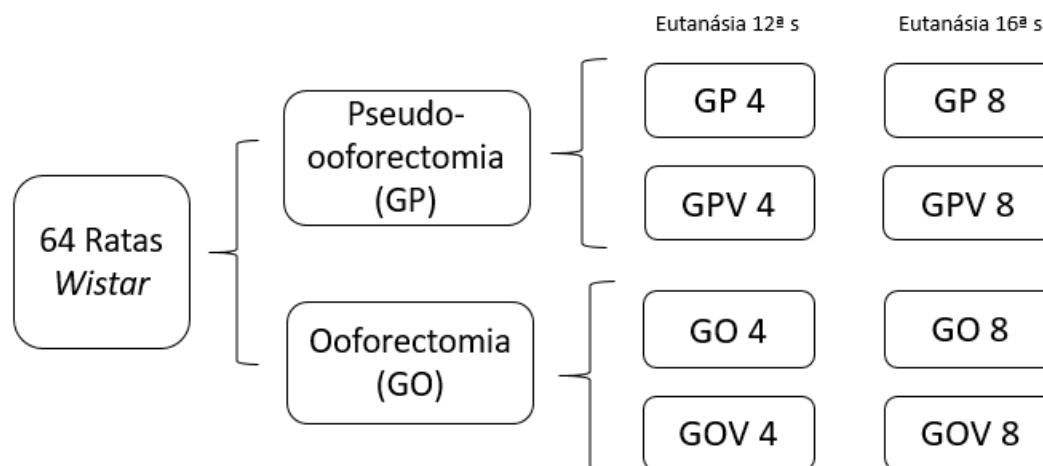
Já o tempo de duração da terapia, apesar de ser considerado como um importante parâmetro [18], ainda é pouco explorado [16]. E como é fundamental determinar protocolos eficazes e seguros durante uma exposição prolongada, pois esse estímulo pode ser nocivo ao tecido ósseo [19], torna-se relevante a realização de estudos que avaliem o efeito da vibração em diferentes períodos, sobre o tecido ósseo utilizando alta frequência.

Assim, o objetivo deste estudo foi analisar os efeitos morfométricos da vibração mecânica durante 4 e 8 semanas sobre o fêmur de ratas *Wistar* ooforectomizadas.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram utilizadas 64 ratas *Wistar*, nulíparas, com peso médio de 177,20  $\pm$  16,32 g e idade de 8 semanas, mantidas no Biotério Setorial do Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF), com condições controladas de temperatura a 24  $\pm$  1°C, fotoperíodo claro/escuro de 12 horas, com água e ração à vontade. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Unioeste (24/08/2016) (Anexo A), e todas as diretrizes institucionais e/ou nacionais aplicáveis para o cuidado e o uso dos animais foram seguidos, sendo conduzido segundo as Normas Internacionais de Ética em Experimentação Animal [20].

Os animais foram randomizados nos grupos pseudo-ooforectomia (GP) e ooforectomia (GO) (n=32/grupo). Posteriormente, cada grupo foi subdividido em 4 (n=8/grupo), os eutanasiados na 12<sup>a</sup> semana de experimento, não submetidos à vibração (denominação 4) ou submetidos a vibração (denominação V4), e os eutanasiados na 16<sup>a</sup> semana de experimento, não submetidos à vibração (denominação 8) ou submetidos à vibração (denominação V8) (Fig. 1).



**Fig. 1** – Divisão dos grupos amostrais. As ratas foram randomizadas igualmente nos grupos GP: pseudo-ooforectomizado; GO: ooforectomizados. Posteriormente cada grupo foi subdividido em quatro (n=8/grupo), os eutanasiados na 12ª semana de experimento, não submetidos a vibração (denominação 4) ou submetidos a vibração (denominação V4), e os eutanasiados na 16ª semana de experimento, não submetidos a vibração (denominação 8) ou submetidos a vibração (denominação V8).

Após uma semana de aclimação, os animais foram submetidos aos procedimentos de ooforectomia ou pseudo-ooforectomia com 8 semanas de idade [21], com protocolo de acordo com Khajuria, Razdan e Mahapatra [22], correspondendo ao primeiro dia de experimento.

Para a realização de tais procedimentos, as ratas foram pesadas e submetidas à anestesia intraperitoneal, 80 mg/kg de Dopalen® e 20 mg/kg de Anasedan® (Paulínia, São Paulo, Brasil). Para a ooforectomia, foi realizada uma incisão longitudinal na região do ventre para acessar a cavidade peritoneal, após a identificação das tubas uterinas e ovários, as regiões dos cornos uterinos foram suturadas com fio catgut 4.0 simples, e ambos os ovários foram ressecados. Após o procedimento, foram realizadas suturas internas com fio reabsorvível catgut 4.0 simples e as externas, com fio de nylon 4.0, e ao final as ratas foram alojadas individualmente em caixas de polipropileno por três dias para recuperação.

A pseudo-ooforectomia consistiu na realização de todas as etapas cirúrgicas semelhantes à ooforectomia, com exceção da remoção dos ovários, para submeter os animais ao mesmo estresse provocado pela cirurgia e isolar o efeito da privação hormonal de estrogênio. Subsequente à cirurgia de ooforectomia e pseudo-ooforectomia, as ratas permaneceram por 8 semanas



sem qualquer intervenção, livres na gaiola, para simular o período de privação hormonal.

Como forma de tratamento, a vibração foi aplicada por meio de uma plataforma comercial vibro oscilatória triplanar profissional, da marca Arktus® (Santa Tereza do Oeste, Paraná, Brasil). Utilizou-se um protocolo adaptado de Butezloff et al. [17] com frequência de 60 Hz por 10 minutos e vibrações com uma amplitude média de 2 milímetros, aplicado durante três dias por semana, intercalados, com descanso de dois dias ao final da semana. Entre os grupos, foi diferenciado o período total de tratamento, sendo aplicada por 4 semanas a partir da 9ª até a 12ª semana de experimento nos grupos GPV4 e GOV4, ou por 8 semanas a partir da 9ª até a 16ª semana de experimento nos grupos GPV8 e GOV8.

Foram posicionados 8 animais diretamente sobre a plataforma vibratória, separados por baias, que ficaram apoiadas no solo, sem contato com a plataforma vibratória, sendo a distância de 1,5 cm entre a plataforma e a base das baias. Cada baia apresentava dimensões de largura, comprimento e altura de 13x19x25 cm. Além disso, foi realizado um rodízio diário no posicionamento dos animais, no sentido horário e repetido até o final do período total de tratamento de cada grupo.

Ao final do período de tratamento, na 12ª ou 16ª semana, os animais foram devidamente eutanasiados por overdose de anestésico. Em seguida, os fêmures direitos foram coletados, fixados em solução de formol 10% por 24 horas e acondicionadas em álcool 70% até a descalcificação. Para esse procedimento, os fêmures foram lavados em água destilada e descalcificados em ácido tricloroacético 5% por 13 dias.

Após a descalcificação, foram realizados cortes transversais com navalha para separar a epífise proximal do fêmur, para análise do osso esponjoso, e a diáfise, para análise do osso cortical. As peças seguiram as etapas rotineiras para inclusão em parafina, em que foram desidratadas em séries crescentes alcólicas e diafanizadas em xilol. A partir de isso, seguiu-se a inclusão, obtenção de blocos de parafina, e cortes histológicos de sete micrômetros corados em hematoxilina e eosina (HE).

A porção da epífise proximal foi submetida a cortes frontais que foram fotomicrografadas em microscópio Olympus BX60® (Tóquio, Japão) com

objetiva de 4x, em um campo, para mensuração do diâmetro do colo do fêmur (no ponto médio). Também foram fotomicrografados, com objetiva de 10x, três campos (colo do fêmur, corpo e trocânter maior) para quantificação do osso esponjoso. Para tanto, foi sobreposto uma grade pelo programa Image Pro-Plus 6.0® (Rockville, Maryland, Estados Unidos da América) previamente calibrado, utilizando o protocolo modificado de Carvalho et al. [23], com 336 intersecções contando os pontos que se sobrepõem ao tecido esponjoso apresentando o resultado em porcentagem.

A diáfise foi submetida a cortes transversais que foram fotomicrografados em um campo com objetiva de 4x para mensuração da área externa do osso cortical (A) e área do canal medular (B). Esses dois valores foram subtraídos (A-B) para obter a área média do osso cortical. Além disso, foi quantificado da porcentagem do osso cortical por meio da seleção automática da imagem, dado pelo número de pixels, e, em seguida, foi realizada regra de três para obter a porcentagem. Ademais, foram fotomicrografados 4 campos equidistantes, com objetiva de 20x, para mensuração da espessura do osso cortical de acordo com o protocolo adaptado de Carvalho et al. [23], e para quantificação da porcentagem de osso cortical. Além disso, foi realizada a contagem do número de osteócitos em uma área de 100x200µm, com zoom de 100% no programa Image Pro-Plus 6.0®, incluindo os que estivessem tocando as bordas “de inclusão” (superior e esquerda) e excluindo os que tocassem as “bordas de exclusão” (inferior e direita).

Os resultados foram expressos por meio da estatística descritiva e analisados com auxílio do pacote ExpDes.pt do programa R (R Core Team, 2017). A normalidade foi avaliada por meio do teste de Shapiro Wilk, seguido da análise de variância de três vias, considerando as variáveis ooforectomia (submetido ao estímulo ou a pseudo-ooforectomia), vibração (submetido ao estímulo ou não) e tempo (4 ou 8 semanas de vibração/ período de eutanásia). Em caso de significância foi realizado pós teste Tukey-HSD. Foi considerado significativo para  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Na análise do diâmetro do colo femoral não houve influência da ooforectomia, vibração e do tempo, pois não houve interações e diferenças estatísticas significativas para as variáveis ooforectomia ( $F=1,5485$ ;  $p=0,2185$ ), vibração ( $F=0,00004$ ;  $p=0,9835$ ) e tempo ( $F=0,0045$ ;  $p=0,9465$ ) (Tabela 1).

Para a porcentagem de osso esponjoso, houve interação significativa entre ooforectomia e vibração ( $F=6,3217$ ;  $p=0,0148$ ). Ainda houve diferença significativa para o ooforectomia ( $F=20,9533$ ;  $p<0,05$ ), sendo observado que a ooforectomia promoveu diminuição da porcentagem do osso esponjoso, pois a média dos grupos GP4 e GP8 ( $\bar{x}=54,0068 \pm 5,25$ ) foi significativamente maior que GO4 e GO8 ( $\bar{x}=44,0193 \pm 5,67$ ). Também houve diferença para a variável vibração ( $F=4,2029$ ;  $p=0,045$ ), mostrando que vibração nos grupos ooforectomizados foi capaz de aumentar a porcentagem de osso esponjoso, visto que os grupos GOV4 e GOV8 ( $\bar{x}=50,4475 \pm 5,14$ ) apresentaram média significativamente maior que GO4 e GO8 ( $\bar{x}=44,0 \pm 5,67$ ) (Tabela 1). Além disso, não houve diferença significativa para o fator tempo ( $p=0,168$ ), denotando que a vibração independente do tempo, foi eficaz no aumento da porcentagem do osso esponjoso.

**Tabela 1** Mensurações da epífise proximal do fêmur de ratas *Wistar*

	Diâmetro do colo femoral ( $\mu\text{m}$ )	Osso esponjoso (%)
<b>GP4</b>	1.675,74 $\pm$ 124,99	54,29 $\pm$ 4,51 <sup>a</sup>
<b>GO4</b>	1.657,23 $\pm$ 258,25	44,80 $\pm$ 6,08 <sup>b</sup>
<b>GPV4</b>	1.524,19 $\pm$ 170,35	55,41 $\pm$ 7,84 <sup>a</sup>
<b>GOV4</b>	1.648,04 $\pm$ 180,74	51,24 $\pm$ 3,78 <sup>a</sup>
<b>GP8</b>	1.709,66 $\pm$ 260,81	53,71 $\pm$ 6,2 <sup>a</sup>
<b>GO8</b>	1.701,65 $\pm$ 216,56	43,23 $\pm$ 5,53 <sup>b</sup>
<b>GPV8</b>	1.616,29 $\pm$ 209,29	51,29 $\pm$ 3,24 <sup>a</sup>
<b>GOV8</b>	1.647,89 $\pm$ 137,79	49,64 $\pm$ 6,4 <sup>a</sup>

Valores representados pela média  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p<0,05$ ). GP4 e GP8: grupos pseudo-ooforectomia de 4 e 8 semanas; GO4 e GO8: grupos ooforectomia de 4 e 8 semanas; GPV4 e GPV8: grupos pseudo-ooforectomia tratados em 4 e 8 semanas; GOV4 e GOV8: grupos ooforectomia tratados em 4 e 8 semanas.  $\mu\text{m}$ : micrômetros; %: porcentagem.

Na quantificação da área média do osso cortical, não houve interações e diferenças estatísticas significativas para as variáveis cirurgia ( $F=4,0679$ ;

$p > 0,05$ ), vibração ( $F=7,3062$ ;  $p > 0,05$ ) e tempo ( $F=0,0615$ ;  $p=0,805$ ) (Tabela 2). Isso demonstra que a ooforectomia e a vibração não influenciaram sobre essa variável.

Já para a espessura do osso cortical houve interação entre a ooforectomia e a vibração ( $F=22,5374$ ;  $p < 0,05$ ). Também houve diferença para a variável ooforectomia ( $F=21,9412$ ;  $p < 0,05$ ), cujos resultados indicaram que a ooforectomia promoveu diminuição da espessura do osso cortical, visto que a média de GP4 e GP8 ( $\bar{x}=434,62 \pm 31,34$ ) foi significativamente maior que GO4 e GO8 ( $\bar{x}=368,73 \pm 32,21$ ). Houve também diferença para a vibração ( $F=21,1764$ ;  $p < 0,05$ ); porém, não houve diferença estatística significativa para a variável tempo ( $F=0,0304$ ;  $p=0,8621$ ), sendo observado que a vibração, independente do tempo, promoveu aumento da espessura do osso cortical, observado pelos valores de GOV4 e GOV8 ( $\bar{x}=434,04 \pm 20,25$ ) que apresentaram média significativamente maior que GO4 e GO8 ( $\bar{x}=368,73 \pm 32,21$ ) (Tabela 2).

O mesmo ocorreu para a porcentagem do osso cortical, pois houve diferença estatística significativa para o fator vibração ( $F=23,204$ ;  $p < 0,05$ ), sendo observado nos grupos que não fizeram vibração que a ooforectomia teve efeitos catabólicos promovendo a diminuição do osso cortical, pois a média dos grupos GP4 e GP8 ( $\bar{x}=29,7537 \pm 1,59$ ) foi significativamente maior que GO4 e GO8 ( $\bar{x}=27,0106 \pm 2,71$ ). Além do mais, houve diferença entre os grupos que foram submetidos à vibração, sendo os grupos GOV4 e GOV8 ( $\bar{x}=32,5587 \pm 3,01$ ) obtiveram média maior que GPV4 e GPV8 ( $\bar{x}=30,4506 \pm 2,79$ ), demonstrando que a vibração promoveu aumento do osso cortical, superando os valores do pseudo-ooforectomia. Isso também foi observado pela interação entre as variáveis vibração e cirurgia ( $F=14,0025$ ;  $p=0,000004$ ), com diferença ao comparar os grupos ooforectomizados, sendo que GOV4 e GOV8 ( $\bar{x}=32,5587 \pm 3,01$ ) apresentaram média maior que GO4 e GO8 ( $\bar{x}=27,0106 \pm 2,71$ ) (Tabela 2). Não houve diferença estatística significativa para a variável tempo ( $p=0,4517$ ). Assim, foi possível constatar que a vibração, independente do tempo, foi capaz de aumentar a porcentagem do osso cortical, com valores maiores que os grupos pseudo-ooforectomia submetidos a vibração.

Já para o número de osteócitos, não houve influência da ooforectomia e vibração, pois não houve interações e diferenças estatísticas considerando

as variáveis cirurgia ( $F=0,7794$ ;  $p=0,3811$ ), vibração ( $F=3,8339$ ;  $p=0,0552$ ) e tempo ( $F=2,058$ ;  $p=0,157$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2** Mensurações do osso cortical da diáfise do fêmur de ratas *Wistar*

	Área ( $\mu\text{m}$ )	Espessura ( $\mu\text{m}$ )	Porcentagem (%)	Osteócitos ( $n^\circ$ )
<b>GP4</b>	2.779,96 $\pm$ 653,89	438,13 $\pm$ 14,73 <sup>a</sup>	30,07 $\pm$ 2,09 <sup>b</sup>	32,99 $\pm$ 3,54
<b>GO4</b>	2.418,89 $\pm$ 416,91	368,83 $\pm$ 31,12 <sup>b</sup>	26,52 $\pm$ 3,56 <sup>c</sup>	33,21 $\pm$ 3,6
<b>GPV4</b>	3.076,12 $\pm$ 187,29	433,83 $\pm$ 24,26 <sup>a</sup>	31,6 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>	30,84 $\pm$ 4,74
<b>GOV4</b>	2.871,99 $\pm$ 341,91	431,64 $\pm$ 13,3 <sup>a</sup>	32,57 $\pm$ 3,19 <sup>a</sup>	29,56 $\pm$ 2,81
<b>GP8</b>	2.810,3 $\pm$ 685,08	431,11 $\pm$ 43,12 <sup>a</sup>	29,44 $\pm$ 0,92 <sup>b</sup>	31,62 $\pm$ 2,65
<b>GO8</b>	2.469,64 $\pm$ 396,42	367,37 $\pm$ 22,19 <sup>b</sup>	27,5 $\pm$ 1,59 <sup>c</sup>	30,68 $\pm$ 6,94
<b>GPV8</b>	2.71,67 $\pm$ 399,77	433,37 $\pm$ 22,19 <sup>a</sup>	29,31 $\pm$ 3,43 <sup>b</sup>	30,03 $\pm$ 5,16
<b>GOV8</b>	2.938,28 $\pm$ 319,07	436,45 $\pm$ 26,23 <sup>a</sup>	32,55 $\pm$ 3,05 <sup>a</sup>	28,21 $\pm$ 5,22

Valores representados pela média  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p<0,05$ ). GP4 e GP8: grupos pseudo-ooforectomia de 4 e 8 semanas; GO4 e GO8: grupos ooforectomia de 4 e 8 semanas; GPV4 e GPV8: grupos pseudo-ooforectomia tratados em 4 e 8 semanas; GOV4 e GOV8: grupos ooforectomia tratados em 4 e 8 semanas.  $\mu\text{m}$ : micrômetros; %: porcentagem;  $n^\circ$ : número.

## DISCUSSÃO

No presente estudo, a ooforectomia promoveu sobre o fêmur a diminuição da massa óssea, demonstrada pela diminuição da porcentagem tanto do tecido ósseo esponjoso, como cortical, corroborado pela diminuição da espessura da diáfise do fêmur. Nesta pesquisa, foi utilizado o modelo de ooforectomia em ratas, que é bem estabelecido e comumente utilizado para simular a perda óssea que ocorre no período pós-menopausa [23, 24].

A diminuição da massa óssea e da resistência do tecido decorrente da ooforectomia já foi constatada em estudos experimentais [17, 25, 26], e pode ser causada pela perda dos efeitos do estrogênio, pois há presença de receptores de estrogênio (ER) nos osteoblastos e osteócitos, cuja ativação diminui a diferenciação e promove a apoptose dos osteoclastos [27, 28]. Assim, com a ooforectomia, ocorre o aumento da atividade dos osteoclastos, resultando em perda óssea.

Neste estudo, a perda óssea foi tratada com plataforma vibratória triplanar comercial. Outros estudos experimentais já utilizaram plataformas

comerciais [26, 29, 30], sendo o modelo de vibração triplanar, o que possui maior adesão na área terapêutica, pois vibra de maneira uniforme nos três planos: frontal, sagital e transversal [11]. Apesar das plataformas serem utilizadas no campo terapêutico, apresentam diferenças na amplitude e na aceleração máxima da vibração nos diferentes pontos da plataforma [32]. Dessa forma, foi realizado um rodízio diário no posicionamento dos animais para que estes passassem por todos os pontos da plataforma, reduzindo as diferenças da vibração recebida em cada ponto.

O uso da vibração durante 4 e 8 semanas, nesta pesquisa, promoveu o aumento da massa óssea nos grupos ooforectomizados, com efeito sobre as mesmas variáveis que sofreram modificações pela ooforectomia. Houve aumento da porcentagem tanto do tecido ósseo esponjoso como cortical quanto da espessura da diáfise do fêmur.

Isso ocorreu, provavelmente, pelo mecanismo de mecanotransdução, processo em que os osteócitos atuam como receptores de carga mecânica, transformando este estímulo em uma resposta bioquímica. Esse processo não está totalmente esclarecido, mas sabe-se que pode ocorrer de três formas. A tensão mecânica sobre o tecido pode gerar um potencial elétrico, resultando na abertura de canais iônicos (efeito piezoelétrico), bem como a compressão da matriz óssea pode gerar um fluxo nos canalículos e lacunas, estimulando os cílios presentes nos osteócitos. Além disso, pode ocorrer pela transferência de forças sobre as integrinas, proteínas do citoesqueleto que atuam como receptores na membrana [33].

Independente do mecanismo, está comprovado que o estímulo mecânico altera a produção de prostaglandinas E2 e óxido nítrico e uma variedade de moléculas de sinalização, tais como as proteínas morfogenéticas do osso e WNTs. Isso resulta no estímulo aos núcleos celulares para realizarem a transcrição e a expressão de proteínas que modulam o recrutamento, a diferenciação e a atividade dos osteoblastos e osteoclastos. Assim, ocorre o aumento da proporção de OPG/RANKL, redução da expressão de RANKL, e conseqüente redução no número de osteoclastos [34].

Essa forma de terapia vem sendo estudada com relação aos seus efeitos sobre o tecido ósseo; contudo, os parâmetros apresentam divergências entre as pesquisas [16, 17]. Dentre as variáveis, a dose cumulativa, ou seja, o

tempo total de exposição à vibração, que também leva em consideração o número de sessões semanais, é um parâmetro importante sobre o efeito da vibração [18]. Apesar disso, há poucas pesquisas com enfoque na influência do tempo da terapia [16].

No estudo de Butezloff et al., a vibração realizada em ratas ooforectomizadas, submetidas à fratura de fêmur, aumentou a densidade óssea em 27%. Foram utilizados como parâmetros a aplicação por 20 minutos, durante 2 e 4 semanas, e assim como no presente estudo, frequência de 60 Hz, 3 vezes por semana [17]. Esses dados demonstram que a baixa dose cumulativa, com pequena frequência semanal e determinada duração total da terapia, pode apresentar efeitos anabólicos sobre o tecido ósseo em ratas ooforectomizadas, como o que foi observado no presente estudo.

Ainda no estudo de Butezloff et al. [17] foi observado que a vibração não afetou significativamente o tecido ósseo das ratas não ooforectomizadas. Isso também foi observado no presente estudo, sendo que a média da porcentagem do tecido cortical nos grupos ooforectomizados foi superior aos grupos pseudo-ooforectomizados submetidos à vibração, sugerindo que a resposta de mecanotransdução pode ser influenciada pela alteração óssea decorrente da ooforectomia.

Já no estudo de Xie et al., foi analisado o efeito da vibração em ratas ooforectomizadas, com magnitude de 0,3 G, frequência de 30 Hz, aplicado por 20 minutos, todos os dias, verificado até 16 semanas. Constataram que, quanto maior o tempo administrado, menor era a DMO, afetando predominantemente o osso esponjoso, e que a vibração a partir da 4ª e 8ª semanas diminuiu a DMO no colo do fêmur. Assim, sugeriram que a duração do estímulo, nos parâmetros utilizados, foi um fator relevante sobre a massa óssea, e que a exposição prolongada tem potencial para causar danos ao tecido [27].

No estudo de Jagt et al., a vibração em 45 Hz, 5 dias/ semana, 2 vezes de 8 minutos, durante 3, 6 ou 10 semanas, não teve efeitos sobre o tecido ósseo [35]. Apesar do estímulo não ser utilizado todos os dias, não foi eficaz no tratamento da perda de massa óssea, possivelmente devido a longa duração do tratamento e alto tempo de exposição diário.

No estudo de Liang et al., por sua vez, foi observado efeitos limitados da vibração sobre o fêmur de ratas ooforectomizadas, utilizando alta frequência

(45Hz) e baixa magnitude (0,2 G), 30 minutos todos os dias, durante 4 semanas [26]. Embora tenham aplicado a vibração por um tempo total menor, a vibração aumentou a massa óssea, mas ainda apresentou diferenças em relação ao controle, possivelmente pela alta frequência semanal e o tempo diário.

É possível que a divergência desses estudos com a presente pesquisa seja pela relação do tempo de aplicação diária e semanal do estímulo vibratório, além da duração do tratamento. Assim, são necessários mais estudos que avaliem a relação da dose cumulativa e se existe a preponderância de algum dos fatores, para garantir a eficiência e segurança da aplicação desta terapia.

Neste estudo, apesar dos resultados significativos da vibração tanto em 4 como em 8 semanas de vibração, nem todas as variáveis foram afetadas. O diâmetro do colo do fêmur não foi modificado; porém, foi mensurada a porcentagem de tecido trabecular nesta região, que apresentou aumento ao final dos protocolos de vibração. A área média da diáfise e número de osteócitos avaliados no osso cortical também não foram alterados, possivelmente devido às características desse tecido, que precisa manter a força e resistência, respondendo de forma mais branda à remodelação, quando comparada ao osso trabecular [36]. Conclusões mais aprofundadas poderão ser obtidas com a avaliação de marcadores bioquímicos de crescimento ósseo, como OPG e proporção RANK/RANKL, por técnicas como imunohistoquímica e Western Blot, sendo estas sugestões para futuros estudos.

Assim, conclui-se que a vibração mecânica durante 4 e 8 semanas promoveu aumento da massa óssea do fêmur de ratas Wistar ooforectomizadas, observado pelo aumento da porcentagem do osso esponjoso e aumento da porcentagem e espessura do osso cortical, todavia, sem alteração da espessura do colo do fêmur, área média da diáfise e do número de osteócitos.

## **Agradecimentos**

À Unioeste e ao Mestrado de Biociências e Saúde pelo suporte para a realização desta pesquisa.



## Conflito de interesse

Todos os autores declararam não ter conflitos de interesse.

## REFERÊNCIAS

- [1] Revatti LR, Borges GM, Jardim AP (2015) Mudança demográfica no Brasil no início do século XXI: subsídios para as projeções da população. Rio de Janeiro: IBGE.
- [2] Radominski CS, Bernardo W, Paula A, Albergaria B, Moreira C, et al. (2017) Diretrizes brasileiras para o diagnóstico e tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa. *Rev Bras Reumatol* 7:452–466.
- [3] Hita-Contreras F, Martínez-Amat A, Cruz-Díaz D, Pérez-López FR (2015) Osteosarcopenic obesity and fall prevention strategies. *Maturitas* 80:126–132.
- [4] Marinho BCG, Guerra LP, Drummond JB, Silva BC, Soares MMS (2014) The burden of osteoporosis in Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 58:434–443.
- [5] Tella SH, Gallagher JC (2014) Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem* 142:155-170.
- [6] Fernandes TRL, Oliveira JB, Lorencete TV, Amadei JL (2015) Fatores associados à osteoporose em mulheres na pós-menopausa. *Semina: Ciênc Biol Saúde* 36:93–106.
- [7] Ji M, Yu Q (2015) Primary osteoporosis in postmenopausal women. *Chronic Dis Transl Med* 1:9–13.
- [8] Nakashima T, Hayashi M, Takayanagi H (2012) New insights into osteoclastogenic signaling mechanisms. *Trends Endocrinol Metab* 23:582-590.
- [9] Walsh JS (2015) Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. *Basic Sci* 33:1–6.
- [10] Nyary T, Scammell BE (2012) Principles of bone and joint injuries and their healing. *Orthop I Gen Princ* 30:54–60.
- [11] P. C. Amaral, C. W. Pércora (2012) Plataforma Vibratória: introdução do treinamento vibratório. São Paulo.
- [12] Weber-Rajek M, Mieszkowski J, Niespodziński B, Ciechanowska K (2015) Whole-body vibration exercise in postmenopausal osteoporosis. *Prz Menopauzalny* 14:41–47.

- [13] Xu J, Lombardi G, Jiao W, Banfi G (2016) Effects of exercise on bone status in female subjects, from young girls to postmenopausal women: an overview of systematic reviews and meta-analyses. *Sport Med* 46:1165–1182.
- [14] Kulkarni RN, Voglewede P, Liu D (2013) Mechanical vibration inhibits osteoclast formation by reducing DC-STAMP receptor expression in osteoclast precursor cells. *Bone* 57:493–498.
- [15] Dionello CF, Sá-Caputo D, Pereira HVFS, Souza-Gonçalves CR, Maiworm AI, Morel DS, Moreira-Marconi E, Paineiras-Domingos LL, Bembem D, Bernardo-Filho M (2016) Effects of whole body vibration exercises on bone mineral density of women with postmenopausal osteoporosis without medications: novel findings and literature review. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 16:193–203.
- [16] Moreira-Marconi E, Dionello CF, Danielle SM, Sá-Caputo D, Souza-Gonçalves CR, Paineiras-Domingos LL, Guedes-Aguiar EO, Marin PJ, Cruz BP, Bernardo-filho M (2016) Could whole body vibration exercises influence the risk factors for fractures in women with osteoporosis? *Osteoporosis and Sarcopenia* 2:214–220.
- [17] Butezloff MM, Zamarioli A, Leoni GB, Volpon JB (2015) Whole-body vibration improves fracture healing and bone quality in rats with ovariectomy-induced osteoporosis. *Acta Cirúrgica Bras* 30:727–735.
- [18] Fratini A, Bonci T, Bull AMJ (2016) Whole body vibration treatments in postmenopausal women can improve bone mineral density: results of a stimulus focussed meta-analysis. *PLoS One* 11:e0166774.
- [19] Cardinale M, Pope MH (2003) The effects of whole body vibration on humans: Dangerous or advantageous? *Acta Physiol Hung* 90:195–206.
- [20] Andersen ML, D’Almeida V, Ko GM, Kawakami R, Martins PJ, Magalhães LE, Tufik D (2004) Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. São Paulo: UNIFESP.
- [21] Behr GA, Schnorr CE, Moreira JCF (2012) Increased blood oxidative stress in experimental menopause rat model: in bilateral ovariectomized rats. *Fundam Clin Pharmacol* 26: 235–249.
- [22] Khajuria DK, Razdan R, Mahapatra DR (2012) Descrição de um novo método de ooforectomia em ratas. *Rev Bras Reumatol* 52:466–470.
- [23] Carvalho ACB, Henriques HN, Pantaleão JAS, Pollastri CE, Vicentis GOF, Granjeiro JM, Guzmán-Silva MA (2010) Histomorfometria do tecido ósseo em ratas castradas tratadas com tibolona. *J Bras Patol e Med Lab* 46:235–243.

- [24] Amugongo SK, Yao W, Jia J, Lay YE, Dai W, Jiang L, Li C, Dave NKN, Olivera D, Panganiban B, Robert O, Lane NE (2015) Effects of sequential osteoporosis treatments on trabecular bone mass and strength in osteopenic rats. *Osteoporos Int* 25:1735–1750.
- [25] T. Komori (2015) Animal models for osteoporosis. *Eur J Pharmacol* 759:287–294.
- [26] Liang YQ, Qi MC, Xu J, Xu J, Liu HW, Dong W, Li JY, Hu M (2014) Low-magnitude high-frequency loading, by whole-body vibration, accelerates early implant osseointegration in ovariectomized rats. *Mol Med Rep* 10:2835–2842.
- [27] Xie P, Tang Z, Qing F, Chen X, Zhu X, Fan Y, Yang X, Zhang X (2016) Bone mineral density, microarchitectural and mechanical alterations of osteoporotic rat bone under long-term whole-body vibration therapy. *J Mech Behav Biomed Mater* 53:341–349.
- [28] Khalid AB, Krum AS (2016) Estrogen receptors alpha and beta in bone. *Bone* 87:130–135.
- [29] Carnesecchi J, Vanacker J (2015) Estrogen-related receptors and the control of bone cell fate. *Mol Cell Endocrinol* 432:37–43.
- [30] Brouwers JEM, Rietbergen BV, Ito K, Huiskes R (2010) Effects of vibration treatment on tibial bone of ovariectomized rats analyzed by in vivo micro-CT. *J Orthop Res* 28:62–69.
- [31] Chen GX, Zheng X, Qin X, Zhong ZM, Wu XH, Huang ZP, Li W, Ding RT, Yu H, Chen JT (2014) Effect of low-magnitude whole-body vibration combined with alendronate in ovariectomized rats: a random controlled osteoporosis prevention study. *PLoS One* 9:e96181.
- [32] Alizadeh-Meghbrazi M, Zariffa J, Masani K, Popovic MR, Craven BC (2014) Variability of vibrations produced by commercial whole-body vibration platforms. *J Rehabil Med* 46:937–940.
- [33] Rosa N, Simoes R, Magalhães FD, Marques AT (2015) From mechanical stimulus to bone formation: A review. *Med Eng Phys* 37:719–728.
- [34] Klein-nulend, Oers RFMV, Bakker AD, Bacabac RG (2015) Bone cell mechanosensitivity, estrogen deficiency, and osteoporosis. *J Biomech* 48:855–865.
- [35] Jagt OPVD, Linden JCVD, Waarsing JH, Verhaar JAN, Weinans H (2012) Low-magnitude whole body vibration does not affect bone mass but does affect weight in ovariectomized rats. *J Bone Miner Metab* 30:40–46.
- [36] Iñiguez-Ariza NM, Clarke BL (2015) Bone biology, signaling pathways, and therapeutic targets for osteoporosis. *Maturitas* 82 (2): 245–255.

**ARTIGO CIENTÍFICO 2**  
**EFEITOS MORFOLÓGICOS E NOCICEPTIVOS DA VIBRAÇÃO**  
**MECÂNICA NO NERVO ISQUIÁTICO DE RATAS *WISTAR***  
**OOFORECTOMIZADAS**

O artigo será submetido à revista Motriz (normas Anexo C).

**Efeitos morfológicos e nociceptivos da vibração mecânica no nervo isquiático de ratas *wistar* ooforectomizadas**

**Morphological and nocceptive effects of mechanical vibration on the sciatic nerve of wistar rats ooforectomized**

Camila Mayumi Martin Kakihata, Ana Luiza Peretti, Maria Luiza Serradourada Wutzke, Alana Ludemila de Freitas Tavares, Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro, Rose Meire Costa Brancalhão, Gladson Ricardo Flor Bertolini.

Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Mestrado de Biociências e Saúde, Cascavel, PR, Brasil

Endereço para correspondência:

Gladson Ricardo Flor Bertolini

Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos da UNIOESTE  
Rua Universitária, 2069 – Jardim Universitário 85819-110. Cascavel, PR, Brasil.

Telefone/ Fax: 3220-3157 ou 3220-3236

E-mail: gladson\_ricardo@yahoo.com.br

**Resumo - Objetivo:** Analisar os efeitos da vibração mecânica sobre o nervo isquiático de ratas Wistar ooforectomizadas, em parâmetros nociceptivos e morfológicos. **Métodos:** foram utilizadas 64 ratas aleatorizadas nos grupos ooforectomia e pseudooforectomia (n=32/grupo), após os procedimentos cirúrgicos cada grupo foi subdividido em 4 - eutanasiados na 12ª semana, grupo não tratado e grupo tratado por 4 semanas; eutanasiados na 16ª semana, grupo não tratado e grupo tratado por 8 semanas. O tratamento com vibração foi realizado com frequência de 60 Hz, por 10 minutos, três dias por semana, com duração de 4 ou 8 semanas. Foi avaliada a nocicepção da pata posterior direita, por meio de um analgesímetro digital, prévio à cirurgia, ao início e ao término do protocolo de vibração. Após o período experimental foi dissecado o nervo isquiático para análise da morfologia geral do tecido e para análise morfométrica, e posteriormente os animais foram eutanasiados. Foram mensurados em 100 fibras nervosas o diâmetro da fibra, do axônio e bainha de mielina, quociente g, contagem dos núcleos de células de Schwann, das fibras menores e maiores que 4 micrometros, além da porcentagem de tecido conjuntivo. **Resultados:** com relação à nocicepção e à morfometria do nervo isquiático, independente da ooforectomia e tempo de tratamento, não houve diferença estatística significativa intra e intergrupos. E a morfologia geral do tecido se apresentou em todos os grupos com as características preservadas. **Conclusão:** a vibração mecânica não alterou o limiar nociceptivo e os aspectos morfológicos da fibra nervosa de ratas Wistar ooforectomizadas.

**Palavras-chave:** ovariectomia; vibração do corpo inteiro; sistema nervoso periférico.

## INTRODUÇÃO

Com o aumento da expectativa de vida, as mulheres passarão maior porção da vida no período pós-menopausa, convivendo com as diversas alterações que ocorrem devido à diminuição do estrogênio<sup>1</sup>. Essa alteração hormonal afeta diversos tecidos, como, urogenital, cardiovascular<sup>2</sup>, tecido nervoso<sup>3</sup> e o tecido ósseo<sup>4, 5</sup>. No tecido ósseo, o hipoestrogenismo pode aumentar a remoção da matriz óssea, resultando em osteoporose, doença caracterizada por diminuição da densidade mineral óssea<sup>5, 6</sup>.

Um dos recursos utilizados no tratamento de osteoporose pós-menopausa, é a vibração aplicada por meio da plataforma vibratória<sup>7</sup>. Apesar desse estímulo ser utilizado como forma de tratamento, a exposição à vibração pode gerar danos aos tecidos<sup>8</sup>. Esse potencial para danos é comumente conhecido no âmbito ocupacional, pois a vibração é uma das causas de síndrome do túnel do carpo, doença de alta prevalência que promove lesão nervosa periférica (LNP)<sup>3, 9, 10</sup>.

Danos ao tecido nervoso já foram observados no estudo experimental de Govindaraju et al.<sup>11</sup>, cuja vibração com frequência de 30, 120 ou 800 Hz, durante 4 horas contínuas, resultou em edema intraneural, em descontinuidade da bainha de mielina e em aumento da espessura da parede das arteríolas de ratos. Os mecanismos desse tipo de lesão ainda não estão esclarecidos, mas é provável que seja pelos efeitos na coluna vertebral, pois, durante a vibração do corpo inteiro, pode ocorrer deslocamentos entre as vértebras. Isso pode resultar em degeneração vertebral, aumento da pressão e ruptura dos discos intervertebrais, e conseqüente herniação<sup>10</sup>. Essa lesão do disco intervertebral é atribuída à fisiopatologia de lesão do nervo isquiático<sup>12</sup>.

As respostas da terapia com plataforma vibratória dependem dos parâmetros utilizados<sup>13</sup>, sendo o tempo uma variável importante, pois a exposição prolongada pode causar danos ao tecido<sup>14, 16</sup>. Os danos podem até mesmo se agravarem com o aumento do tempo de exposição à vibração<sup>17-19</sup>.

Há uma escassez na literatura sobre os efeitos da vibração sobre o nervo periférico, em um protocolo terapêutico. Assim, são necessários estudos dos efeitos da vibração sobre a saúde<sup>10</sup>, tornando relevante determinar protocolos seguros durante uma exposição prolongada de vibração<sup>8</sup>. Ainda, é relevante a análise da influência da associação de fatores de risco para LNP,

como o que ocorre durante o tratamento de osteoporose pós-menopausa por meio de vibração mecânica, visto que a tanto a vibração como a diminuição do estrogênio são fatores de risco de LNP, o que já foi observado na síndrome do túnel do carpo<sup>20</sup>. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar os efeitos da vibração mecânica sobre o nervo isquiático de ratas *Wistar* ooforectomizadas, em parâmetros nociceptivos e morfológicos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra foi composta por 64 ratas *Wistar*, com peso médio de  $177,20 \pm 16,32$  g e idade de 8 semanas, as quais foram mantidas no Biotério Setorial do Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF), em caixas de polipropileno, com condições controladas de temperatura a  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo claro/escuro de 12 horas, com água e ração à vontade. Os animais foram distribuídos nos grupos pseudo-ooforectomizado (GP) e ooforectomizado (GO) e posteriormente cada foi subdividido em 4:

GP (n=32) – pseudo-ooforectomizados:

- GP4 (n=8) – eutanasiados ao final da 12<sup>a</sup> semana de experimento;
- GP8 (n=8) – eutanasiados ao final da 16<sup>a</sup> semana de experimento;
- GPV4 (n=8) –vibração mecânica durante 4 semanas e eutanasiados ao final da 12<sup>a</sup> semana de experimento;
- GPV8 (n=8) –vibração mecânica durante 8 semanas e eutanasiados ao final da 16<sup>a</sup> semana de experimento.

GO (n=32) – ooforectomizados:

- GO4 (n=8) – eutanasiados ao final da 12<sup>a</sup> semana de experimento;
- GO8 (n=8) – eutanasiados ao final da 16<sup>a</sup> semana de experimento;
- GOV4 (n=8) –vibração mecânica durante 4 semanas e eutanasiados ao final da 12<sup>a</sup> semana de experimento;
- GOV8 (n=8) –vibração mecânica durante 8 semanas e eutanasiados ao final da 16<sup>a</sup> semana de experimento.



### **Protocolo de Ooforectomia e Pseudo-ooforectomia**

Inicialmente, os animais foram mantidos durante 7 dias no biotério do LELRF para aclimação. Para a realização dos procedimentos cirúrgicos, as ratas foram pesadas e submetidas à anestesia intraperitoneal com cloridrato de quetamina (dopalen, 80 mg/kg) e cloridrato de xilazina (anasedan, 20 mg/kg) (Paulínia, São Paulo, Brasil). Após a aplicação da anestesia e a verificação do estado de consciência do animal (observado pela ausência de resposta motora ao pinçamento da cauda e das pregas interdigitais), foi realizada a tricotomia e a assepsia com álcool iodado no abdome na região do ventre. Em seguida, foi realizada uma incisão cirúrgica longitudinal, para acessar à cavidade peritoneal; o tecido adiposo foi afastado até que se conseguisse identificar as tubas uterinas e ovários.

Nos animais de GO, as tubas uterinas foram suturadas com fio catgut 4.0, seguido da ressecção bilateral dos ovários. Ao final do procedimento, foram realizadas suturas internas com fio reabsorvível catgut 4.0 simples e as externas, com fio de nylon 4.0; em seguida, foi realizada a assepsia do local com álcool iodado. Após o procedimento cirúrgico, as ratas foram alojadas individualmente em caixas de polipropileno, por três dias, para recuperação<sup>21</sup> e mantidas no total de 8 semanas sem qualquer intervenção para obter-se os efeitos da privação hormonal. Já para GP, o procedimento cirúrgico consistiu na realização de todas as etapas semelhantes à ooforectomia, com exceção da remoção dos ovários.

### **Vibração Mecânica**

A vibração foi aplicada por meio de uma plataforma Vibro Oscilatória triplanar profissional (Arktus®, Santa Tereza do Oeste, Brasil) (Figura 1), com protocolo adaptado de Butezloff et al.<sup>22</sup>, utilizando frequência de 60 Hz por 10 minutos e vibrações com uma amplitude média de dois milímetros, aplicado durante três dias intercalados por semana, com descanso de dois dias. O período total de intervenção com a plataforma foi de 4 semanas nos grupos GPV4 e GOV4 a partir da 9ª até a 12ª semana de experimento, ou 8 semanas nos grupos GPV8 e GOV8, a partir da 9ª até a 16ª semana de experimento. Foram posicionados diretamente sobre a plataforma vibratória 8 animais separados por baias, com largura, comprimento e altura de 13x19x25 cm. As

baías foram enumeradas de 1 a 8 para ser realizado um rodízio, no sentido horário, para que os animais passassem por todos os pontos da plataforma.



**Figura 1** - Plataforma Vibro Oscilatória Arktus triplanar profissional com suporte para separar os animais por baias. Fonte: autora.

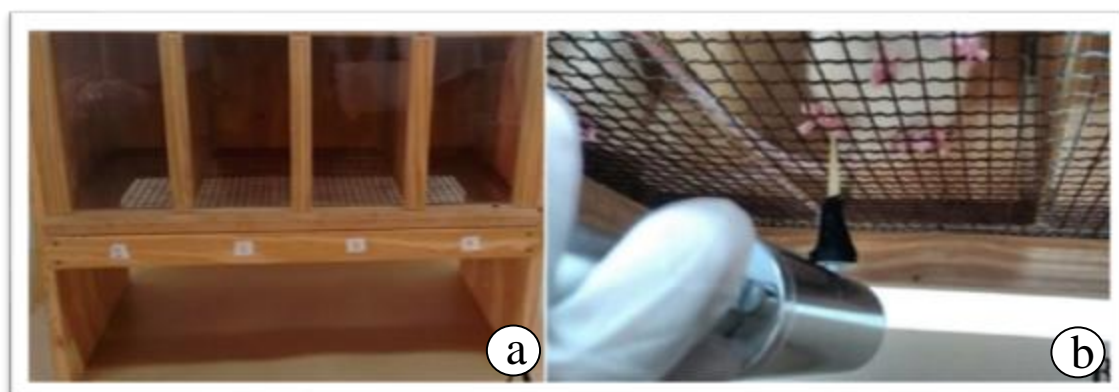
### **Avaliação do Limiar Nociceptivo**

A avaliação foi realizada por meio de um analgesímetro digital, tipo filamento de Von Frey (Insight®, Ribeirão Preto, São Paulo) (Figura 2). O animal foi mantido em uma caixa elevada com piso de tela (Figura 3a), assim, a ponta de polipropileno do filamento foi aplicada de forma perpendicular na região plantar do membro posterior direito (Figura 3b), com uma pressão crescente até que o animal retirasse o membro. Prévio ao início do experimento, os animais foram submetidos ao estímulo do filamento, simulando a avaliação, durante três dias para adaptação ao estímulo. Em cada avaliação, o teste foi repetido três vezes e utilizado o valor médio, realizado sempre pelo mesmo indivíduo. A avaliação foi realizada em todos os grupos prévio a

ooforectomia e pseudo-ooforectomia (AV1), prévio ao início do protocolo de vibração (AV2) e ao final do protocolo de vibração (AV3).



**Figura 2** – Analgesímetro tipo filamento de Von Frey digital. Fonte: autora.



**Figura 3** – Caixa com piso de tela elevado para avaliação nociceptiva. a - vista anterior da caixa; b - vista lateroinferior da pata de rato *Wistar* sobre o piso de tela, sendo avaliada com o filamento de Von Frey digital. Fonte: autora.

### **Análise Histomorfométrica do Nervo Isquiático**

Com os animais devidamente anestesiados, primeiramente foi realizada a dissecação do nervo isquiático e posteriormente a eutanásia por overdose de anestésico, de acordo com o período de intervenção de cada grupo.

Foi realizada a dissecação e retirada de dois centímetros do nervo isquiático direito que foi fixado em paraformaldeído 4% em PBS (pH 7,4),

durante 48 horas e, em seguida, armazenado em álcool 70% até o processamento histológico. O material foi desidratado, diafanizado, infiltrado e embocado para obtenção de cortes transversais do nervo com espessura de cinco micrômetros<sup>23</sup> em micrótomo (Olympus BX60®, Tokyo, Japan). Posteriormente, os cortes foram corados em Hematoxilina e Eosina (HE), e analisados quanto à morfologia geral do tecido por meio de microscopia de luz, avaliando a presença de células de Schwann, a integridade das fibras nervosas e dos capilares.

Para as análises quantitativas, as lâminas foram fotomicrografadas com objetiva de 100x, em 4 campos. A partir disso, as análises foram realizadas de acordo com o protocolo modificado de um estudo anterior<sup>24</sup>. Foram mensurados com zoom de 50% no programa Image Pro-plus 6.0®, o diâmetro de 100 fibras nervosas mielínicas e axônios por animal; a espessura da mielina, dada pelo diâmetro do axônio subtraído da fibra nervosa, dividido por dois; o quociente G, sendo a razão entre a espessura da mielina pelo diâmetro da fibra nervosa. Também foi realizada a contagem do número de fibras nervosas menores e maiores de 4 micrômetros e o número de núcleos de células de Schwann, em um campo de 50x70 µm, com zoom de 50%, incluindo os que estivessem tocando as bordas “de inclusão” (superior e esquerda) e excluindo os que tocassem as “bordas de exclusão” (inferior e direita). Os cortes histológicos também foram corados em Tricrômico de Masson, fotomicrografadas em 4 campos com objetiva de 100x, e mensurado a porcentagem de tecido conjuntivo em pixels, com zoom de 50%, no programa Image Pro-plus 6.0®.

### **Análise dos Dados**

Os resultados foram expressos por meio da estatística descritiva e analisados com auxílio do pacote ExpDes.pt do programa R (R Core Team, 2017) quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, seguido da análise de variância de três vias, e em caso de significância foi realizado o teste Tukey-HSD. Foi considerado significativo quando  $p < 0,05$ .

### **Aspectos Éticos**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Unioeste (24/08/2016) (Anexo 2), e foi conduzido segundo as Normas Internacionais de Ética em Experimentação Animal 25.

## RESULTADOS

### Limiar Nociceptivo

Para a variável da nocicepção, realizada na região plantar da pata posterior direita, não houve diferença estatisticamente significativa intra e inter grupos ( $F=0.978$ ,  $p=0.518$ ) (Tabela 1), ou seja, a ooforectomia e vibração independente do tempo de aplicação, não alteraram o limiar nociceptivo de ratas.

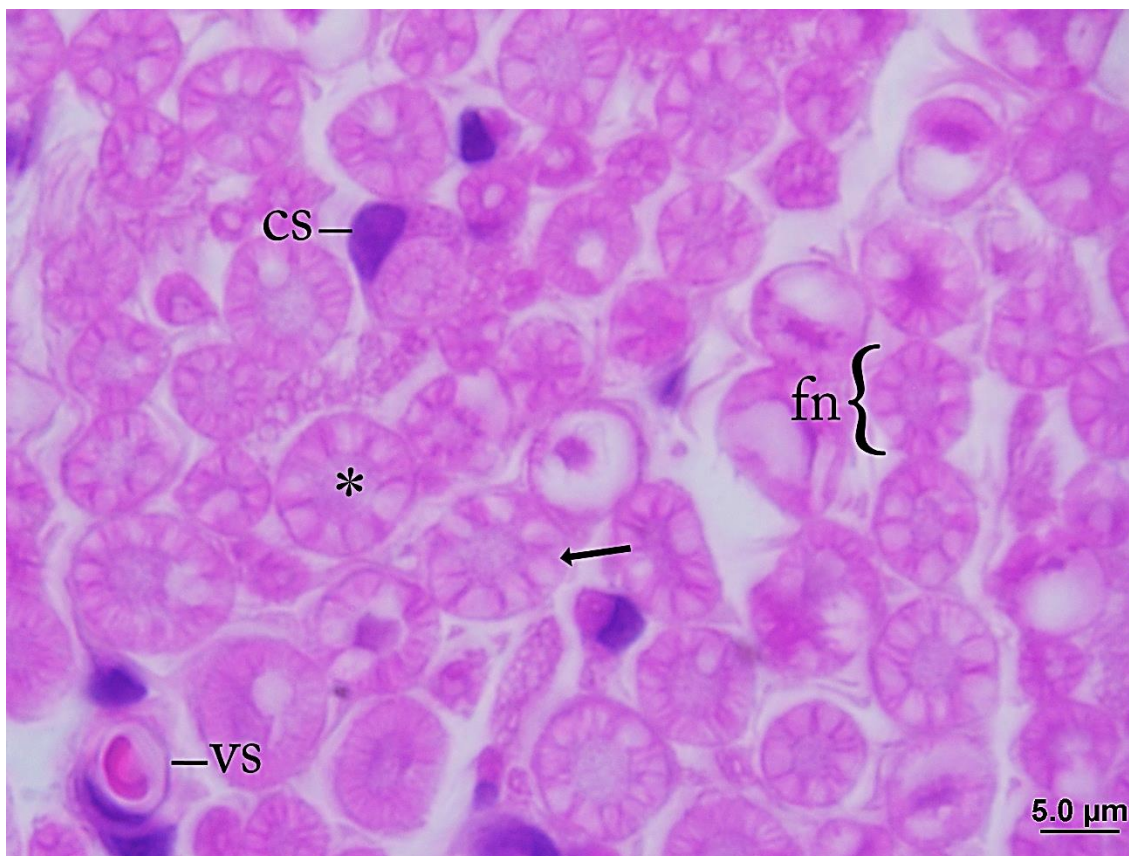
**Tabela 1** - Limiar nociceptivo da pata posterior direita de ratas *Wistar*

	AV1	AV2	AV3
<b>GP4</b>	35,88 ± 5,04	33,88 ± 6,70	34,07 ± 7,07
<b>GO4</b>	33,35 ± 6,02	43,62 ± 5,24	37,62 ± 8,19
<b>GPV4</b>	35,21 ± 5,85	38,95 ± 4,28	39,58 ± 8,88
<b>GOV4</b>	34,85 ± 9,00	39,79 ± 4,36	41,25 ± 6,07
<b>GP8</b>	30,44 ± 11,72	41,71 ± 8,07	38,40 ± 10,40
<b>GO8</b>	39,66 ± 4,40	38,12 ± 6,65	38,13 ± 5,25
<b>GPV8</b>	35,28 ± 9,25	41,62 ± 9,67	37,16 ± 8,11
<b>GOV8</b>	39,04 ± 5,54	34,51 ± 7,57	37,91 ± 5,64

Média ± desvio padrão. Períodos das avaliações: prévio a ooforectomia (AV1), prévio ao início do tratamento (AV2) e ao final do tratamento (AV3). GP4 e GP8: grupos pseudo-ooforectomia de 4 e 8 semanas; GO4 e GO8: grupos ooforectomia de 4 e 8 semanas; GPV4 e GPV8: grupos pseudo-ooforectomia submetidos a vibração por 4 e 8 semanas; GOV4 e GOV8: grupos ooforectomia submetidos a vibração por 4 e 8 semanas.

### Morfologia do Nervo Isquiático

Independente da ooforectomia e da intervenção com vibração, todos os grupos apresentaram o nervo isquiático com características preservadas, com fibras nervosas mielínicas íntegras, sendo possível identificar o axônio envolto pela bainha de mielina. Havia a presença de poucos núcleos celulares sendo estes com aspecto de célula de Schwann, próximo a bainha de mielina. Os vasos sanguíneos apresentaram aspecto íntegro, sendo a maior parte capilares (Figura 4).



**Figura 4** – Fotomicrografia do nervo isquiático, com objetiva de 100x, em corte transversal e corado em hematoxilina e eosina. A ponta da seta indica a bainha de mielina; o asterisco está sobre o axônio; vs – vaso sanguíneo; fn – fibra nervosa mielínica; e cs – célula de *Schwann*. O corte apresenta alguns artefatos de técnica histológica sobre a bainha de mielina de algumas fibras nervosas.

### Morfometria do Nervo Isquiático

Em todas as variáveis, os dados apresentaram-se normais e não houve diferença estatística significativa para a espessura da fibra nervosa mielínica, do axônio e bainha de mielina, quociente G, porcentagem de tecido conjuntivo (Tabela 2), número de fibras nervosas menores e maiores que 4 micrômetros e o número de núcleos de células de Schwann (Tabela 3). Assim, denota-se que a ooforectomia e a vibração não alteraram os parâmetros morfométricos do nervo isquiático. Os valores da estatística F e o valor de p de cada variável foram apresentados na Tabela 4.

**Tabela 2** – Espessura da fibra nervosa mielínica, axônio e bainha de mielina ( $\mu\text{m}$ ), quociente G e porcentagem de tecido conjuntivo do nervo isquiático de ratas *Wistar*

	Fibra nervosa	Axônio	Bainha de mielina	Quociente G	Tecido conjuntivo
<b>GP4</b>	5,55 $\pm$ 0,64	2,26 $\pm$ 0,24	1,64 $\pm$ 0,24	0,29 $\pm$ 0,25	50,08 $\pm$ 4,22
<b>GO4</b>	5,33 $\pm$ 0,28	2,20 $\pm$ 0,16	1,56 $\pm$ 0,10	0,28 $\pm$ 0,10	51,16 $\pm$ 5,69
<b>GPV4</b>	5,49 $\pm$ 0,32	2,32 $\pm$ 0,16	1,58 $\pm$ 0,20	0,28 $\pm$ 0,20	54,76 $\pm$ 7,15
<b>GOV4</b>	5,52 $\pm$ 0,26	2,30 $\pm$ 0,17	1,60 $\pm$ 0,12	0,28 $\pm$ 0,12	51,16 $\pm$ 5,49
<b>GP8</b>	5,52 $\pm$ 0,53	2,47 $\pm$ 0,25	1,52 $\pm$ 0,26	0,26 $\pm$ 0,26	51,47 $\pm$ 5,02
<b>GO8</b>	5,39 $\pm$ 0,48	2,38 $\pm$ 0,25	1,50 $\pm$ 0,15	0,27 $\pm$ 0,15	54,80 $\pm$ 6,41
<b>GPV8</b>	5,38 $\pm$ 0,33	2,30 $\pm$ 0,23	1,53 $\pm$ 0,13	0,28 $\pm$ 0,13	50,95 $\pm$ 4,32
<b>GOV8</b>	5,68 $\pm$ 0,36	2,45 $\pm$ 0,34	1,61 $\pm$ 0,10	0,27 $\pm$ 0,10	51,70 $\pm$ 6,81

Média  $\pm$  desvio padrão. GP4 e GP8: grupos pseudo-ooforectomia de 4 e 8 semanas; GO4 e GO8: grupos ooforectomia de 4 e 8 semanas; GPV4 e GPV8: grupos pseudo-ooforectomia submetidos a vibração por 4 e 8 semanas; GOV4 e GOV8: grupos ooforectomia submetidos a vibração por 4 e 8 semanas.

**Tabela 3** – Contagem das fibras nervosas com diâmetro menor e maiores que 4  $\mu\text{m}$ , e de núcleos de células de Schwann, do nervo isquiático de ratas *Wistar*

	Fibras < 4 $\mu\text{m}$	Fibras > 4 $\mu\text{m}$	Núcleos
<b>GP4</b>	17,59 $\pm$ 9,75	29,46 $\pm$ 8,00	5,31 $\pm$ 1,51
<b>GO4</b>	16,75 $\pm$ 6,77	35,93 $\pm$ 7,47	5,34 $\pm$ 1,44
<b>GPV4</b>	13,28 $\pm$ 6,44	31,40 $\pm$ 6,21	5,71 $\pm$ 1,24
<b>GOV4</b>	15,91 $\pm$ 4,36	35,96 $\pm$ 5,75	5,56 $\pm$ 1,32
<b>GP8</b>	14,58 $\pm$ 6,53	33,44 $\pm$ 6,86	4,84 $\pm$ 1,09
<b>GO8</b>	15,00 $\pm$ 3,96	34,50 $\pm$ 4,14	5,90 $\pm$ 1,23
<b>GPV8</b>	11,53 $\pm$ 3,81	33,03 $\pm$ 8,28	4,81 $\pm$ 0,90
<b>GOV8</b>	15,10 $\pm$ 5,80	34,17 $\pm$ 4,78	5,32 $\pm$ 1,27

Média  $\pm$  desvio padrão. GP4 e GP8: grupos pseudo-ooforectomia de 4 e 8 semanas; GO4 e GO8: grupos ooforectomia de 4 e 8 semanas; GPV4 e GPV8: grupos pseudo-ooforectomia submetidos a vibração por 4 e 8 semanas; GOV4 e GOV8: grupos ooforectomia submetidos a vibração por 4 e 8 semanas.

**Tabela 4** - Valores estatísticos da espessura da fibra nervosa mielínica, axônio e bainha de mielina ( $\mu\text{m}$ ), quociente G e porcentagem de tecido conjuntivo, considerando os fatores ooforectomia, vibração e tempo

	Ooforectomia	Vibração	Tempo
<b>Fibra nervosa</b>	F= 0,0079; p=0,9655	F= 0,4101; p=0,5245	F= 0,0278; p=0,8830
<b>Axônio</b>	F= 0,0043; p=0,9482	F= 0,0522; p=0,8200	F= 4,9788; p>0,05
<b>Bainha de mielina</b>	F= 0,0012; p=0,9721	F= 0,3731; p=0,5438	F= 1,5092; p=0,2243
<b>Quociente G</b>	F= 0,0657; p=0,7987	F= 0,0657; p=0,7987	F= 5,9250; p>0,05
<b>Tecido conjuntivo</b>	F= 0,0747; p=0,7856	F= 0,0338; p=0,8547	F= 0,0950; p=0,7591
<b>Fibras &lt; 4 <math>\mu\text{m}</math></b>	F= 3,8387; p=0,0551	F= 0,1337; p=0,7160	F= 0,1675; p=0,6839
<b>Fibras &gt; 4 <math>\mu\text{m}</math></b>	F= 0,0674; p=0,3060	F= 1,4405; p=0,2351	F= 1,6402; p=0,2056
<b>Núcleos</b>	F= 1,8166; p=0,1831	F= 0,0002; p=0,9898	F= 1,0635; p=0,3068

Estatística F; valor de p.

## DISCUSSÃO

No presente estudo, foi utilizada a vibração de corpo inteiro, aplicada por meio de plataforma vibratória; todavia, não alterou o limiar nociceptivo e os aspectos morfológicos da fibra nervosa. Além disso, não houve alteração da espessura da fibra nervosa mielínica, do axônio e bainha de mielina, quociente G, porcentagem de tecido conjuntivo, número de fibras nervosas menores e maiores que 4 micrômetros e o número de núcleos de células de *Schwann*.

Os efeitos da vibração são estudados por causar incapacidades no meio ocupacional, pois a exposição prolongada a este estímulo pode induzir alterações deletérias a diversos tecidos. Porém, os efeitos negativos, dependem da predisposição do indivíduo, além das características da vibração<sup>8</sup>.

No meio ocupacional, são identificados dois tipos de vibração: a aplicada à mão e a vibração de corpo inteiro. A vibração aplicada a mão é um fator conhecido por causar LNP na síndrome do túnel do carpo. Já a vibração de corpo inteiro, que pode ser aplicada por plataforma vibratória, tem impacto sobre a coluna, principalmente lombar. A vibração causa deslocamentos entre as vértebras, que pode gerar degeneração vertebral, aumento da pressão intradiscal e ruptura do disco intervertebral, com consequente herniação<sup>10, 12</sup>.

No estudo experimental de Baig et al.<sup>18</sup>, foi observado que a vibração de 15 Hz, durante 30 minutos, por 7 dias, e até mesmo em uma sessão, pode



provocar diminuição do limiar nociceptivo em ratos, sendo um dos possíveis mecanismos, a flexo-extensão da coluna cervical provocada durante a vibração. Em um estudo experimental posterior, avaliaram a vibração durante 40 sessões (em oito semanas), nos mesmos parâmetros do estudo acima, promoveu o aumento de fatores de crescimento nos discos intervertebrais, podendo ser um sinal de lesão, que nessa região pode promover a compressão nervosa<sup>17</sup>.

No presente estudo, a vibração, nos parâmetros analisados, não apresentou indícios de lesão no nervo isquiático. Essa divergência com os estudos citados anteriormente pode ter ocorrido devido à diferença na dose cumulativa, definido como o tempo total de exposição à vibração, que leva em consideração o número de sessões semanais e a duração do estímulo<sup>14</sup>. Nos estudos de Baig et al.<sup>18</sup> e Kartha, Zeeman e Baig<sup>17</sup>, os pesquisadores utilizaram vibração por 30 minutos, enquanto que no presente estudo foi realizada por 10 minutos. Além disso, Baig et al.<sup>18</sup> observaram que quanto maior a frequência semanal e o período total da terapia, mais graves eram as alterações. No presente estudo, apesar da vibração ser realizada por 4 e 8 semanas, as intervenções ocorreram em uma frequência semanal baixa, apenas 3 dias por semana, justificando os resultados encontrados.

No estudo de Yan et al.<sup>19</sup> também foram observados efeitos deletérios da vibração a longo prazo no tecido nervoso de ratos. Foi aplicada a vibração de corpo inteiro de 30 Hz, 0,5 G, por 4 horas, 5 dias por semana, durante 2, 4 ou 8 semanas, e foram observados danos ao SNC por espessamento dos vasos com proliferação de fibroblastos e vacúolos no músculo liso, e alteração funcional. Além disso, houve diminuição do limiar nociceptivo e da força de preensão, sendo que todas essas alterações tiveram agravo conforme o aumento do período de exposição a vibração, mostrando o possível efeito acumulativo deste estímulo. Apesar do número semanal ser correspondente ao utilizado no presente estudo, no trabalho Yan et al.<sup>19</sup> a frequência semanal e a duração da exposição diária foram maiores.

As alterações vasculares também foram observadas no estudo de Govindaraju et al.<sup>11</sup>, cuja vibração, em uma única aplicação, com frequência de 30, 120 ou 800 Hz durante 4 horas, promoveu dilatação de arteríolas com espessamento das paredes destes vasos. Além disso, a vibração causou

edema intraneural e promoveu alteração na bainha de mielina de fibras nervosas de ratos. Isso reafirma que a vibração durante exposição prolongada (4 horas) como de Govindaraju et al.<sup>11</sup> e Yan et al.<sup>19</sup>, pode promover lesão nervosa, diferente do encontrado no presente estudo utilizando menor tempo diário.

Em contrapartida, estudos com baixa aplicação diária, de 1 a 15 minutos, frequência de 50 Hz e 16,5 KHz, observaram no tecido nervoso que, a partir de um dia de aplicação, houve lesão das fibras nervosas e suas terminações nervosas<sup>26, 27</sup>. Porém, nesses estudos foi utilizada a vibração local, o que pode ter agravado as respostas do tecido ao estímulo, o que difere do presente estudo que utilizou a vibração de corpo inteiro.

Além da vibração, existem outros fatores que aumentam os riscos de LNP, como as deficiências vitamínicas, doenças sistêmicas, distúrbios metabólicos e endócrinos, e os desequilíbrios hormonais, como a deficiência estrogênica<sup>20, 28, 29</sup>. Com a menopausa, a prevalência de síndrome do túnel do carpo, é até quatro vezes maior nas mulheres do que nos homens<sup>28-30</sup>.

Essa influência hormonal sobre o tecido nervoso pode ocorrer devido ao efeito protetor que é discutido a partir da observação das diferenças nas respostas dos homens e mulheres frente a lesão do SNC. Com isso, constatou-se que as mulheres pré-menopausa apresentam menos danos neurológicos no SNC e melhor recuperação comparado aos homens, porém, após a menopausa esses danos se equivalem<sup>31</sup>. Os efeitos protetores do estrogênio foram observados após lesão do SNC por minimizar a apoptose celular, mediada pela inibição da caspase-3<sup>32</sup>, e outras cascatas anti-apoptóticas. Além disso, pode diminuir a produção de espécies reativas de oxigênio e aumentar da liberação de neurotrofinas, que são essenciais para a manutenção e sobrevivência do neurônio<sup>1</sup>, bem como ter ação anti-inflamatória<sup>33</sup>. Já no SNP, estudos observaram o efeito benéfico da reposição de estrogênio na regeneração do nervo isquiático, após lesão por compressão, em ratas ooforectomizadas<sup>34, 35</sup>.

Além disso, o estrogênio também pode atuar na modulação da dor<sup>36</sup>, tendo indícios que as mulheres sentem menos dor que os homens; contudo, após a menopausa, elas apresentam maiores condições de dor crônica<sup>37</sup>. Também foi observado que, após LNP em ratas, a ooforectomia promove

hiperalgesia térmica e mecânica e que a reposição de estrogênio tem efeitos anti-nociceptivos<sup>38</sup>.

Esses achados mostram que o estrogênio possui um efeito protetor sobre o tecido nervoso, e com a menopausa isso pode ser revertido. Essas pesquisas divergem dos resultados do presente estudo, cuja ooforectomia isoladamente ou associada à vibração não alterou o limiar nociceptivo e as características das fibras do nervo periférico. Isso provavelmente ocorreu porque, nos estudos citados acima, os efeitos protetores do estrogênio amenizaram lesões prévias; já neste estudo a privação hormonal foi analisada sem a presença de danos prévios no tecido nervoso.

Assim, é possível observar que a vibração, aplicada por pequeno período diário e frequência semanal, e a deficiência estrogênica após ooforectomia, isoladamente ou associada à vibração, não alteraram os parâmetros analisados. Contudo, sugere-se a realização de estudos que verifiquem a segurança de protocolos de vibração a longo prazo, em uma prática terapêutica, sobre o nervo periférico, avaliando a expressão de fatores de crescimento e de citocinas inflamatórias, sendo essa a limitação deste estudo.

## CONCLUSÃO

A vibração mecânica não alterou o limiar nociceptivo e os aspectos morfológicos da fibra nervosa. Assim, não houve alteração da espessura da fibra nervosa mielínica, do axônio, e bainha de mielina, quociente G, porcentagem de tecido conjuntivo, número de fibras nervosas e de núcleos de células de *Schwann* do nervo isquiático de ratas *Wistar* ooforectomizadas.

## REFERÊNCIAS

- [1] Engler-Chiurazzi EB, Brown CM, Povroznik JM, Simpkins JW. Estrogens as neuroprotectants: estrogenic actions in the context of cognitive aging and brain injury. *Prog Neurobiol.* 2015; 157 (1): 188–211.
- [2] Al-Safi ZA, Santoro N. Menopausal hormone therapy and menopausal symptoms. *Fertil Steril.* 2014; 101 (4): 905-15.
- [3] Newington L, Harris C, Walker-bone K. B. Carpal tunnel syndrome and work. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2015; 29 (3): 440-53.

- [4] Ji M, Yu Q. Primary osteoporosis in postmenopausal women. *Chronic Dis Transl Med.* 2015; 1 (1): 9–13.
- [5] Tella SH, Gallagher JC. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014; 142 (1): 155–70.
- [6] Radominski CS, Bernardo W, Paula A, Albergaria B, Moreira C, Fernandes CE, et al. Diretrizes brasileiras para o diagnóstico e tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa. *Rev Bras Reumatol.* 2017; 7 (2): 452–66.
- [7] Weber-Rajek M, Mieszkowski J, Niespodziński B, Ciechanowska K. Whole-body vibration exercise in postmenopausal osteoporosis. *Prz menopauzalny.* 2015; 14 (1): 41–7.
- [8] Cardinale M, Pope MH. The effects of whole body vibration on humans: dangerous or advantageous? *Acta Physiol Hung.* 2003; 90 (3): 195–206.
- [9] Chammas M. Carpal tunnel syndrome. *Chir Main.* 2014; 33 (2): 75–94.
- [10] Palmer KT, Bovenzi M. Rheumatic effects of vibration at work. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2015; 29 (1): 424–39.
- [11] Govindaraju SR, Curry BD, Bain JLW, Riley DA. Nerve damage occurs at a wide range of vibration frequencies. *Int J Ind Ergon.* 2008; 38 (1): 687–92.
- [12] Stafford MA, Peng P, Hill DA. Sciatica: a review of history, epidemiology, pathogenesis, and the role of epidural steroid injection in management. *Br J Anaesth.* 2007; 99 (4): 461–73.
- [13] Dionello CF, Sá-Caputo D, Pereira HVFS, Souza-Gonçalves CR, Maiworm AI, Morel DS, et al. Effects of whole body vibration exercises on bone mineral density of women with postmenopausal osteoporosis without medications: novel findings and literature review. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2016; 16 (3): 193–203.
- [14] Fratini A, Bonci T, Bull AMJ. Whole body vibration treatments in postmenopausal women can improve bone mineral density: results of a stimulus focussed meta-analysis. *PLoS One.* 2016; 11 (12): e0166774.
- [15] Xie P, Tang Z, Qing F, Chen X, Zhu X, Fan Y, et al. Bone mineral density, microarchitectural and mechanical alterations of osteoporotic rat bone under long-term whole-body vibration therapy. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2016; 53 (1): 341–9.
- [16] Moreira-Marconi E, Dionello CF, Danielle SM, Sá-Caputo D, Souza-Gonçalves CR, Paineiras-Domingos LL, et al. Could whole body vibration exercises influence the risk factors for fractures in women with osteoporosis? *Osteoporosis and Sarcopenia.* 2016; 2 (4): 214–20.

- [17] Kartha S, Zeeman ME, Baig HA. Upregulation of BDNF & NGF in cervical intervertebral discs exposed to painful whole body vibration. *Spine*. 2015; 39 (19): 1542–8.
- [18] Baig HA, Guarino BB, Lipschutz D, Winkelstein BA. Whole body vibration induces forepaw and hind paw behavioral sensitivity in the rat. *J Orthop Res*. 2013; 31 (11): 1739–44.
- [19] Yan JG, Zhang L, Agresti M, Giudice JL, Sanger JR, Matloub HS, Havlik R. Neural systemic impairment from whole-body vibration. *J Neurosci Res*. 2015; 93 (5): 736–44.
- [20] Haylock-vize P, Souza, RM, Choi D. Peripheral nerve lesions. *Surgery*. 2015; 33 (8): 377–83.
- [21] Khajuria DK, Razdan R, Mahapatra DR. Descrição de um novo método de ooforectomia em ratas. *Rev Bras Reumatol*, vol. 52, no. 3, pp. 466–470, 2012.
- [22] M. M. Butezloff, A. Zamarioli, G. B. Leoni, and J. B. Volpon, “Whole-body vibration improves fracture healing and bone quality in rats with ovariectomy-induced osteoporosis,” *Acta Cirúrgica Bras.*, vol. 30, no. 11, pp. 727–735, 2015.
- [23] Junqueira LC, Junqueira LMMS. *Técnicas básicas de citologia e histologia*. Ed Santos, São Paulo, 1983.
- [24] Kakhata CMM, Malanotte JA, Brancalhão RMC, Ribeiro LFC, Bertolini GRF. The morphological and functional effects of exercise in the aquatic environment , performed before and / or after sciatic nerve compression in Wistar rats. *J Exerc Rehabil*. 2016; 12 (5): 393-400.
- [25] Andersen ML, D’Almeida V, Ko GM, Kawakami R, Martins PJ, Magalhães LE, et al. *Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação*. Ed UNIFESP, São Paulo, 2004.
- [26] Chen X, Green PG, Levine JD. Neuropathic pain-like alterations in muscle nociceptor function associated with vibration-induced muscle pain. *Pain*. 2010; 151 (1): 460–6.
- [27] Zimmerman J, Bain J, Persson M, Riley D. Effects of power tool vibration on peripheral nerve endings. *Int J Ind Ergon*. 2016; 4 (1): 8–13.
- [28] Kaplan Y, Kurt SG, Karaer H. Carpal tunnel syndrome in postmenopausal women. *J Neurol Sci*. 2008; 270 (1) 77–81.
- [29] Thurston A. Carpal tunnel syndrome. *Orthop Trauma*. 2013; 27 (5): 332–41.

- [30] Padua L, Coraci D, Erra C, Pazzaglia C, Paolasso I, Loreti C, et al. Carpal tunnel syndrome: clinical features, diagnosis, and management. *Lancet Neurol.* 2016; 15 (1): 1273–84.
- [31] Leon RL, Huber JD, Rosen CL, Virginia W. Potential dose-dependent effects of estrogen on neural injury. *Am J Pathol.* 2011; 178 (6): 2450–60.
- [32] Li Y, Wang S, Xia Y, Wang J, Pan W, Shi Y, et al. Neuroprotective effect of estrogen after chronic spinal cord injury in ovariectomized rats. *Neural Regen Res.* 2007; 2 (8): 471–4.
- [33] Pratap EP, Patil A, Sharma HR, Hima L, Chockalingam R, Hariharan MM, et al. Estrogen-induced neuroprotective and anti-inflammatory effects are dependent on the brain areas of middle-aged female rats. *Brain Res Bull.* 2016; 124 (1): 238–53.
- [34] Islamov RR, Hendricks WA, Jones RJ, Lyall GJ, Spanier NS, Murashov AK. 17  $\beta$ -Estradiol stimulates regeneration of sciatic nerve in female mice. *Brain Res.* 2002; 943 (1): 283–6.
- [35] Islamov RR, Hendricks WA, Katwa LC, McMurray RJ, Pak ES, Spanier NS, et al. Effect of 17  $\beta$ -estradiol on gene expression in lumbar spinal cord following sciatic nerve crush injury in ovariectomized mice. *Brain.* 2003; 126 (1): 65–75.
- [36] Liang Y, Yao S. Potential role of estrogen in maintaining the imbalanced sympathetic and sensory innervation in endometriosis. *Mol Cell Endocrinol.* 2016; 424 (1): 42–9.
- [37] Amandusson A, Blomqvist A. Estrogenic influences in pain processing. *Front Neuroendocrinol.* 2013; 34 (1): 329–49.
- [38] Sarajari S, Oblinger MM. Estrogen effects on pain sensitivity and neuropeptide expression in rat sensory neurons. *Exp Neurol.* 2010; 224 (1): 163–9.

## Anexo A



Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA

### PARECER DE PROTOCOLO

O protocolo intitulado “**Avaliação e comparação dos efeitos da plataforma vibratória aplicada durante 1 e 2 meses em ratas ooforectomizadas**”, sob vossa coordenação, foi avaliado pelo CEUA como **APROVADO** para execução.

#### ATENÇÃO!

O Certificado Experimental deste Protocolo, somente será emitido após o encerramento das atividades previstas e após o encaminhamento do Relatório Final ao CEUA. Este Parecer **NÃO** tem valor como Certificado Experimental.

Cascavel, 24/08/2016

**Profa. Dra. Luciana Oliveira de Fariña**  
Coordenadora do CEUA  
Portaria nº 2729/2014 - GRE

## Anexo B

### Escopo da Revista

O **Journal of Bone and Mineral Metabolism** (JBMM) fornece um fórum internacional para pesquisadores e clínicos para apresentar e discutir questões relevantes na pesquisa de ossos e minerais. O jornal congratula-se com a apresentação de manuscritos de qualquer país. A adesão à sociedade não é um pré-requisito para a submissão. A aceitação baseia-se na originalidade, significado e validade do material apresentado. A revista destina-se a pesquisadores e clínicos dedicados a melhorias na pesquisa, desenvolvimento e atendimento ao paciente nos campos de metabolismo ósseo e mineral.

### Políticas editoriais

O **Journal of Bone and Mineral Metabolism** (JBMM) publica: artigos originais; artigos de revisão; perspectiva; relatos de casos; comunicações rápidas e comunicações curtas.

Manuscritos são recebidos com o entendimento de que eles não foram publicados ou enviados para publicação total ou parcial em outros lugares. Esta restrição não se aplica aos resumos publicados em conexão com reuniões científicas. Todos os artigos são revisados por pelo menos dois revisores, e a aceitação é decidida pelo conselho editorial da Sociedade Japonesa de Pesquisas Básicas e Minerais e da Sociedade Japonesa de Morfometria Óssea.

### Toda a correspondência deve ser enviada para:

Escritório Editorial, **Journal of Bone and Mineral Metabolism**  
c/o Academic Square Co., Ltd. 2-348-302 Ryogae-machi, Fushimi-ku, Kyoto 612-8082, Japão. Tel. 81-75-468-8772; Fax 81-75-468-8773  
E-mail: [jbmm@ac-square.co.jp](mailto:jbmm@ac-square.co.jp)

Pré-requisitos para publicação: Um Formulário de Certificação, incluído em cada edição, e que também pode ser baixado de: <http://www.springer.com/774>, deve ser assinado por todos os autores e ser digitalizado e carregado através do Gerenciador Editorial quando enviar seu manuscrito.

**IMPORTANTE:** Após a recepção de um Formulário de Certificação, os manuscritos são oficialmente reconhecidos como enviados.

### Envio de Manuscrito via Gerente Editorial

Os autores devem enviar seus manuscritos à JBMM online. Faça login diretamente em: <https://www.editorialmanager.com/jbmm> e envie seu manuscrito seguindo as instruções dadas.

### Requisitos do Gerente Editorial:

#### Declaração dos Direitos Humanos e dos Animais

Ao relatar estudos que envolvam participantes humanos, os autores devem incluir uma declaração que deve ser adicionada em uma seção separada antes da lista de referência que os estudos foram aprovados pelo comitê de ética de pesquisa institucional e / ou nacional apropriado e foram realizados de acordo com a normas éticas estabelecidas na Declaração de Helsinque de 1964 e suas alterações posteriores ou normas éticas comparáveis. Se essas declarações não forem aplicáveis, os autores devem indicar: O manuscrito não contém estudos clínicos ou dados do paciente.

Se houver dúvida sobre se a pesquisa foi realizada de acordo com o Helsinque D de 1964 declaração ou padrões comparáveis, os autores devem explicar os motivos



de sua abordagem e demonstrar que o comitê de ética independente ou a placa de revisão institucional aprovou explicitamente os aspectos duvidosos do estudo. As seguintes declarações devem ser incluídas no texto antes da seção de referências: Ética aprovação: "Todos os procedimentos realizados em estudos envolvendo participantes humanos estavam de acordo com os padrões éticos do comitê de pesquisa institucional e/ou nacional e com a declaração de Helsinki de 1964 e suas alterações posteriores ou padrões éticos comparáveis." O bem-estar dos animais utilizados para pesquisa devem ser respeitados.

Ao relatar experiências em animais, os autores devem indicar se as diretrizes institucionais e/ou nacionais para o cuidado e uso de animais foram seguidas. Para estudos com animais, a seguinte declaração deve ser incluída: "Todas as diretrizes institucionais e / ou nacionais aplicáveis para a O cuidado e o uso dos animais foram seguidos".

Se os artigos não contêm estudos com participantes humanos ou animais por nenhum dos autores, Springer recomenda a inclusão da seguinte frase: "Este artigo não contém estudos com participantes humanos ou animais realizados por qualquer um dos autores".

Para estudos retrospectivos, adicione a seguinte frase: "Para este tipo de estudo, o consentimento formal não é necessário".

### **Manuscritos**

Os manuscritos devem ser de dois espaços. Deixe margens de aproximadamente 3 cm nos lados, topo e parte inferior da página. Três páginas de manuscritos correspondem a cerca de uma página impressa. A página de título deve incluir os nomes, endereços e afiliações dos autores. Indique o nome, endereço, número de telefone, número de fax e endereço de e-mail do autor que receberá a correspondência. Forneça até cinco palavras-chave. Os artigos devem ter o seguinte formato: Página de título, texto, conflito de interesse, referências, tabelas, legendas de figuras e obras de arte. Número de páginas consecutivamente. Consulte um número atual do jornal para o formato exato.

### **Artigos originais**

O texto deve ser composto de: resumo de não mais de 250 palavras, introdução, materiais e métodos, resultados, discussão e agradecimentos. O texto deve ser mantido em aproximadamente 24 páginas de dois espaços, fonte de texto Times Roman número 12, incluindo o manuscrito, referências, figuras, legendas de figuras, tabelas e notas de tabela.

### **Tábuas e ilustrações**

Prepare cada tabela (com seu título) em uma página separada. Use algarismos arábicos para numerar as tabelas. Cada tabela deve ser capaz de ficar sozinha, ou seja, deve conter informações suficientes para ser entendido independentemente do texto. Os detalhes das condições experimentais, significância estatística e a definição de todas as abreviaturas devem ser incluídos nas notas de rodapé da tabela. As informações que aparecem no texto não devem ser repetidas em detalhes nas tabelas e as tabelas não devem conter dados que podem ser dados no texto em uma ou duas frases.

Todas as figuras devem ser numeradas usando algarismos arábicos. As partes da figura devem ser denotadas por letras minúsculas (a, b, c, etc.). Se as ilustrações forem fornecidas com rotulagem em maiúsculas, as letras minúsculas ainda serão usadas nas legendas e citações da figura. Para todas as figuras, legendas de figuras de espaço duplo devem ser fornecidas em uma página separada. As ampliações devem ser incluídas quando apropriado, e todas as abreviaturas devem ser definidas.

Todas as tabelas e figuras devem ser citadas em ordem no texto. Se uma figura foi publicada anteriormente, reconheça sua origem e envie permissão por escrito

do autor e editor. A fonte anteriormente publicada também deve ser incluída na lista de referências.

### **Abreviaturas e Nomenclatura**

As abreviaturas e a nomenclatura devem seguir as recomendações da União Internacional de Química Pura e Aplicada e da União Internacional de Bioquímica nos sites, <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/jcfn/>. Todas as quantidades indicadas devem estar em conformidade com o Sistema Internacional de Unidades (unidades SI). A lista de abreviaturas em Endocrinologia 138: 1 (janeiro de 1997) é geralmente aceitável no JBMM. Os nomes de medicamentos sempre devem ser genéricos. Por favor, indique o nome e a localização (cidade, estado, país) do fabricante de qualquer equipamento referido no seu manuscrito.

### **Referências**

Nome referências consecutivamente na ordem citada no texto usando colchetes: -como mostrado por Suzuki et al. [1], Fujita [2], Brown e Roberts [3]. As referências devem ser listadas em ordem numérica no final do artigo. As referências devem incluir os nomes de todos os autores quando são 19 ou menos; quando 20 ou mais, liste apenas os primeiros 5 nomes e adicione e outros. As referências também devem incluir o título completo. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com Index Medicus e os números de página inclusivos devem ser fornecidos. O estilo da lista de referência para artigos: journal articles2.journal em japonês3.books4.and capítulos em livros editados da seguinte maneira:

1. Tezuka K, Wada Y, Takahashi A (2005) Computersimulated bone architecture in a simple bone-remodeling model based on a reaction-diffusion system. *J Bone Miner Metab* 23:1–7
2. Ishida Y (1998) Studies on induction mechanism of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine especially on the cultured cells from the human spinal ligament (in Japanese). *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi (J Jpn Orthop Assoc)* 62:1019–1027
3. Takahashi HE (1999) *Mechanical Loading of Bones and Joints*. Springer, Tokyo
4. Suzuki F (1994) Regulation of cartilage differentiation and metabolism. In: Heersche JNM, Kanis JA (eds) *Bone and Mineral Research* 8. Elsevier, Amsterdam, pp 115–142

### **Diretriz artística**

#### Elementação eletrônica da figura

- Forneça todas as figuras eletronicamente.
- Indique qual programa gráfico foi usado para criar a arte.
- Para gráficos vetoriais, o formato preferido é EPS; para meios-tons, use o formato de uso. Os arquivos do MS Office também são aceitáveis.
- Os gráficos vetoriais que contêm fontes devem ter as fontes incorporadas nos arquivos.
- Nomeie seus arquivos de figuras com "Fig" e o número da figura, por exemplo, Fig1.eps.Line Art
- Definição: gráfico preto e branco com sem sombreamento
- Não use linhas fracas e / ou letras e verifique se todas as linhas e letras dentro das figuras são legíveis no tamanho final.
- Todas as linhas devem ter pelo menos 0.1 mm (0.3 pt) de largura.
- Desenhos de linhas digitalizados e linha os desenhos no formato bitmap devem ter uma resolução mínima de 1200 dpi.
- Os gráficos vetoriais que contenham fontes devem ter as fontes incorporadas nos arquivos.

### Arte colorida

- A arte colorida é gratuita para publicação on-line.
- Se preto e branco será mostrado na versão impressa, certifique-se de que as informações principais ainda serão visíveis. Muitas cores não são distinguíveis entre si quando convertidas em preto e branco. Uma maneira simples de verificar isso é fazer uma cópia xerográfica para ver se as diferenças necessárias entre as diferentes cores ainda são visíveis.
- Se as figuras serão impressas em preto e branco, não se refiram a cores nas legendas.

### Rotulação de figuras

- Para adicionar letras, é melhor usar Helvetica ou Arial (fontes sem serif).
- Mantenha as letras com tamanho consistente ao longo de suas obras de arte de tamanho final, usualmente cerca de 2-3 mm (8-12 pt).
- A variância do tamanho do tipo dentro de uma ilustração deve ser mínima, por exemplo, não use o tipo de 8 pts em um eixo e o tipo de 20 pts para a etiqueta do eixo.
- Evite efeitos como sombreamento, letras de contorno, etc.
- Não inclua títulos ou legendas em suas ilustrações.

### Numeração de figuras

- Todas as figuras devem ser numeradas usando algarismos arábicos.
- As figuras devem sempre ser citadas no texto em ordem numérica consecutiva.
- As partes da figura devem ser denotadas por letras minúsculas (a, b, c, etc.).
- Se um o apêndice aparece no seu artigo/capítulo e contém uma ou mais figuras, continue a numeração consecutiva do texto principal. Não numerar os números do apêndice, "A1, A2, A3, etc." As figuras em apêndices on-line (material suplementar eletrônico) devem, no entanto, ser numeradas separadamente.

### Legendas de figura

- Cada figura deve ter uma legenda concisa que descreva com precisão o que a figura retrata. Inclua as legendas no arquivo de texto do manuscrito, não no arquivo de figura.
- As legendas das figuras começam com o termo Fig. Em negrito, seguido do número da figura, também em negrito.
- Nenhuma pontuação deve ser incluída após a número, nem qualquer pontuação a ser colocada no final da legenda.
- Identifique todos os elementos encontrados na figura na legenda da figura; e usar caixas, círculos, etc., como pontos de coordenadas em gráficos.
- Identificar material previamente publicado fornecendo a fonte original sob a forma de uma referência de referência no final da figura.

### Posicionamento e tamanho da figura

- Ao preparar suas figuras, tamanho para caber na largura da coluna.
- Para a maioria dos periodicos, as figuras devem ter 39 mm, 84 mm, 129 mm ou 174 mm de largura e não superior a 234 mm.
- Para livros e revistas em tamanho de livro, os números devem ser 80 mm ou 122 mm de largura e não superior a 198 mm.

### **Permissões**

Se você incluir figuras que já foram publicadas em outro lugar, você deve obter permissão do (s) proprietário (s) dos direitos autorais para o formato impresso e on-line. Lembre-se de que alguns editores não concedem direitos eletrônicos de graça e

que a Springer não poderá reembolsar os custos que possam ter ocorrido para receber essas permissões. Em tais casos, o material de outras fontes deve ser usado.

### **Acessibilidade**

Para dar acesso a pessoas de todas as habilidades e deficiências ao conteúdo de suas figuras, certifique-se de que:

- Todas as figuras tenham legendas descritivas (os usuários cegos podem então usar um texto para software de fala ou um hardware de texto para Braille)
- Os padrões são usados em vez disso ou além de cores para transmitir informações (os usuários color-cegos poderiam então distinguir os elementos visuais)
- Qualquer letra de figura tem uma relação de contraste de pelo menos 4.5: 1.

### **Política de Conflitos de Interesse**

Os agentes são obrigados a divulgar relações comerciais ou similares a produtos ou empresas mencionadas ou relacionadas ao assunto do artigo sendo submetido. As afiliações dos autores devem incluir compromissos corporativos relacionados ou em conexão com produtos ou empresas mencionadas no artigo, ou de outra forma sobre o assunto em questão.

As fontes de financiamento para o artigo devem ser incluídas nos agradecimentos. Outras relações financeiras pertinentes, como consultorias, propriedade de ações ou outros interesses patrimoniais ou acordos de licenciamento de patentes, devem ser divulgadas na carta de apresentação ao Editor-Chefe, em uma página de conflito de interesse em separado no manuscrito (veja abaixo para exemplos de como formatar a página de conflito de interesse em seu manuscrito) e no formulário de conflito de interesse que acompanha o artigo no momento da submissão.

O formulário de conflito de interesse, que está disponível em: <http://www.springer.com/774>, deve ser assinado, escaneado e enviado através do Gerente Editorial. Os conflitos de interesse divulgados na forma de conflito de interesse devem ser os mesmos que os divulgados na página de conflito de interesse no manuscrito. As perguntas sobre esta política devem ser direcionadas ao Editor-chefe. Por favor, note: quando considerado necessário, os dados brutos de um manuscrito serão solicitados a ser submetidos e examinados por um terceiro.

#### Não há conflitos de interesse.

- Se nenhum autor tiver um conflito, a declaração deve ler "Todos os autores não têm conflitos de interesse".

### **RESPONSABILIDADES ÉTICAS**

A revista está empenhada em manter a integridade do registro científico. Como membro do Comitê de Ética em Publicações (COPE), a revista seguirá as diretrizes da COPE sobre como lidar com possíveis atos de má conduta. Os autores devem abster-se de deturpar os resultados da pesquisa que possam prejudicar a confiança no jornal, o profissionalismo da autoria científica, e, finalmente, todo o esforço científico. Manter a integridade da pesquisa e sua apresentação pode ser alcançada seguindo as regras da boa prática científica, que incluem:

- O manuscrito não foi submetido a mais de um periódico para consideração simultânea.
- O manuscrito não foi publicado anteriormente (parcialmente ou na íntegra), a menos que o novo trabalho se refira a uma expansão do trabalho anterior (por favor, forneça transparência sobre a reutilização de material para evitar a sugestão de reciclagem de texto ("autoplágio").
- Um único estudo não é dividido em várias partes para aumentar a quantidade de envios e submetidos a várias revistas ou a uma revista ao longo do tempo (por exemplo, "publicação de salame").

- Nenhum dado foi fabricado ou manipulado (incluindo imagens) para apoiar suas conclusões.
- Nenhum dado, texto ou teorias por outros são apresentados como se fossem próprios do autor ("plágio").
- Os agradecimentos adequados a outras obras devem ser fornecidos (isto inclui material que é copiado de perto (quase textual), resumido e / ou parafraseado), aspas são usadas para cópia de material e as permissões são garantidas para material com direitos autorais.

Nota Importante: o periódico pode usar o software para visualizar o plágio. O consentimento para enviar foi recebido explicitamente de todos os co-autores, bem como das autoridades responsáveis - tacitamente ou explicitamente - na instituição/ organização onde o trabalho foi realizado antes o trabalho é submetido.

Os autores cujos nomes aparecem na apresentação contribuíram suficientemente para o trabalho científico e, portanto, compartilham a responsabilidade coletiva e a responsabilidade pelos resultados. Os líderes são fortemente recomendados para garantir o grupo de autores correto, o autor correspondente e a ordem dos autores na submissão.

As mudanças de autoria ou na ordem dos autores não são aceitas após a aceitação de um manuscrito. Adicionar e / ou excluir autores e / ou alterar a ordem dos autores na fase de revisão podem ser justificadamente justificados. Uma carta deve acompanhar o manuscrito revisado para explicar o motivo da (s) mudança (s) e o (s) papel (éis) de contribuição dos autores adicionados e / ou deletados. Pode ser necessária documentação adicional para apoiar o seu pedido. Solicitações de adição ou remoção de autores como resultado de disputas de autoria após a aceitação são homenageadas após a notificação formal pelo instituto ou órgão independente e / ou quando houver acordo entre todos os autores.

Para os autores da solicitação deve estar preparado para enviar documentação ou dados relevantes para verificar a validade dos resultados. Isso pode ser na forma de dados brutos, amostras, registros, etc. Informações confidenciais sob a forma de dados proprietários confidenciais são excluídas. Se houver suspeita de má conduta, a revista realizará uma investigação seguindo as diretrizes da COPE.

Se, após a investigação, a alegação parece suscitar preocupações válidas, o autor acusado será contatado e terá a oportunidade de abordar a questão. Se a falta de conduta foi estabelecida além de qualquer dúvida razoável, isso pode resultar na implementação do Editor-em-chefe das seguintes medidas, incluindo, entre outras: Se o artigo ainda está em consideração, ele pode ser rejeitado e devolvido ao autor. Se o artigo já tiver sido publicado on-line, dependendo da natureza e gravidade da infração, uma errata será colocada com o artigo ou, em casos graves, a retração completa do artigo ocorrerá.

A razão deve ser dada na errata ou na nota de retração publicada. Por favor, note que a retração significa que o papel é mantido na plataforma, com a marca de água "retraída" e a explicação para a retração é fornecida em uma nota vinculada ao artigo com marca de água. A instituição do autor pode ser informada. Após a aceitação. Em caso de aceitação do seu artigo, você receberá um link para o aplicativo de consulta de autor especial na página da Web de Springer, onde você pode assinar a Declaração de transferência de direitos autorais on-line e indicar se deseja ordenar impressões ou imprimir figuras em cores. Uma vez que o Pedido de Consulta do Autor tenha sido concluído, seu artigo será processado e você receberá as provas.

A transferência de direitos autorais será solicitada a transferência de direitos autorais do artigo para a Sociedade Japonesa de Pesquisa Óssea e Mineral e Springer. Isso garantirá a maior proteção possível e divulgação de informações sob as leis de direitos autorais. As impressões off prints podem ser ordenadas pelo autor correspondente. Ilustrações coloridas A publicação em linha de ilustrações a cores é gratuita. Para a cor na versão impressa, espera-se que os autores contribuam para os custos extras (€ 950 por artigo). Se preto e branco serão exibidos na versão impressa,

certifique-se de que as informações principais ainda serão visíveis. Muitas cores não são distinguíveis entre si quando convertidas em preto e branco. Uma maneira simples de verificar isso é fazer uma cópia xerográfica para ver se as distinções necessárias entre as diferentes cores ainda são evidentes.

Teste de leitura: O objetivo da prova é verificar erros de composição ou conversão e a integridade e precisão do texto, tabelas e figuras.

Alterações substanciais no conteúdo, por exemplo, novos resultados, valores corrigidos, título e autoria, não são permitidos sem a aprovação do Editor. Após a publicação on-line, outras mudanças podem apenas seja feito sob a forma de um Errata, que será hiperlink para o artigo.

O artigo será publicado on-line após o recebimento das provas corrigidas. Esta é a primeira publicação oficial citada com o DOI. Após o lançamento da versão impressa, o papel também pode ser citado por números de números e números. A impressão em massa comercial do site de publicação on-line é estritamente proibida. O Springer está implementando certas restrições técnicas em arquivos PDF publicados on-line para impedir a impressão de cópias em massa comercialmente. Seremos obrigados a agir legalmente, ou seja, processar por danos, se a evidência de tal uso indevido de publicações on-line for descoberta.

## Anexo C

Motriz é uma Revista Científica lançada em 1995, que é publicada trimestralmente pelo Departamento de Educação Física, Instituto de Biociências, Universidade Estadual de São Paulo, em Rio Claro, Estado de São Paulo, Brasil. Desde 2016, a Motriz publicou artigos exclusivamente em formato eletrônico usando o sistema de submissão de ScholarOne e os manuscritos somente em inglês são aceitos.

### Escopo da Revista

A Motriz foi projetada para disseminar o conhecimento da ciência do exercício que é relevante para todos os pesquisadores e profissionais envolvendo pesquisas básicas ou aplicadas. Motriz incentiva envios manuscritos de diferentes campos da ciência do exercício, incluindo treinamento esportivo, esportes adaptativos, psicologia esportiva, biomecânica e controle neural de movimentos, atividade física e saúde, treinamento esportivo e esportes e lazer de aventura.

A Motriz usa a política de "Acesso aberto", permitindo acesso livre e irrestrito aos seus conteúdos. É necessária a submissão somente em linha e, após o registro bem-sucedido no site da Revista, é responsabilidade do autor atualizar documentos e informações pessoais.

O título abreviado de Motriz Journal é Motriz: J. Phys. Ed., Que pode ser usado em citações, notas de rodapé e na lista de referências. eISSN: 1980-6574.

Língua: somente os manuscritos em inglês são aceitos.

### Organização do manuscrito:

Presente seu manuscrito na ordem abaixo:

#### 1. Primeira página:

Título: Primeira letra maiúscula, letras subsequentes em minúsculas. Evite abreviaturas.

Todos os autores nomeiam e afiliações. Se necessário, use letras minúsculas com letras finais após o nome do autor para distinguir afiliações

Autor a quem devem ser enviadas provas e correspondências, incluindo nome, endereço postal, números de telefone e fax e endereço de e-mail.

2. Um resumo estruturado deve ser enviado para artigos originais (não para mini comentários). Não há mais de 250 palavras com os seguintes títulos: Objetivos; métodos; resultados; e conclusão.

3. Texto principal: O manuscrito deve incluir as seguintes seções: Introdução, Métodos, Resultados, Discussão e Conclusões. O manuscrito deve ser de dois espaços, fonte Times, tamanho 12 pt., Texto justificado à esquerda, com número de páginas limitado como as seções acima. O tamanho da margem da página é de 2,5 cm, superior, inferior, lado esquerdo e direito. Figuras e tabelas devem ser inseridas no final do manuscrito, devidamente numeradas e rotuladas. Se o manuscrito for aprovado, será solicitado um arquivo jpg ou tiff para cada figura. Cada página deve ser numerada, com as linhas numeradas para facilitar o processo de revisão.

### Estilo de referência

#### Texto

Use algarismos arábicos no texto em sobrescrito de ordem numérica separados por vírgula 1,2,3,4,5,6. Os autores podem ser encaminhados, mas o número (s) de referência deve ser sempre dado. Exemplo:

'... como demonstrado<sup>3,6</sup>. Engles e Jones<sup>8</sup> obtiveram um diferente ... '

### Lista de referência

No final do artigo, na mesma ordem em que foram citados no texto, a referência completa com o (s) nome (s) do autor, título do diário / título do livro, título do capítulo / título do artigo, ano de publicação, número do volume / capítulo do livro e a paginação deve estar presente.

Siga os exemplos abaixo para formatar as referências do seu manuscrito.

Exemplos:

Artigos

1. Cayres SU, de Lira FS, Machado-Rodrigues AM, Freitas Junior IF, Barbosa MF, Fernandes RA. O papel mediador da inatividade física na relação entre inflamação e espessura da artéria em adolescentes pré-púberes. J Pediatr. 2015; 166 (4): 924-9.

Se o trabalho que você precisa fazer referência tem mais de seis autores, você deve listar os seis primeiros autores, seguido por 'et al.':

2. Antunes M, Christofaro DG, Monteiro PA, Silveira LS, Fernandes RA, Mota J, et al. Efeito do treinamento concorrente em variáveis bioquímicas específicas de gênero e adiposidade em adolescentes obesos. Arch Endocrinol Metab. 2015; 59 (4): 303-9.

LIVRO: IMPRESSO

3. Zanesco A, Puga G, editores. Doenças cardiometabólicas e exercícios físicos. Ed. Rio De Janeiro, Revinter, 2013.

CAPÍTULO DO LIVRO

4. Santos DM, Pesquero JL. Exercício físico e sistema renina-angiotensina. Em: Doenças cardiometabólicas e exercícios físicos. Rio de Janeiro, Revinter; 2013. p. 69-80.

E-BOOK: ONLINE / ELETRONIC

5. Simons NE, Menzies B, Matthews M. Um breve curso de engenharia de solo e rocha. Londres: Thomas Telford Publishing; 2001. Disponível em: <http://www.myilibrary.com?ID=93941> [Acessado em 18 de junho de 2015].

WEB PAGE / WEBSITE

6. Agência Espacial Europeia. Rosetta: rendezvous com uma cometa. Disponível em: <http://rosetta.esa.int> [Acessado em 15 de junho de 2015].

DISSERTAÇÕES E TESES

7. Souza AP. Participação de selênio na resistência à cardiopatia chagásica. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado em Biologia Parasitária] - "Instituto Oswaldo Cruz; 2003.

8. Ribeiro H. Ilha de calor na cidade de São Paulo: sua dinâmica e efeitos na saúde da população. São Paulo. Tese [Livre-Docência em Saúde Pública] - Faculdade de Saúde Pública da USP; 1996.

O uso do DOI é altamente encorajado.

Todos os manuscritos passarão por uma modificação editorial, por isso é importante verificar cuidadosamente as provas. O autor correspondente receberá um e-mail pedindo-lhes que verifiquem suas provas. O e-mail terá um link para que os autores acessem suas provas PDF on-line, ou terão uma prova de PDF anexada.

Para evitar atrasos na publicação, as provas devem ser verificadas e devolvidas dentro de 2 dias úteis. O método preferido de correção é por PDF anotado. Alterações extensas ao texto podem ser cobradas ao autor.



### Direitos autorais

Os direitos autorais de artigos publicados são propriedade da Motriz, e em nenhuma circunstância o Jornal transferirá os direitos do trabalho publicado. A reprodução de porções de artigos publicados em outras publicações, ou para qualquer outro uso, está sujeita a permissão por escrito dos Editores em Chefe. Após a aceitação de um artigo, os autores serão convidados a concluir um "Acordo de publicação de jornal". A aceitação do acordo assegurará a divulgação mais ampla possível de informações. Um e-mail será enviado ao autor correspondente, confirmando o recebimento do manuscrito junto com um formulário "Acordo de publicação de jornal" ou um link para a versão on-line deste contrato.

### **Diretrizes e ética do jornal**

- A Motriz publica estudos que foram aprovados por uma Instituição Comitê de Ética (quando um estudo envolve humanos ou animais). Falha em fornecer essas informações para evitar a publicação do manuscrito. Para garantir esses requisitos, é essencial que a documentação de inscrição esteja completa com os três documentos necessários: Aprovação do Comitê de Ética Institucional; Declaração de conflito de interesse; Acordo de publicação de jornal assinado pelo autor correspondente em nome de co-autores. Esses arquivos suplementares devem ser anexados no sistema eletrônico Motriz. A Motriz reserva todos os direitos de seus artigos publicados. Portanto, qualquer duplicação de informações transmitida na revista ou publicada anteriormente em outra publicação - a partir de materiais publicados pelos próprios autores ou de autoria de outros - é considerada infração de direitos autorais. Esta é uma violação muito grave da ética e, nesses casos, serão tomadas medidas disciplinares (por exemplo, retração do artigo, suspensão dos autores e co-autores implicados por um período mínimo de cinco anos, ou mediante discrição do conselho editorial).

### **Processo de revisão do usuário**

Um manuscrito original submetido para publicação será submetido ao processo de revisão, desde que se ajuste aos seguintes critérios:

- O estudo não foi publicado anteriormente, nem foi submetido simultaneamente para consideração de publicação em outro lugar;
- Todas as pessoas listadas como autores aprovaram sua submissão à Motriz;
- Qualquer pessoa citada como fonte de comunicação pessoal aprovou a citação;
- As opiniões expressas pelos autores são de sua exclusiva responsabilidade;
- O autor assina uma declaração formal de que o manuscrito submetido cumpre as instruções e diretrizes da Motriz.

### **O Editor**

Os Editores, Chefe e Associados farão uma análise preliminar sobre a adequação, qualidade, originalidade e estilo / gramática escrita do manuscrito enviado. Os editores se reservam o direito de solicitar informações adicionais, correções e conformidade de diretrizes antes de enviar o manuscrito para o processo de revisão "ad hoc".

As mudanças no texto podem ser feitas a critério dos Editores Chefe e/ou editores associados. As mudanças podem incluir ortografia e gramática no idioma escolhido, estilo escrito, citações de jornais e diretrizes de referência. O autor é notificado de mudanças em qualquer ponto do processo de revisão ou durante a produção de papel para publicação.

A versão final está disponível para o autor para sua aprovação antes de ser publicada. A Motriz usa revisores "ad hoc", que se voluntariam para analisar o mérito do estudo. Normalmente, um ou mais revisores especialistas são consultados em um processo único cego. Os autores são notificados por e-mail quando o seu envio foi aceito (ou rejeitado).