

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

MARIA LUIZA SERRADOURADA WUTZKE

**EFEITO DA PLATAFORMA VIBRATÓRIA NA REMOBILIZAÇÃO DE RATOS
WISTAR**

CASCADEL - PR

Fevereiro/2020

MARIA LUIZA SERRADOURADA WUTZKE

**EFEITO DA PLATAFORMA VIBRATÓRIA NA REMOBILIZAÇÃO DE RATOS
WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa De Pós-Graduação Stricto Sensu 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: Biologia, processo saúde-doença e políticas de saúde

ORIENTADOR: Prof. Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini

Coorientador: Prof. Dr. Alberito Rodrigo de Carvalho

CASCADEL-PR

Fevereiro/2020

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Wutzke, Maria Luiza Serradourada
EFEITO DA PLATAFORMA VIBRATÓRIA NA REMOBILIZAÇÃO DE
RATOS WISTAR / Maria Luiza Serradourada Wutzke;
orientador(a), Gladson Ricardo Flor Bertolini;
coorientador(a), Alberito Rodrigo de Carvalho, 2020.
78 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste
do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde, Graduação em Fisioterapia Programa de
Pós-Graduação em Biociências e Saúde Ciências Aplicadas à
Saúde, 2020.

1. atrofia por desuso. 2. vibração mecânica. 3.
plataforma vibratória. I. Flor Bertolini, Gladson Ricardo.
II. de Carvalho, Alberito Rodrigo. III. Título.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Cascavel CNPJ 78880337/0002-45
Rua Universitária, 2069 - Jardim Universitário - Cx. P. 000711 - CEP 85819-110
Fone: (45) 3320-3000 - Fax: (45) 3324-4586 - Cascavel - Paraná



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

MARIA LUIZA SERRADOURADA WUTZKE

Efeito da plataforma vibratória na remobilização de ratos wistar.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biociências e Saúde, área de concentração Biologia, Processo Saúde-doença e Políticas de Saúde, linha de pesquisa Processo Saúde-doença, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a) - Gladson Ricardo Fior Bertolini

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Marcia Miranda Torrejas

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Demival Bertinello

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

Cascavel, 4 de março de 2020

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser o único capaz de me entender e colocar pessoas maravilhosas na minha vida. Ele é a razão de tudo isso.

Aos meus pais, Aldino e Luiza, por todo o apoio emocional e por acreditar em mim. Aos meus Tios, Arlindo e Sílvia, por me encorajar a sempre avançar e não desistir dos meus objetivos; sem eles, eu não estaria onde estou, jamais seria quem sou. Obrigada por acreditarem em mim.

Aos meus irmãos, Debora, Esther Melissa, Rachel e Samuel, por todo o apoio durante essa jornada. Obrigada a toda a minha família, pela compreensão, ao serem privados em muitos momentos da minha companhia e atenção.

Ao meu orientador, professor Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolin, obrigada pela confiança, por todo o conhecimento compartilhado durante todos esses anos; agradeço por toda a paciência para me guiar até aqui. E ao meu coorientador, professor Dr.

Alberito, por toda ajuda e pelo aprendizado transmitido. Muito obrigada por tudo!

À professora Dra. Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro, por acreditar em mim, por sua disposição em ajudar e auxiliar-me em toda essa caminhada.

Meu sincero agradecimento a todos os colegas do laboratório, envolvidos na realização deste trabalho, em especial, a Ana Luiza Peretti, por toda ajuda e dedicação.

Aos meus amigos, que me ouviram, me acolheram e me ajudaram a ir além.

RESUMO

WUTZKE, M.L.S. **Efeito da plataforma vibratória na remobilização de ratos wistar**. 75 páginas. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus Cascavel, Unioeste, 2020.

A imobilização é utilizada no tratamento de lesões musculoesqueléticas, porém, desencadeia alterações adaptativas nos diferentes sistemas orgânicos que ocasionam a perda funcional. Na tentativa da recuperação dos prejuízos musculares, funcionais e nociceptivos, os exercícios físicos são amplamente utilizados. No entanto, ainda, há lacunas quanto ao tipo de protocolo de remobilização mais efetivo para a remobilização. Uma modalidade terapêutica alternativa que vem sendo utilizada é a vibração mecânica, por meio da plataforma vibratória, pois promove ganhos significativos de trofismo muscular e função. O presente estudo tem como objetivo comparar os efeitos da remobilização livre isolada, com os efeitos da remobilização livre associados à plataforma vibratória sobre a nocicepção, funcionalidade e morfologia do músculo sóleo de ratos Wistar. Para tanto, 28 ratos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n=7): GC (Controle); GI (apenas imobilizado), imobilizados conforme protocolo padrão; GRL (imobilização e remobilização livre); GRPV (imobilização e remobilização com plataforma vibratória). Para a remobilização com plataforma, foi utilizada a frequência de 60 Hz, durante 10 minutos, cinco dias por semana, durante duas semanas. Foi avaliada a nocicepção da pata posterior direita antes da imobilização, de forma prévia e ao final do tratamento com vibração, assim como as filmagens para o IFA. Após o período experimental, os animais foram devidamente eutanasiados e o músculos sóleo direito foram dissecados para análise histomorfométrica. O músculo sóleo foi analisado quanto ao comprimento e as alterações na fibra muscular, pela análise da área de secção transversa, maior e menor diâmetro, quantidade de fibras, número de núcleos e razão de núcleos por fibra. Também, foi analisada a quantidade de capilar e a razão de capilar por fibra. A partir das análises dos grupos GRL e GRPV, observou-se que, para variável da nocicepção, houve redução do limiar causado pela imobilização e aumento após a remobilização. Na avaliação funcional, os animais imobilizados reduziram a função enquanto os animais remobilizados obtiveram melhora da funcionalidade. Houve aumento do comprimento de GRL comparado ao GC e ao GI; além disso, o GRPV foi maior que o grupo GI. A partir das análises morfométricas, observou-se que a imobilização reduziu a área, diâmetro maior e menor da fibra muscular comparado ao GC. O GRPV aumentou a área e diâmetro maior comparado à GRL. O GI teve mais fibra que GC, GRL e GRPV. GI também teve mais núcleos que GC; observou-se redução dos núcleos nos grupos remobilizados quando comparados ao GI. Com relação à razão de capilares por fibras, o GRPV teve valores maiores do que os demais grupos; ademais, houve aumento do tecido conjuntivo em GI. Comparado à GC, os grupos remobilizados tiveram mais tecido conjuntivo que o GC e menos do que o controle. Com este trabalho, conclui-se que a imobilização acarreta prejuízos funcionais, aumento do limiar nociceptivo e prejuízos ao músculo sóleo. A plataforma vibratória é eficaz para a remobilização.

Palavras-Chave: vibração, atrofia por desuso, exercício físico.

ABSTRACT

WUTZKE, M.L.S. **Effect of the vibratory platform on the remobilization of wistar rats.** 78 páginas. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus Cascavel, Unioeste, 2020.

Immobilization is used to treat musculoskeletal injuries, however, it triggers adaptive changes in different organ systems that lead to functional loss. In an attempt to recover muscle, functional and nociceptive damage, physical exercises are widely used. However, there are still gaps as to the type of remobilization protocol most effective for remobilization. An alternative therapeutic modality that has been used is mechanical vibration, through the vibrating platform, as it promotes significant gains in muscle trophism and function. The present study aims to compare the effects of isolated free remobilization, with the effects of free remobilization associated with the vibrating platform on nociception, functionality and morphology of the soleus muscle of Wistar rats. For that, 28 rats were randomly divided into four experimental groups (n = 7): CG (Control); IG (immobilized only), immobilized according to standard protocol; GRL (free immobilization and remobilization); GRPV (immobilization and remobilization with vibrating platform). For platform remobilization, the frequency of 60 Hz was used for 10 minutes, five days a week, for two weeks. The nociception of the right posterior paw was assessed before immobilization, before and at the end of the treatment with vibration. Just like filming for the IFA. After the experimental period, the animals were properly euthanized, and the right soleus muscles were dissected for histomorphometric analysis. The soleus muscle was analyzed for length and changes in muscle fiber, by analyzing the cross-sectional area, larger and smaller diameter, quantity of fibers, number of cores and ratio of cores to fiber. The amount of capillary and the capillary to fiber ratio were also analyzed. From the analyzes of the GRL and GRPV groups, it was observed that for the nociception variable there was a reduction in the threshold caused by immobilization and an increase after remobilization. In the functional evaluation, the immobilized animals reduced the function while the remobilized animals obtained improved functionality. There was an increase in the length of GRL compared to the CG and the GI, in addition, the GRPV was greater than the GI group. From the morphometric analysis, it was observed that the immobilization reduced the area, larger and smaller diameter of the muscle fiber compared to the CG. GRPV increased the area and larger diameter compared to GRL. The IG had more fiber than GC, GRL and GRPV. GI also had more nuclei than GC, a reduction in nuclei was observed in the remobilized groups when compared to GI. Regarding the ratio of capillaries to fibers, the GRPV had higher values than the other groups, hearing an increase in connective tissue in GI compared to CG, the remobilized groups had more connective tissue than the CG and less than the control. With this work, it is concluded that immobilization causes functional damage, increased nociceptive threshold and damage to the soleus muscle. The vibrating platform is effective for remobilization.

Keywords: vibration, atrophy due to disuse, physical exercise

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ilustração dos componentes do músculo esquelético.....	12
Figura 2 – Organização da miofibrila.....	13
Figura 3 – Aparato para imobilização.....	38
Figura 4 - Plataforma vibratória.....	39
Figura 5 - Sarcômero do músculo sóleo.....	40
Figura 6 - Análise morfológica do sóleo.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultado nocicepção.....	28
Tabela 2 – Resultado Índice Funcional de Aquiles.....	42
Tabela 3 – Resultado comprimento e sarcômeros do músculo sóleo.....	43
Tabela 3 – Resultados histomorfometria.....	45
	47

LISTA DE ABREVIATURAS

AVC	Acidente vascular cerebral
AMPK	Proteína quinase ativada
ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina trifosfato
CaSO ₄	Sulfato de cálcio
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
E1	Proteína ativadora
E2	Proteína carreadora
E3	Proteína ligase
EROs	Espécies reativas de oxigênio
<i>GIMP</i>	GNU Programa de Manipulação de Imagens
<i>GC</i>	Grupo Controle
<i>GI</i>	Grupo Imobilizado
<i>GRL</i>	Grupo Remobilização Livre
<i>GRPV</i>	Grupo Remobilização com Plataforma vibratória
HE	Hematoxilina e eosina
Hz	Hertz
IFA	Índice Funcional de Aquiles
IGF-Ia	Célula-tronco mesenquimal
MEC	Matriz extracelular
<i>mRNA</i>	Ácido Ribonucleico mensageiro
MuRF1	Muscle ring finger
PAX7	Proteína
VCI	Vibração de corpo inteiro
YAP1	Célula-tronco mesenquimal

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	12
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS	14
1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3. REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1 MÚSCULO ESQUELÉTICO	11
3.2 DESUSO	14
3.3 IMOBILIZAÇÃO E REMOBILIZAÇÃO	16
3.4 PLATAFORMA VIBRATÓRIA	19
ARTIGO CIENTIFICO 1	23
ARTIGO CIENTIFICO 2	35
REFERÊNCIAS GERAIS	57
ANEXO A	66
ANEXO B	68

1. INTRODUÇÃO

O músculo esquelético é responsável por gerar força, capacitando o indivíduo para o desempenho físico (FANZANI *et al.*, 2012). O tecido muscular corresponde a 40% do peso corporal (BUFFA *et al.*, 2011); além de ser o reservatório corporal de proteína, apresenta regiões funcionais contráteis e tecido conjuntivo que representa a parte não contrátil do músculo, sendo tais regiões essenciais para a manutenção da integridade e função muscular (FANZANI *et al.*, 2012; JÄRVINEN *et al.*, 2002).

Algumas condições são potencialmente capazes de alterar a dinâmica muscular, tais como o desuso decorrente de doenças neurológicas e degenerativas, em que há necessidade da permanência no leito e repouso por um longo período. Outra forma de desuso é a imobilização, em que há necessidade de limitação da atividade de um membro, como ocorre no tratamento de fraturas ósseas, lesões musculares, articulares, rupturas ligamentares e após cirurgias (FANZANI *et al.*, 2012; PEZOLATO *et al.*, 2014).

A imobilização desencadeia alterações adaptativas aos sistemas orgânicos, o que ocasiona a perda funcional global e local, prejudicando o retorno às atividades normais (SPRÍCIGO; SILVA; ARRUDA, 2011). Os prejuízos gerados pelo desuso ocorrem tanto no osso, pela diminuição da densidade mineral óssea, quanto no músculo, pelo desequilíbrio na homeostase proteica, com aumento da degradação de proteínas, da produção de radicais livres, redução na geração de força muscular, lesão nas fibras musculares e atrofia muscular (FANZINI *et al.*, 2012; PEZOLATO *et al.*, 2014). Além disso, há alterações no sistema neural associado ao desuso motor, pela ativação dos neurônios nociceptivos primários (OHMICH *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2015). Estímulos nocivos provocam alterações no sistema nervoso central, modificando os mecanismos desencadeados pelos estímulos aferentes. A estimulação persistente de nociceptores provoca dor espontânea, redução do limiar de sensibilidade e hiperalgesia (HAMAUE *et al.*, 2015; ROCHA *et al.*, 2007).

Assim, após o período de imobilização, o sistema musculoesquelético precisa de estímulos para acelerar o processo de recuperação. Para tanto, a literatura aponta tratamentos para a reparação dos danos causados ao tecido muscular pela imobilização, como o ultrassom terapêutico, eletroestimulação e exercício físico, sendo este último o que mais se destaca dentre as estratégias de reabilitação. No entanto, nem todas as modalidades de exercícios físicos podem ser aplicadas após a imobilização, sendo que algumas podem, inclusive, dificultar o retorno do indivíduo às atividades de vida diária (ARTIFON *et al.*, 2012; KUNZ *et al.*, 2014; KNEPPERS *et al.*, 2019; OZAKI, 2014).

Assim, são necessárias pesquisas que busquem estratégias terapêuticas de remobilização, as quais acelerem a recuperação tecidual e reabilitem o paciente o mais precocemente possível. Nesse contexto, a plataforma vibratória surge como uma forma de reabilitação física por promover um estímulo vibratório mecânico indireto,

sendo transmitido para os vários tecidos do corpo até chegar ao tecido muscular e ósseo (RITTWEGGER, 2010).

O sistema mecânico, usado no treinamento de vibração, gera ondas que transferem a energia da plataforma vibratória para o corpo humano. As vibrações descritas nos protocolos clínicos podem ter frequências de 5 até 60 Hertz (Hz) e amplitudes de 1 até 10 mm. Considerando as diversas combinações possíveis de frequência e amplitude para o uso da plataforma vibratória, não há padronização para a aplicação na rotina terapêutica (YANG *et al.*, 2017; SANTOS-FILHO *et al.*, 2015; PARK; SON; KWON, 2015; RITTWEGGER, 2010).

Estudos reportam a eficácia da plataforma vibratória na capacidade funcional e na manutenção da estrutura muscular, bem como no aprimoramento da capacidade de geração de força pelo músculo, pois, por meio da vibração, produz-se contração muscular não voluntária pelo fenômeno do reflexo vibratório tônico (RVT). Isso é causado pela ativação do sistema sensorial proprioceptivo, que é baseado na excitação de sinais aferentes do fuso neuromuscular (CERCIELLO *et al.*, 2016; KOMRAKOVA *et al.*, 2013; RITTWEGGER, 2010).

Os mecanismos de ação propostos para analgesia pela VCI (vibração de corpo inteiro) estão ligados à teoria das comportas, em que a ativação de mecanorreceptores e fibras A β competem com a atividade nociceptiva periférica e central no corno dorsal da medula espinhal, o que promove a redução da atividade nociceptiva de segunda ordem, com subsequente diminuição da percepção da dor. Além disso, pode propiciar a redução da dor por inibição pré-sináptica dos neurônios nociceptivos e motores (16)

No entanto, os efeitos da plataforma vibratória, como ferramenta para reduzir os efeitos negativos do imobilismo na nocicepção, na funcionalidade e no músculo, ainda são pouco conhecidos. Dessa forma, justifica-se o estudo para elucidar os efeitos da plataforma vibratória no processo de remobilização, mantendo-se a dose fixa, estabelecida pela manutenção da combinação de frequência vibratória, amplitude, frequência e duração da aplicação do estímulo, de forma constante.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Comparar os efeitos da remobilização livre isolada, com os efeitos da remobilização livre, associados à plataforma vibratória, sobre a funcionalidade e morfologia do músculo sóleo de ratos *Wistar*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da imobilização e remobilização no limiar nociceptivo
- Avaliar a função do tendão do calcâneo após a remobilização livre associada à plataforma vibratória
- Analisar as adaptações morfológicas e morfométricas musculares do sóleo induzidas pela plataforma vibratória associada à remobilização livre.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 MÚSCULO ESQUELÉTICO

O músculo esquelético, do ponto de vista mecânico, tem função na estabilização postural e para o movimento, a fim de permitir a participação em contextos sociais e ocupacionais, mantendo ou melhorando a saúde, além de contribuir para a independência funcional. Do ponto de vista metabólico, o músculo esquelético contribui para o metabolismo energético basal, servindo como armazenamento para substratos importantes, a exemplo de aminoácidos e

carboidratos. Além disso, é responsável pela produção de calor para a manutenção da temperatura corporal (OSTROVIDOV *et al.*, 2014; FRONTERA; OCHALA, 2015).

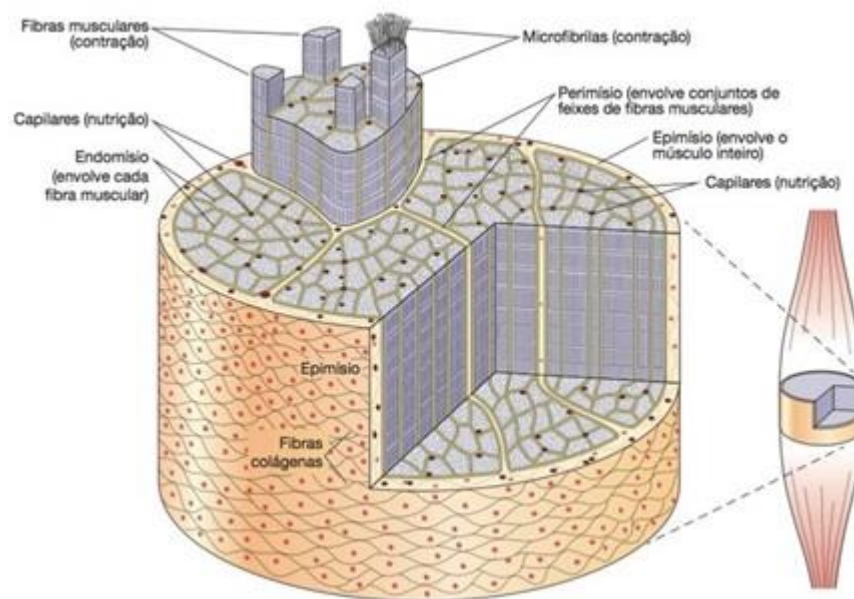
O tecido muscular esquelético tem a sua origem no embrião pela fusão dos mioblastos; é formado por feixes de células longas de até 30 cm, denominadas fibras musculares. Essas fibras são cilíndricas; apresentam o diâmetro de 10 a 100 μm , bem como múltiplos núcleos em sua periferia. Além disso, é composto por células satélites, que são as células-tronco adultas do músculo esquelético. Essas células estão localizadas entre o sarcolema e a lâmina basal e contribuem para o crescimento, reparo e regeneração muscular. Quando ativadas por fatores miogênicos, as células satélites proliferam e se diferenciam em novas fibras musculares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; WISDOM; DELP; KUHL, 2015; FRONTERA; OCHALA, 2015).

A estrutura muscular é caracterizada pelo arranjo de fibras musculares e tecido conjuntivo associado. A fibra muscular esquelética é envolta pelo tecido conjuntivo, chamado de endomísio. O conjunto de fibras musculares formam os fascículos, os quais são envoltos por perimísio; a união dos fascículos forma o músculo esquelético, que é envolto pelo epimísio (Figura 1) (TURRINA; GONZÁLEZ; STECCO, 2013; WISDOM; DELP; KUHL, 2015).

A matriz extracelular (MEC) é responsável por 1-10% da massa muscular total, sendo os fibroblastos as células precursoras da MEC. Esta caracteriza-se pelo tecido conjuntivo intramuscular, que consiste principalmente de colágeno, elastina, fibroblastos e vasos sanguíneos. A organização do tecido conjuntivo é importante para a funcionalidade, pois promove a união das fibras musculares, permitindo o seu alinhamento; isso possibilita que a força de contração gerada de uma fibra atue sobre todo o músculo. Além disso, a força de contração do músculo é transmitida para os tendões e ossos por meio do tecido conjuntivo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; LANGEVIN; NEDERGAARD; HOWE, 2013; WISDOM; DELP; KUHL, 2015).

Ademais, a MEC auxilia a nutrição e oxigenação dos tecidos, além de interagir com fatores de crescimento, como de fibroblastos 2 e miostatina, para, respectivamente, promover ou inibir o crescimento muscular, formando o ambiente necessário para quiescência de células satélites, ativação, migração, diferenciação miogênica e desenvolvimento muscular (MIAO *et al.*, 2016). Em um estudo de Urciuolo *et al.* (2013), foi observado que o componente extracelular, colágeno VI, regula a renovação e diferenciação de células satélites.

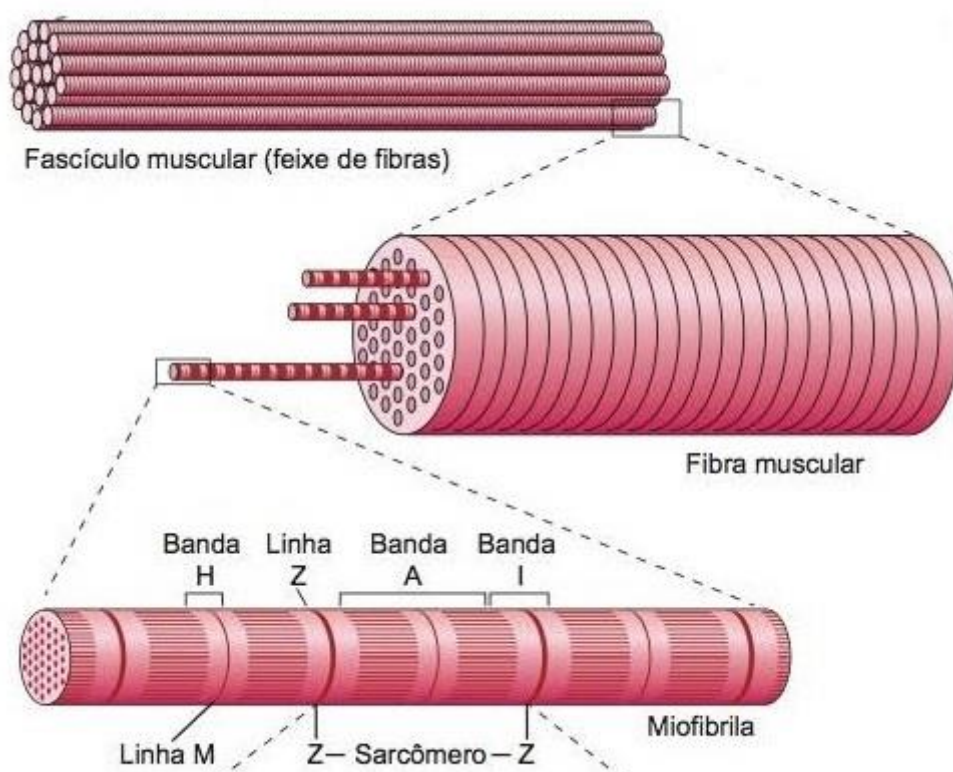
Figura 1 – Componentes do músculo esquelético



Fonte: Junqueira e Carneiro (2013, p.179).

A fibra muscular contém muitos feixes de filamentos cilíndricos que são denominados de miofibrilas, as quais apresentam o arranjo repetitivo de sarcômeros. Os filamentos de sarcômeros em série representam 80% do volume total das fibras musculares, sendo as unidades contráteis do músculo esquelético. Os sarcômeros são definidos como a região entre duas linhas escuras (linhas Z) de proteínas densas. Entre duas linhas Z, existem duas bandas leves (bandas I) com filamentos de actina, separadas por uma banda escura (banda A), que possui filamentos de miosina, os quais se sobrepõem uns aos outros. A banda A também tem uma zona central mais clara (zona H), que não se sobrepõe às bandas I quando o músculo está em estado relaxado; a zona H é separada em duas partes por uma linha escura média (linha M) (Figura 2) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; OSTROVIDOV *et al.*, 2014; WISDOM; DELP; KUHL, 2015).

Figura 2 – Esquema demonstrando a organização da miofibrila.



Fonte: Junqueira e Carneiro (2013, p.184) (adaptado).

Os sarcômeros de diferentes miofibrilas estão alinhados nas células do músculo esquelético e apresentam estriações transversais pela alternância de faixas claras e escuras. Quando o músculo se contrai, os filamentos de actina são puxados ao longo do filamento de miosina, em direção à linha M, e a área de sobreposição entre os filamentos de miosina e actina aumenta, enquanto a zona H diminui e o músculo fica mais curto (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; OSTROVIDOV *et al.*, 2014; WISDOM; DELP; KUHL, 2015) (Figura 2).

Sabe-se que o músculo esquelético é heterogêneo e há variabilidade significativa nos fenótipos bioquímicos, mecânicos e metabólicos das fibras musculares. Assim, há diferentes tipos de fibras que compõem o músculo; em humanos, elas são classificadas em três tipos (I, IIa e IIx), de acordo com as isoformas da cadeia pesada da miosina (OSTROVIDOV *et al.*, 2014; WISDOM; DELP; KUHL, 2015).

As fibras do tipo I são vermelhas devido à presença de mioglobina; elas dependem do metabolismo oxidativo para gerar ATP, assim, são caracterizadas como

fibras de contração lenta. As fibras do tipo IIa têm pouca mioglobina e IIb não apresenta mioglobina; devido a isso, elas são brancas, apresentam contração rápida e dependem do metabolismo glicolítico para gerar ATP. A composição do tipo de fibra muscular esquelética pode mudar em diferentes espécies, localização e função anatômica (OSTROVIDOV *et al.*, 2014; WISDOM; DELP; KUHL, 2015).

O músculo sóleo é considerado um músculo postural profundo; sua contração é predominantemente lenta, no rato e no ser humano, de maneira que seu fenótipo é considerado oxidativo (BODINE *et al.*, 2013; HAZLIP; HARRISON; LEINWAND, 2016). Durante períodos de imobilização, o músculo sóleo pode mudar a predominância da contração lenta para a rápida. Assim, há mudança do metabolismo oxidativo para glicolítico (MURPHY; DOWLING; OHLENDIECK, 2016).

3.2 DESUSO

Atualmente, estudos sobre o desuso são pertinentes, pois sabe-se que o sistema musculoesquelético é acometido por essa situação, independentemente da causa, seja por lesão da medula espinhal, AVC (acidente vascular cerebral), voo espacial de longo prazo, repouso no leito ou imobilização. Por esse motivo, destaca-se a importância e o interesse de estudos relacionados ao desuso. Sabe-se que a perda óssea aumenta a possibilidade de fraturas, assim como a perda muscular influencia a condição do tecido ósseo (SIEVÄNEN, 2010; MCGEE-LAWRENCE; CAREY; DONAHUE, 2008).

Assim, a inatividade do indivíduo ocasiona problemas de sua condição física, mental e social (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Além disso, são percebidos impactos na sociedade, como o impacto financeiro, causado por faltas no trabalho e gastos com serviços de saúde, relacionados indiretamente ao manejo e reabilitação do indivíduo, acometido pelas alterações relacionadas ao desuso. Quanto maior o tempo de inatividade ou imobilização, maiores serão seus efeitos aos sistemas do organismo. Ademais, sabe-se que o desuso predispõe a implantação de complicações cardiovasculares, respiratórias, gastrointestinais, sendo capaz de atingir até o sistema nervoso central (BOECHAT, 2012; GOSWAMI *et al.*, 2017).

O sistema musculoesquelético é comumente acometido pela Síndrome do Imobilismo, causando atrofia das fibras musculares e fraqueza muscular (CAZEIRO;

PERES, 2010). Além disso, o repouso prolongado resulta na remoção de forças compressivas longitudinais nos membros inferiores e na coluna vertebral; durante as atividades verticais, a contração muscular ainda pode ocorrer, mas as forças musculares produzidas são reduzidas, pois não há ativação da reação ao solo (BLOOMFIELD, 2010).

Durante o repouso prolongado, a tendência é que se desenvolvam contraturas. Embora as contraturas possam ter origem nas articulações, nas partes moles ou nos músculos, todos esses tecidos tendem a desenvolver limitações secundárias, o que dificulta a mobilidade, a qual é essencial para a qualidade de vida, independência e autocuidado. Independentemente da faixa etária e da condição prévia do sujeito, as reações do organismo à inatividade ocorrem rapidamente e sua recuperação é lenta (CAZEIRO; PERES, 2010).

Se o descondicionamento limitar severamente ou bloquear a atividade ambulatorial, então, a redução na força e potência muscular pode se tornar autoperpetuante. Esses déficits musculares são frequentemente acompanhados por inflamação generalizada e distúrbios metabólicos que dificultam a recuperação da função muscular. Para evitar o desuso, são necessárias intervenções para remobilizar o paciente o mais cedo possível. A literatura disponível aponta a dificuldade e a complexidade envolvida no treinamento adequado de músculos atingidos pelo desuso. Outrossim, é necessário considerar que a remobilização, para ser eficiente, precisa ser interdisciplinar e multidimensional (GOSWAMI *et al.*, 2017).

Para tanto, são necessários protocolos para otimizar as contramedidas, a fim de evitar atrofia muscular induzida pela imobilização em ambientes clínicos, reabilitação, envelhecimento e para manter uma qualidade muscular dos membros de missões espaciais de longo prazo, sendo a vibração de corpo inteiro (VCI) uma alternativa promissora (SALANOVA *et al.*, 2015).

3.3 IMOBILIZAÇÃO E REMOBILIZAÇÃO

A imobilização é utilizada como tratamento para condições que afetam o sistema musculoesquelético e é considerada uma forma de tratamento conservador para entorses e luxações de articulações, fraturas, pós-operatórios de reparos de tendões e, também, utilizada como tratamento em pacientes neurológicos (AL-

MOHREJ; AL-KENANI, 2016; JUNG *et al.*, 2018; MAAS *et al.*, 2012; WEERT, *et al.*, 2012).

O músculo esquelético apresenta plasticidade para a sobrecarga ou descarga e a sua estrutura tem influência em seu comportamento mecânico, para promover a manutenção da massa muscular. Assim, os músculos são dependentes de cargas externas, como a reação ao solo, além da ativação neural para a contração muscular. Quando há redução das cargas ou da ativação neural, ocorrem alterações na morfologia, bioquímica e fisiologia muscular, sendo capazes de promover a atrofia muscular por desuso (ATHERTON *et al.*, 2016; BLOOMFIELD, 2010; NARICI, FRANCHI, MAGANARIS, 2016).

As alterações, que ocorrem durante a imobilização, dependem do grau de restrição e da posição articular em que o membro foi imobilizado (ATHERTON *et al.*, 2016). Estudos apontam que os músculos, quando imobilizados em encurtamento, são mais suscetíveis à atrofia muscular, se comparado com a imobilização em alongamento. Ademais, as fibras do tipo I, as fibras lentas, são mais vulneráveis à atrofia devido ao seu perfil metabólico oxidativo e às características antigravitacionais dos músculos posturais ou tônicos (KUNZ *et al.*, 2014; ONDA *et al.*, 2016; PETRINI *et al.*, 2016). A gravidade da atrofia também está relacionada ao tamanho do músculo e ao tempo de permanência em desuso, pois as alterações são observadas após três dias de desuso e ocorrem, de maneira progressiva, entre 7 e 14 dias (ATHERTON *et al.*, 2016; GAO *et al.*, 2018).

O desuso pode alterar o músculo, tanto em sua estrutura como função. As características modificáveis da estrutura são percebidas pela mudança na área de secção transversa e aumento do espaço entre as miofibrilas, ou seja, aumento do tecido conjuntivo. Em consequência disso, há alteração da contratilidade e a capacidade de gerar força fica comprometida, pois, durante o período de imobilidade, ocorre alteração da interação entre a actina e miosina. Assim, a redução da função intrínseca do músculo pode ocorrer devido às deficiências dos miofilamentos (MILLER, CALLAHAN, TOTH, 2014).

A manutenção da massa muscular depende do equilíbrio de dois processos: a taxa de síntese e a degradação proteica. Quando não há homeostase, a taxa de degradação de proteínas é maior que a taxa de produção, consequentemente, há perda da massa muscular (BODINE, 2013; BODINE; BAEHR, 2014).

Os principais mecanismos envolvidos na degradação de proteínas são: o sistema lisossomal, as caspases e a via da ubiquitina-proteassoma, sendo este último o principal deles (BODINE, 2013). A hidrólise, quebra da proteína pelo sistema de proteassoma da ubiquitina, requer uma sequência de ativação de três componentes enzimáticos: a enzima E1, que ativa a ubiquitina e transfere para uma família de enzimas conjugadas; a ubiquitina (E2), que conjuga a ubiquitina a substratos proteicos em conjunto com uma terceira proteína, que é a ubiquitina-proteína ligase (E3), a qual se liga ao substrato, pois é capaz de reconhecer múltiplos substratos proteicos (WING, 2013; GAO *et al.*, 2018).

Duas classes específicas de proteínas E3 (MuRF1 e MAFbx) são descritas pela literatura como responsáveis pelo processo de degradação de proteínas, assim, promovem a atrofia do músculo esquelético. Em vários modelos animais de atrofia muscular por desuso (imobilização, voos espaciais e denervação), os níveis de RNAm de ambos os genes (MuRF1/MAFbx) aumentaram, promovendo a ativação da via para a atrofia muscular (BODINE; BAEHR, 2014; GAO *et al.*, 2018).

O desuso, no tecido muscular, promove um acúmulo de proteínas e lipídios oxidativamente modificados. O estresse oxidativo é caracterizado pela redução na capacidade antioxidante e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas fibras musculares inativas; esse é considerado um dos principais desencadeantes do desequilíbrio entre a síntese e a degradação de proteínas, que ocasionam a atrofia muscular. O estresse oxidativo promove a expressão de proteínas envolvidas nas vias proteolíticas, como a autofagia, a calpaína e o sistema de proteólise ubiquitina-proteassoma, durante períodos prolongados de inatividade (POWERS; SMUDER; JUDGE, 2013; GAO *et al.*, 2018).

Além das alterações, relacionadas à característica das fibras musculares, a imobilização ocasiona o espessamento do tecido conjuntivo no músculo sóleo, o que propicia a superexpressão do colágeno tipo I e III; assim, os vasos sanguíneos ficam envoltos por uma densa camada de tecido conjuntivo. Dessa forma, tal barreira pode perturbar o fornecimento de sangue para as fibras musculares, formando um ciclo vicioso, pois isso estimula a produção do tecido conjuntivo (JÄRVINEN *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2019).

Em geral, não há um consenso na literatura sobre qual é a maneira apropriada para a remobilização, pois sabe-se que o sistema musculoesquelético está em

constante mudança, devido à carga externa, interna, mecânica, hidráulica ou eletromagnética de diferentes intensidades (YAVROPOULOU; YOVOS, 2016).

De acordo com estudos anteriores, é possível que ocorra a regeneração muscular em um período de 15 dias de remobilização, sendo observado, pelo aumento da massa muscular total, o tamanho da fibra e da força contrátil do músculo (FENG *et al.*, 2016; GAO *et al.*, 2018). Assim, várias intervenções terapêuticas e programas de reabilitação têm sido utilizados para recuperar as alterações deletérias que ocorrem no músculo esquelético, quando imobilizados. O exercício físico, especialmente com carga, é, portanto, uma das melhores medidas contra a atrofia por desuso e alterações funcionais (GAO *et al.*, 2018). A literatura enfatiza que o exercício físico é capaz de melhorar os efeitos negativos causados pela imobilização; para tanto, deve ocorrer a regulação da massa muscular e plasticidade metabólica (KUNZ *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2016; KNEPPERS *et al.*, 2019).

Em um estudo de Benedini-Elias *et al.* (2014), os autores sugerem que a remobilização por alongamento ou exercício em esteira (excêntrico) é eficaz, apontando que o período de 10 dias de reabilitação desencadeou intensa resposta regenerativa ao músculo sóleo, sendo que, em 21 dias de exercício excêntrico, promoveu maiores respostas hipertróficas e angiogênicas ao músculo sóleo. Já Cornachione *et al.* (2011), encontraram, em seu estudo, que as densidades de capilares sanguíneos e a relação entre capilar por fibra muscular foram positivamente afetadas por dois métodos de reabilitação, o que consistiu em corrida em esteira, utilizando um grupo para exercício concêntrico e outro excêntrico.

Kunz *et al.* (2014) encontraram que a imobilização reduziu massa, diâmetro da fibra e comprimento do músculo sóleo; as remobilizações livres e com exercícios terapêuticos foram capazes de restabelecer a organização tecidual do músculo supracitado. Ademais, a utilização do exercício de natação combinado com o salto em meio aquático promoveu o aumento do diâmetro da fibra muscular do sóleo em relação ao grupo somente imobilizado, assim, aponta para uma recuperação da capacidade contrátil muscular conseguida por meio do exercício físico durante a remobilização.

Salanova *et al.* (2015) realizaram um estudo associando a VCI com exercícios resistidos; eles concluíram que a estimulação por vibração mecânica sobreposta ao exercício resistido exerce respostas fisiológicas em perfis globais de transcrição

gênica, controlando alguns dos principais mecanismos de manutenção relacionados ao estado estrutural e funcional normal no músculo esquelético humano após desuso.

3.4 PLATAFORMA VIBRATÓRIA

A plataforma vibratória possui a capacidade de promover fenômenos biológicos adaptativos quando o indivíduo estiver em contato direto com a vibração, constituída por oscilação mecânica capaz de gerar força, aceleração e deslocamento ao longo do tempo. Assim, durante a vibração, a energia gerada é transferida de um atuador (a plataforma vibratória) para um ressonador (o corpo humano). Na maioria dos aparelhos, esse modo de exercício utiliza oscilações com forma sinusoidal (RITTWEGER, 2010).

São descritos dois tipos principais de plataformas vibratórias: as oscilatórias, que se movimentam verticalmente em torno de um eixo central; e as de ação triplanar em que a vibração ocorre de maneira uniforme nas direções anterior/posterior (plano frontal), direita-esquerda (plano sagital) e sentido superior para inferior (eixo vertical) (AMARAL; PÉRCORA, 2012; PARK; SON; KWON, 2015). A plataforma vibratória triplanar é indicada para prevenção, reabilitação e para melhorar o desempenho físico (AMARAL; PÉRCORA, 2012).

O efeito da vibração depende da amplitude e frequência das oscilações. A amplitude é determinada pelo deslocamento pico a pico da plataforma; são deslocamentos que resultam em força gravitacional menor que 1 até maior que 15 G, com a taxa de repetição de ciclos de oscilações, denotada pela frequência da vibração (medida em Hz), sendo utilizadas entre 5-90 Hz. Estudos afirmam que frequências mais altas apresentam melhores resultados do que frequências mais baixas; as ressonâncias das vibrações ocorrem em frequências mais altas, o que pode explicar porque são mais eficazes (RITTWEGER, 2010; EDWARDS; REILLY, 2015; PARK; SON; KWON, 2015; CERCIELLO *et al.*, 2016).

Em um estudo de McKeehen *et al.* (2013), sobre o treinamento com vibração de baixa intensidade, utilizando frequência de 45 Hz e amplitude de 1 G, observaram que, apesar de ganhos na contratilidade muscular, não conseguiram observar as adaptações celulares e moleculares. Assim, é importante reconhecer que os mecanismos subjacentes à remodelação do músculo em resposta ao treinamento de

vibração de baixa intensidade, utilizado pelos autores no estudo, podem não ser os mesmos que fundamentam as respostas à vibração de alta intensidade (MCKEEHEN *et al.*, 2013).

Sabe-se que a estimulação por vibração se baseia em encurtamentos rápidos após estiramento, controlados pela frequência, por um grande número de contrações, que podem aumentar a força e potência muscular. As respostas são resultado da ativação neuronal pelo recrutamento das unidades motoras durante a vibração de corpo inteiro. Evidências sustentam essa hipótese e propõem que há aumento da força muscular após a estimulação vibratória (SALANOVA *et al.*, 2015).

A plataforma vibratória pode induzir contração muscular, não voluntária, por meio do fenômeno do reflexo vibratório tônico. A teoria é de que esse fenômeno seja causado pela ativação do sistema sensorial proprioceptivo, que é baseado na excitação de sinais aferentes do fuso neuromuscular, o qual é sensível às mudanças no comprimento das fibras musculares. O estímulo vibratório induz a ativação dos motoneurônios, seja por vias monossinápticas (aferentes primárias ou Ia) ou polissinápticas (secundárias ou aferentes II); assim, eles recrutam fibras musculares (HALLAL; MARQUES; GONCALVES, 2010; RITTWEGGER, 2010; CERCIELLO *et al.*, 2016). Mesmo se a vibração não causar a ativação direta dos fusos, ela pode ocorrer pelo envolvimento indireto dos fusos musculares, em que outras entradas sensoriais podem influenciar a atividade do motoneurônio gama (γ), causando mudanças ao fuso muscular e ativação da contração muscular (COCHRANE, 2011).

Além disso, parte do efeito exercido pela VCI nos músculos e tendões pode estar relacionado às variações na função do sistema endócrino. Nesse nível, foi demonstrado um aumento nas concentrações séricas do hormônio do crescimento (GH) e testosterona, além de uma diminuição no cortisol após as aplicações de VCI. Dessa maneira, as variações nos níveis de GH podem ser conseqüências do aumento das cargas gravitacionais produzidas pela plataforma vibratória (CERCIELLO *et al.*, 2016).

Os efeitos dos reflexos de estiramento são comprovados por um estudo de Ritzmann *et al.* (2010), que aponta, pela atividade eletromiográfica, que os músculos extensores de perna (músculos sóleo, gastrocnêmio medial e reto femoral) são contraídos por reflexo de estiramento induzidos pela vibração.

Outra teoria para explicar a ação da plataforma vibratória é de que a estimulação da VCI ocasiona vibrações aos tecidos moles que tenham propriedades

viscoelásticas. A energia mecânica da vibração pode ser armazenada e retornada pelas estruturas elásticas do complexo músculo-tendão, em que o amortecimento das vibrações pode resultar em uma dissipação de energia mecânica, sendo absorvida pelo músculo ativado. Para evitar a ressonância, os tecidos moles amortecem as vibrações, que fazem com que os órgãos sensoriais enviem impulsos ao sistema nervoso central para aumentar a atividade muscular e ajustar a rigidez articular (COCHRANE, 2011).

Os efeitos da vibração, como o aumento da massa muscular, são observados em alguns estudos. Em uma pesquisa de Komrakova *et al.* (2013), os autores observaram que animais com deficiência de estrogênio perderam massa muscular; assim, com o uso da plataforma vibratória, foi possível retornar aos níveis iniciais (RITTWEGER, 2010; CERCIELLO *et al.*, 2016). Além disso, a VCI também tem sido explorada como uma modalidade de tratamento para atrofia por desuso (BettisB.-J. KimM. W. Hamrick; 2018). Outros benefícios das vibrações mecânicas estão relacionados ao aumento da força, melhora da vascularização e nutrição muscular (RITTWEGER, 2010; CERCIELLO *et al.*, 2016).

Em geral, o uso da vibração para melhorar a condição do sistema musculoesquelético em pacientes, que não são capazes de manter altos níveis de atividade ou terapia com exercícios, é promissor (EDWARDS; REILLY, 2015). Em uma meta-análise de Lau *et al.* (2011) sobre o efeito da vibração de corpo inteiro em idosos, eles apontam que a VCI pode fornecer uma alternativa segura e viável para melhorar a força muscular dos membros inferiores para aqueles que não podem tolerar outras formas de exercícios.

Assim, é essencial a busca por comprovações sobre os efeitos da plataforma vibratória, para que esse instrumento seja utilizado com maior segurança, evitando efeitos adversos dessa modalidade terapêutica (PAIVA; CABEZULO; BERNANDO-FILHO, 2014). De acordo com o estudo de Cerciello *et al.* (2016), a vibração de alta intensidade pode acarretar danos musculares e dores nas articulações. Diante disso, são recomendados parâmetros de vibração com baixa intensidade (<1 g) em altas frequências (30–100 Hz).

ARTIGO CIENTÍFICO 01

**EFEITOS NOCICEPTIVOS DA PLATAFORMA VIBRATÓRIA NA
REMOBILIZAÇÃO DE RATOS WISTAR**

BRAZILIAN JOURNAL OF PAIN

NORMAS DA REVISTA: ANEXO B

ARTIGO CIENTÍFICO 1

Autores: Maria Luiza Serradourada Wutzke; Juliana Roncini Gomes da Costa; Ana Luiza Peretti; Gladson Ricardo Flor Bertolini

Avaliação da nocicepção induzida pela remobilização com vibração de corpo inteiro em ratos Wistar

RESUMO

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: A plataforma vibratória pode atenuar os efeitos deletérios da imobilização relacionados à atrofia muscular; contudo, ainda há uma lacuna com relação ao efeito dessa modalidade na hiperalgesia relacionada ao imobilismo. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar o efeito da remobilização com plataforma vibratória sobre a nocicepção de ratos Wistar. **MÉTODOS:** Dezesesseis ratos foram distribuídos aleatoriamente no grupo GRL - imobilização e remobilização livre, e no grupo GRPV - imobilização e remobilização com plataforma vibratória. Para a remobilização com plataforma vibratória, foi utilizada a frequência de 60Hz, durante 10 minutos, cinco dias por semana, durante duas semanas. A nocicepção foi avaliada na pata direita, por meio de um analgesímetro digital, antes e ao final da imobilização, bem como após duas semanas de remobilização. **RESULTADOS:** Houve diferenças entre as avaliações, mas não entre os grupos, indicando que a imobilização reduziu o limiar nociceptivo; já a remobilização livre e associada à vibração, melhoraram o limiar nociceptivo comparado com o momento pós-imobilização; no entanto, não foram capazes de retornar aos parâmetros iniciais.

CONCLUSÃO: A imobilização articular reduziu o limiar nociceptivo. No entanto, duas semanas de remobilização com a vibração de corpo inteiro não foram capazes de reverter o limiar nos grupos imobilizados.

Descritores: Hiperalgesia, Imobilização, Vibração.

Introdução

A imobilização articular é utilizada como tratamento para lesões do sistema musculoesquelético^{1,2}. No entanto, existem riscos associados à imobilização, como rigidez articular, atrofia muscular, degradação da cartilagem, enfraquecimento ligamentar, redução da força muscular e resistência óssea^{3,4}. Alterações sensoriais,

como a hiperalgesia, podem ocorrer após o imobilismo. Além disso, há alterações no sistema neural, associado ao desuso motor, pela ativação dos neurônios nociceptivos primários⁵⁻⁷. Quanto maior o tempo de inatividade ou imobilização, maiores serão seus efeitos nos sistemas do organismo. Além disso, o imobilismo predispõe complicações cardiovasculares, respiratórias, gastrointestinais, podendo atingir o sistema nervoso central (SNC). Se o descondicionamento limitar gravemente ou bloquear a atividade ambulatorial, então, a redução na força e potência muscular pode se tornar autoperpetuante. Esses défices musculares são frequentemente acompanhados por inflamação generalizada⁸, condição que pode ocasionar a hiperalgesia⁹.

A hiperalgesia pode estar relacionada ao processo inflamatório, pois a inflamação aumenta a sensibilidade das fibras A delta e C no local da inflamação. Isso aumenta a excitabilidade dos neurônios da medula espinhal e é capaz de aumentar as respostas sensoriais, incluindo os estímulos táteis normalmente inócuos que são transportados pelas fibras A beta de limiar baixo¹⁰. Além disso, a hiperalgesia mecânica induzida pela imobilização pode ser explicada pelo mecanismo de sensibilização central (SC), baseada em alterações no corno dorsal da medula espinhal. Estímulos nocivos provocam alterações no SNC, modificando os mecanismos desencadeados pelos estímulos aferentes. A estimulação persistente de nociceptores provoca dor espontânea, redução do limiar de sensibilidade e hiperalgesia^{11,12}. Nesse contexto, tanto o exercício físico quanto a eletroestimulação são ótimos recursos para a restauração das valências físicas, após a imobilização, sendo benéficos para a recuperação muscular¹³. Estudos confirmam que o exercício é capaz de restaurar o trofismo muscular, além de aumentar a resistência óssea^{14,15}. A vibração de corpo inteiro (VCI) reproduz os efeitos do exercício, influenciando positivamente a função e a coordenação muscular, aumento da força e da potência muscular, melhora da vascularização e nutrição muscular, além de efeitos na flexibilidade muscular, redução do início da fadiga, aumento da densidade óssea e redução da dor^{16,17}. A VCI possui a capacidade de promover fenômenos biológicos adaptativos quando o indivíduo está em contato direto com a vibração, constituída por oscilação mecânica capaz de gerar força, aceleração e deslocamento ao longo do tempo¹⁶. A vibração induz a transmissão do estímulo através da pele para os demais segmentos corporais, portanto, os receptores da pele e tendão também podem ser ativados e fornecer sinais sensoriais para as áreas corticais somatossensoriais do cérebro^{16,18,19}. O exercício físico parece ser importante modulador da dor, pois é capaz

de liberar betaendorfina dos axônios hipotalâmicos. A beta-endorfina é secretada pelo hipotálamo eferentes ao PAG e ativa o receptor opioide de neurônios GABA e o sistema modulador da dor descendente. Assim, a hiperalgesia pode ser reduzida por causa do exercício sistêmico, mesmo que, após a imobilização, o membro afetado não esteja com as funções normais^{6,19}. Os mecanismos de ação propostos para a analgesia pela VCI estão ligados à teoria das comportas, em que a ativação de mecanorreceptores e fibras A β competem com a atividade nociceptiva periférica e central no corno dorsal da medula espinhal, o que promove a redução da atividade nociceptiva de segunda ordem, com subsequente diminuição da percepção da dor. Além disso, pode ocasionar a redução da dor por inibição pré-sináptica dos neurônios nociceptivos e motores¹⁹. Estudo²⁰ aponta que a VCI é capaz de reduzir o nível de dor e aumentar a funcionalidade em indivíduos com osteoartrose. Autores²¹, utilizando a VCI em idosos com osteoartrose, constataram que a vibração melhora a autopercepção da dor, equilíbrio, qualidade da marcha e marcadores inflamatórios. É conhecido que a plataforma vibratória pode atenuar os efeitos deletérios da imobilização relacionados à atrofia muscular e melhorar a capacidade vascular^{22,23}. No entanto, o efeito dessa modalidade de tratamento na hiperalgesia relacionada ao imobilismo ainda é pouco conhecido. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar o efeito da remobilização com plataforma vibratória sobre a nocicepção de ratos Wistar.

Metodologia

O presente estudo caracteriza-se como de caráter experimental e quantitativo. Foram utilizados 16 ratos da linhagem *Wistar*, com idade de 8 semanas e massa corporal média de 267,3 ($\pm$ 13,8) g, mantidos em caixas padrão de polipropileno, em ambiente com temperatura de 22($\pm$ 1)°C, com fotoperíodo de 12 horas, recebendo água e ração *ad libitum*. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Unioeste e todas as diretrizes nacionais e internacionais, aplicáveis para o cuidado e o uso dos animais, foram seguidas, sendo conduzido segundo as Normas Internacionais de Ética em Experimentação Animal.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais, com oito ratos em cada: Grupo imobilização e remobilização livre (GRL), no qual os animais, submetidos à imobilização durante 15 dias, foram remobilizados de forma livre e eutanasiados no 30° dia de experimento, sem qualquer tipo de intervenção; Grupo imobilização e remobilização livre associado à plataforma vibratória (GRPV),

no qual os animais, submetidos à imobilização, foram remobilizados com VCI, além de ficarem soltos na caixa, como o grupo GRL.

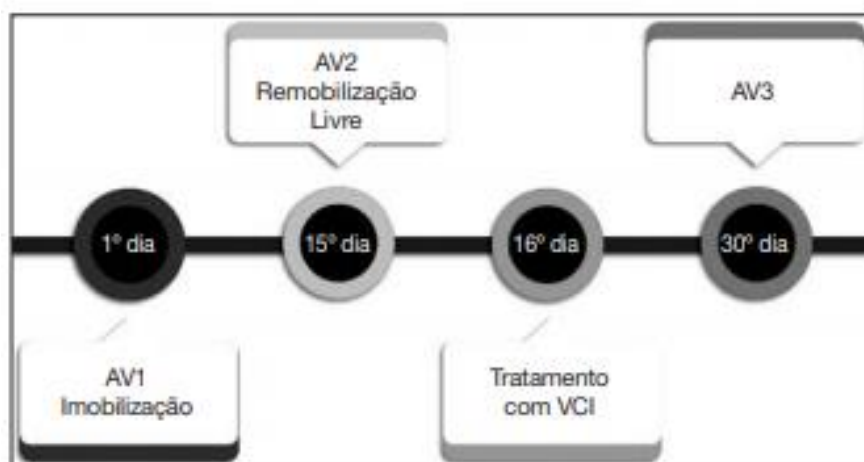


Figura 1. Linha do tempo do experimento AV = avaliação; VCI = vibração de corpo inteiro.

Para realizar a imobilização, os animais foram anestesiados (cloridrato de xilazina 15mg/kg e cloridrato de quetamina 80 mg/kg, intraperitoneal) e imobilizados com uma atadura gessada. Os grupos experimentais imobilizados tiveram a órtese moldada a partir da região abdominal, logo abaixo das últimas costelas, seguindo para o membro pélvico direito de cada animal; a articulação do joelho permaneceu em extensão e o tornozelo em flexão plantar. Os animais foram mantidos nessa posição por um período de 15 dias consecutivos (4).

Para o tratamento de vibração mecânica, foi utilizado o modelo de plataforma Vibro Oscilatória triplanar profissional, da marca Arktus® (Santa Tereza do Oeste-PR, Brasil). A frequência utilizada foi de 60Hz, com vibrações alternadas com uma amplitude de 2 milímetros, durante 10 minutos (21); o procedimento foi realizado durante duas semanas, sendo efetivado cinco dias por semana, com descanso de dois dias ao final da semana. Foi utilizado um suporte confeccionado com madeira MDF, que permitiu posicionar oito animais concomitantemente em baias com 13 centímetros de largura, 19 centímetros de comprimento e altura de 25 centímetros. Para minimizar um possível viés sobre pontos distintos de aceleração e amplitude sobre a plataforma vibratória, foi realizado um rodízio entre as baias durante o tratamento (21,22).

A avaliação do Limiar Nociceptivo foi realizada por meio de um analgesímetro digital, tipo filamento de Von Frey digital da Insight® (Ribeirão Preto-SP, Brasil). O

animal foi mantido em uma caixa elevada com piso de tela, assim, a ponta de polipropileno do filamento foi aplicada, de forma perpendicular, na região plantar do membro pélvico direito (Figura B), com uma pressão crescente até que o animal retirasse a pata. Em cada avaliação, o teste foi repetido três vezes e utilizado o valor médio, realizado sempre pelo mesmo avaliador. O procedimento foi concretizado em todos os grupos antes da imobilização (AV1), após os 15 dias de imobilização (AV2) e ao final do protocolo de vibração (AV3).

Análise estatística

A análise dos dados foi realizada com Modelos Lineares Generalizados, com pós-teste LSD. Em ambos os casos, o nível de significância foi de 5%; para tanto, foi utilizado o SPSS 20.0. Também, foi avaliado o tamanho de efeito por d de Cohen, com base na primeira avaliação para determinado grupo, o qual foi classificado como: 0,8: grande.

RESULTADOS

Houve diferenças entre as avaliações ($F=225,51$) p, mas, não houve diferença entre os grupos ($F=0,26$, $p=0,614$), nem interação ($F=0,491$, $p=0,616$), indicando que a imobilização reduziu o limiar nociceptivo e a remobilização livre; assim, com associação de vibração, melhoram o limiar nociceptivo comparados à AV2. No entanto, não foram capazes de retornar aos parâmetros iniciais. Em ambos os grupos, foi possível observar que os tamanhos de efeito foram grandes (Figura 2).

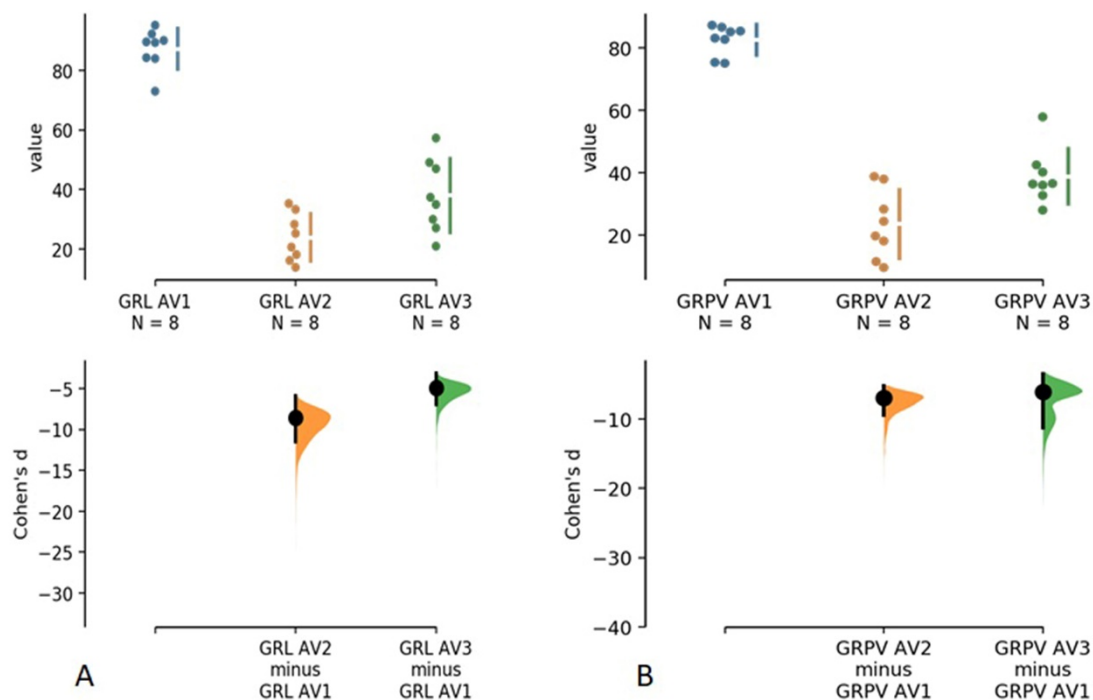


Figura 2. Apresentação dos dados observados para o grupo de remobilização livre (GRL) e para o grupo em que foi associada a vibração do corpo inteiro (GRPV), com a distribuição e tamanhos de efeito. AV = avaliação; GRL = grupo remobilização livre; GRPV = grupo remobilização com plataforma vibratória.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a nocicepção de ratos submetidos à imobilização articular e o efeito da VCI sobre a remobilização. A imobilização articular afetou o limiar nociceptivo, pois houve redução para o limiar de retirada. Sabe-se que a imobilização é utilizada para o tratamento de lesões e alterações musculoesqueléticas^{1,2}; no entanto, devido ao desuso, é possível que ocorram complicações, ou seja, efeitos indesejáveis durante esse período.

De acordo com o estudo²⁶, a imobilização promove alterações inflamatórias locais e dor no membro imobilizado. Apontam que duas semanas de imobilização resultaram em mudanças de pele, tais como, rubor, edema e alteração na temperatura do membro imobilizado, características encontradas durante um processo inflamatório.

Outro mecanismo de hipersensibilidade, induzida pela imobilização, é a SC, que é causada pelo aumento na excitabilidade da membrana, alteração da eficácia

sináptica ou pela redução da inibição sobre esse sistema²⁷. Evidências apontam que estímulos nocivos provocam alterações no SCN, modificando os mecanismos desencadeados pelos estímulos aferentes. Assim, alterações da homeostase podem interferir nas propriedades dos neurônios e aumentar as respostas às aferências nociceptivas^{11,12,27}.

Estudo⁷ aponta que a SC pode ocorrer devido à plasticidade neuronal. Ao analisar a expressão do peptídeo, relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), na medula espinhal e no gânglio da raiz dorsal (DRG), encontraram aumento da expressão de CGRP no DRG nos animais submetidos à imobilização. Além disso, a SC está presente como uma resposta anormal a estímulos nociceptivos e há dispersão da sensibilidade além do local em que é gerada a dor²⁷, o que é confirmado por outro estudo²⁶, o qual aponta que a hiperalgesia mecânica vai além do membro imobilizado, ocorrendo também no membro pélvico contralateral e cauda.

Estudo²⁸ observou que ocorrem alterações inflamatórias durante a imobilização, de forma que há associação com a SC. Esses dados corroboram a hipótese de que a imobilização com gesso, durante 4 semanas, favoreceu a sinalização neuropeptídica exagerada no membro imobilizado, o que contribui para o desenvolvimento do comportamento da dor e alterações inflamatórias vasculares. Além disso, encontraram a proliferação de queratinócitos e expressão do mediador inflamatório, aumento da expressão de fator de crescimento nervoso (NGF) na medula espinhal lombar, sensibilização nociceptiva dos membros posteriores, aumento de temperatura e edema.

A VCI aparece na reabilitação como proposta para acelerar a recuperação durante e após o desuso. No entanto, pode ser prejudicial e evocar dor em animais. Estudo²⁹ afirma que 7 dias de aplicação de VCI são capazes de alterar o limiar de retirada do membro pélvico. Sabe-se que as vibrações de alta intensidade são responsáveis por lesões musculares, dores nas costas e nas articulações¹⁷. De forma contrária, em estudo²⁴ com ratas ooforectomizadas, a VCI por 4 e 8 semanas não alterou o limiar nociceptivo. Ainda, estudos em humanos apontaram que a VCI foi capaz de reduzir a dor lombar, osteoartrite, dor articular e muscular¹⁹. No entanto, não houve nenhum relato encontrado sobre o efeito da plataforma vibratória em relação à nocicepção após imobilização.

No presente estudo, teve-se, como premissa, a possibilidade de a vibração aumentar o limiar nociceptivo, com base em sua ativação de mecanismos

neurofisiológicos da coluna vertebral e supraespinhais durante a VCI^{19,30}. Outras explicações possíveis incluem diminuição da inflamação com VCI repetida, sugerida pela redução de biomarcadores de inflamação, como o cortisol¹⁹. Foi observada diferença entre as avaliações, assim, a plataforma vibratória e a remobilização livre reduziram a hiperalgesia. No entanto, duas semanas de tratamento não foram capazes de retornar aos parâmetros iniciais, sendo apontado que a hiperalgesia mecânica pode persistir por até 10 semanas de remobilização²⁶.

Em estudo⁶, foi realizada vibração local durante o período de imobilização, por 15 minutos, uma vez ao dia, 5 dias por semana, durante 8 semanas. Os autores observaram que o grupo, que recebeu a terapia vibratória, durante o período de imobilização, apresentou prevenção primária e inibição da hipersensibilidade. Já a aplicação da terapia vibratória, como prevenção secundária, após 4 semanas de imobilização, não foi eficaz no tratamento da hipersensibilidade induzida pela imobilização.

Apesar de não terem sido observados efeitos na restauração do limiar nociceptivo, também não foram observados efeitos deletérios. É necessária a realização de estudos que verifiquem o efeito da VCI em fase inicial da imobilização, inclusive, com tempo maior de VCI, sendo essa outra limitação do presente estudo. Futuros estudos devem explorar outras formas de avaliação do sinal algico, como teste de dor ao frio e calor.

CONCLUSÃO

A imobilização articular reduziu o limiar nociceptivo. No entanto, duas semanas de remobilização com VCI, com 60Hz, por 10 minutos diários, não foram capazes de reverter o limiar nos grupos imobilizados.

REFERÊNCIAS

1. Al-Mohrej OA, Al-Kenani NS. Acute ankle sprain: conservative or surgical approach? EFORT Open Rev. 2016;1(2):34-44.
2. Omid A, Zargar F. Effect of mindfulness-based stress reduction on pain severity and mindful awareness in patients with tension headache: a randomized controlled clinical trial. Nurs Midwifery Stud. 2014;3(3):e21136.

3. Kunz RI, Coradini JG, Silva LI, Bertolini GR, Brancalhão RM, Ribeiro LF. Effects of immobilization and remobilization on the ankle joint in Wistar rats. *Braz J Med Biol Res.* 2014;47(10):842-9.
4. Szostakowski B, Smitham P, Khan WS. Plaster of Paris—short history of casting and injured limb immobilization. *Open Orthop J.* 2017;11(1):291-6.
5. Santos-Júnior FF, Pires Ade F, Ribeiro NM, Mendonça VA, Alves JO, Soares PM, et al. Sensorial, structural and functional response of rats subjected to hind limb immobilization. *Life Sci.* 2015;137:158-63.
6. Hamaue Y, Nakano J, Sekino Y, Chuganji S, Sakamoto J, Yoshimura T, et al. Effects of vibration therapy on immobilization-induced hypersensitivity in rats. *Phys Ther.* 2015;95(7):1015-26.
7. Hamaue Y, Nakano J, Sekino Y, Chuganji S, Sakamoto J, Yoshimura T, et al. Immobilization-induced hypersensitivity associated with spinal cord sensitization during cast immobilization and after cast removal in rats. *J Physiol Sci.* 2013;63(6):401-8.
8. Goswami N, Blaber AP, Hinghofer-Szalkay H, Montani JP. Orthostatic intolerance in older persons: etiology and countermeasures. *Front Physiol.* 2017;8:803.
9. Chuganji S, Nakano J, Sekino Y, Hamaue Y, Sakamoto J, Okita M. Hyperalgesia in an immobilized rat hindlimb: effect of treadmill exercise using non-immobilized limbs. *Neurosci Lett.* 2015;584:66-70.
10. Neumann S, Doubell TP, Leslie T, Woolf CJ. Inflammatory pain hypersensitivity mediated by phenotypic switch in myelinated primary sensory neurons. *Nature.* 1996;384(6607):360-4.
11. Sekino Y, Nakano J, Hamaue Y, Chuganji S, Sakamoto J, Yoshimura T, et al. Sensory hyperinnervation and increase in NGF, TRPV1 and P2X3 expression in the epidermis following cast immobilization in rats. *Eur J Pain.* 2014;18(5):639-48.

12. Rocha AP, Kraychete DC, Lemonica L, Carvalho LR, Barros GA, Garcia JB, et al. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. *Rev Bras Anesthesiol*. 2007;57(1):94-105.
13. Silva LI, Meireles A, Nascimento CM, Rocha BP, Rosa CT, Ribeiro LFC, et al. Avaliação de parâmetros histomorfométricos em sóleos de ratos submetidos à remobilização por salto em meio aquático. *Rev Bras Med Esporte*. 2013;19(3):219-22.
14. Koike TE, Watanabe AY, Kodama FY, Ozaki GAT, Castoldi RC, Garcia TA, et al. Exercício físico após imobilização de músculo esquelético de ratos adultos e idosos. *Rev Bras Med Esporte*. 2018;24(1):60-3.
15. Ozaki GAT, Koike TE, Castoldi RC, Garçon AAB, Kodama FY, Watanabe AY, et al. Efeitos da remobilização por meio de exercício físico sobre a densidade óssea de ratos adultos e idosos. *Motricidade*. 2014;10(3):71-8.
16. Rittweger J. Vibration as an exercise modality: How it may work, and what its potential might be. *Eur J Appl Physiol*. 2010;108(5):877-904.
17. Cerciello S, Rossi S, Visonà E, Corona K, Oliva F. Clinical applications of vibration therapy in orthopaedic practice. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2016;6(1):147-56.
18. Hallal CZ, Marques NR, Gonçalves M. O uso da vibração como método auxiliar no treinamento de capacidades físicas: uma revisão da literatura. *Motriz*. 2010;16(2):527-33.
19. Bidonde J, Busch AJ, van der Spuy I, Tupper S, Kim SY, Boden C. Whole body vibration exercise training for fibromyalgia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;2017(9):CD011755.
20. Moreira-Marconi E, Moura-Fernandes MC, Teixeira-Silva Y, Sá-Caputo DC, Silva- -Costa G, Carvalho SO, et al. Exercícios de vibração de corpo inteiro

beneficiam indivíduos com osteoartrite do joelho: uma revisão narrativa. *Rev Hosp Univ Pedro Ernesto*. 2018;17(1):44-50.

21. Simão AP, Avelar NC, Tossige-Gomes R, Neves CD, Mendonça VA, Miranda AS, et al. Functional performance and inflammatory cytokines after squat exercises and whole-body vibration in elderly individuals with knee osteoarthritis. *Arch Phys Med Rehabil*. 2012;93(10):1692-700.

22. Camilo IR, Wutzke MLS, Costa RM, Bertolini GRF, Ribeiro LFC. Morphology of extensor digitorum longus of Wistar rats after remobilization by vibratory platform. *Eur J Clin Exp Med*. 2020;17(4):295-300.

23. Kaneguchi A, Ozawa J, Kawamata S, Kurose T, Yamaoka K. Intermittent whole-body vibration attenuates a reduction in the number of the capillaries in unloaded rat skeletal muscle. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014;15:315.

24. Kakiyama CMM, Peretti AL, Wutzke MLS, Tavares ALF, Ribeiro LFC, Brancalhão RMC, et al. Morphological and nociceptive effects of mechanical vibration on the sciatic nerve of oophorectomized Wistar rats.

Motriz: *Rev Educ Fis*. 2019;25(1):e101949. 25. Peretti AL, Kakiyama CMM, Wutzke MLS, Torrejais MM, Ribeiro LFC, Bertolini GRF. Effects of mechanical vibration in neuromuscular junctions and fiber type of the soleus muscle of oophorectomized wistar rats. *Rev Bras Ortop*. 2019;54(5):572-8.

26. Ohmichi M, Ohmichi Y, Ohishi H, Yoshimoto T, Morimoto A, Li Y, et al. Activated spinal astrocytes are involved in the maintenance of chronic widespread mechanical hyperalgesia after cast immobilization. *Mol Pain*. 2014;10:6.

27. Ashmawi HA, Freire GM. Sensibilização periférica e central. *Rev Dor*. 2016;17(Supl 1):S31-4.

28. Guo TZ, Wei T, Li WW, Li XQ, Clark JD, Kingery WS. Immobilization contributes to exaggerated neuropeptide signaling, inflammatory changes, and nociceptive

sensitization after fracture in rats. *J Pain*. 2014;15(10):1033-45.

29. 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.

30. Dong Y, Wang W, Zheng J, Chen S, Qiao J, Wang X. Whole body vibration exercise for chronic musculoskeletal pain: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Phys Med Rehabil*. 2019;100(11):2167-78.

ARTIGO CIENTÍFICO 02

**EFEITO DA REMOBILIZAÇÃO COM VIBRAÇÃO DE CORPO INTEIRO
SOBRE A FUNCIONALIDADE E HISTOMORFOMETRIA DO
MÚSCULO SÓLEO**

ARTIGO CIENTÍFICO 2

Autores: Maria Luiza Serradourada Wutzke; Ana Luiza Peretti; Estéfani Marin; Jossinelma Camargo Gomes, Lucinéia, Alberito, Gladson Ricardo Flor Bertolini

Título: Efeito da remobilização com vibração de corpo inteiro sobre a funcionalidade e histomorfometria do músculo sóleo

RESUMO

O exercício físico é capaz de minimizar os efeitos negativos do desuso. Assim, emerge a plataforma vibratória, com contração muscular involuntária, que pode ser capaz de restaurar as alterações causadas pela imobilização. O presente estudo tem como objetivo analisar os efeitos do tratamento de remobilização com plataforma vibratória, aplicada durante duas semanas, na funcionalidade e histomorfometria do tecido muscular de ratos Wistar. Para tanto, 28 ratos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n=7 cada): GC (Controle); GI (apenas imobilizado), imobilizados conforme protocolo padrão; GRL (imobilização e remobilização livre); GRPV (imobilização e remobilização com plataforma vibratória). Para a remobilização com plataforma, foi utilizada a frequência de 60 Hz, durante 10 minutos, cinco dias por semana, durante duas semanas. As filmagens para o IFA (Índice Funcional de Aquiles), para avaliar a funcionalidade da pata posterior, foram realizadas antes da imobilização, de forma prévia e ao final do tratamento com vibração. Após o período experimental, os animais foram devidamente eutanasiados e o músculo sóleo direito foi dissecado para análise histomorfométrica. O músculo foi analisado quanto ao comprimento e às alterações na fibra muscular, pela análise da área de secção transversa, maior e menor diâmetro, quantidade de fibras, número de núcleos e razão de núcleos por fibra. Também, foi analisada a quantidade de capilar e a razão de capilar por fibra. A partir das análises, observou-se que os animais imobilizados reduziram a função, enquanto os animais remobilizados obtiveram melhora da funcionalidade. Houve aumento do comprimento de GRL comparado ao GC e ao GI. Além disso, o GRPV aumentou em relação ao GI. A partir das análises morfológicas, observou-se que a imobilização reduziu a área, diâmetro maior e menor da fibra muscular comparado ao GC. O GRPV aumentou a área e diâmetro maior comparado ao GRL. O GI teve mais fibra que GC, GRL e GRPV. GI também teve mais núcleos que GC; observou-se redução dos núcleos nos grupos remobilizados quando comparados ao GI. Com relação à razão de capilares por fibras, o GRPV teve valores maiores do que os demais grupos; houve aumento do tecido conjuntivo em GI comparado a GC, de maneira que os grupos remobilizados tiveram mais tecido conjuntivo que o GC e menos do que o controle. Com este trabalho, conclui-se que a imobilização acarreta prejuízos funcionais e ao músculo sóleo. Diante disso, a plataforma vibratória é eficaz para a remobilização.

Palavras-Chave: immobilization, Morphology; exercício físico

Introdução

A carga mecânica é um importante regulador da manutenção estrutural do músculo, sendo que o músculo esquelético, pela propriedade da plasticidade, responde adaptativamente aos estímulos tanto de sobrecarga mecânica quanto da sua ausência. A imposição de sobrecarga estimula a produção de proteínas contráteis, o que, somada à ativação neural, afeta a capacidade muscular de gerar resistência e potência. De forma contrária, quando há redução das cargas mecânicas (desuso) e da ativação neural, como ocorre durante a imobilização articular, são observadas alterações na morfologia, bioquímica e fisiologia muscular (ATHERTON *et al.*, 2016; BLOOMFIELD, 2010; NARICI; FRANCHI; MAGANARIS, 2016).

Na imobilização articular, os efeitos do desuso estão relacionados ao tipo de fibra, sendo que as fibras lentas do tipo I são mais suscetíveis à atrofia muscular. Ademais, o tempo de permanência em imobilismo e os músculos imobilizados em encurtamento são mais vulneráveis aos efeitos do desuso (KUNZ, REGINA INÊS *et al.*, 2015; ONDA *et al.*, 2016). Além da atrofia, outros efeitos podem ser observados, como lesão nas fibras musculares, mudança no fenótipo da fibra, sendo característica a alteração de fibra do tipo I para fibra do tipo II. Também, são observadas alterações nas propriedades contráteis do músculo, o que reduz a funcionalidade por consequência da perda de força muscular (FANZANI *et al.*, 2012; MILLER *et al.*, 2014; PEZOLATO *et al.*, 2014)

O exercício físico é capaz de minimizar os efeitos negativos do desuso, promovido pela imobilização articular, por estimular as células satélites e acelerar a síntese proteica no músculo (ZHANG *et al.*, 2018). Nesse contexto, a plataforma vibratória surge como uma forma de reabilitação física, pois induz a contração muscular não voluntária, por meio do fenômeno do reflexo vibratório tônico (CERCIELLO *et al.*, 2016; RITTWEGGER, 2010). Os efeitos da plataforma vibratória estão associados à melhora da função e da coordenação muscular, aumento da força e da potência muscular, melhora da vascularização e nutrição muscular, controle da dor e aumento da densidade óssea (CERCIELLO *et al.*, 2016; RITTWEGGER, 2010).

No entanto, considerando estudos anteriores, que observaram danos musculares e dores articulares, em consequência das altas intensidades de vibração (CERCIELLO *et al.*, 2016), é pertinente o estudo dos efeitos da vibração de corpo inteiro (VCI) sobre o tecido muscular. O objetivo deste estudo foi analisar os efeitos do tratamento de remobilização com plataforma vibratória, aplicada durante duas semanas, na funcionalidade e histomorfometria do tecido muscular de ratos Wistar.

Materiais e métodos

O presente estudo caracteriza-se como experimental e quantitativo. Foram utilizados 28 ratos da linhagem *Wistar*, com idade de 8 semanas e massa corporal média de $272 \pm 18,4$ g, mantidos em caixas padrão de polipropileno, em ambiente com temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas, recebendo água e ração *ad libitum*. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Unioeste 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.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, com sete ratos em cada: Grupo Controle (GC), em que os animais permaneceram livres na gaiola durante todo o experimento e foram eutanasiados no 30º dia de experimento; Grupo Imobilização (GI), em que os animais foram submetidos à imobilização no 1º dia do experimento e eutanasiados no 15º dia, ao final do período de imobilização, mas sem outra intervenção; Grupo Imobilização + Remobilização Livre (GRL), no qual os animais foram submetidos à imobilização durante 15 dias, foram remobilizados de forma livre e eutanasiados no 30º dia de experimento, sem qualquer tipo de intervenção; Grupo Imobilização + Remobilização livre associada à Plataforma Vibratória (GRPV), no qual os animais foram submetidos à imobilização e à remobilização com VCI, mas permaneceram soltos livremente na caixa similar ao GRL.

Para a imobilização, os animais foram anestesiados (cloridrato de xilazina 15mg/kg e cloridrato de quetamina 80 mg/kg, intraperitoneal) e imobilizados com uma atadura gessada. Os grupos experimentais imobilizados tiveram a órtese moldada a partir da região abdominal, logo abaixo das últimas costelas, seguindo para o membro

pélvico direito. A articulação do joelho permaneceu em extensão e o tornozelo em flexão plantar. Os animais foram mantidos nessa posição por um período de 15 dias consecutivos (KUNZ, R I *et al.*, 2014). (Figura 1)



Figura 1: Imobilização em gesso partindo da região abdominal até o membro pélvico direito, com a manutenção da posição de encurtamento do músculo sóleo.

No tratamento por VCI, foi utilizado o modelo de plataforma Vibro Oscilatória triplanar profissional da marca Arktus® (Santa Tereza do Oeste-PR, Brasil) (Figura 2A). A frequência utilizada foi de 60Hz, com vibrações alternadas com uma amplitude de 2 milímetros, durante 10 minutos (PERETTI, 2018). O procedimento foi realizado durante duas semanas, sendo efetivado cinco dias por semana, com descanso de dois dias ao final da semana.

Utilizou-se um suporte confeccionado com madeira MDF, que permitiu posicionar oito animais, concomitantemente, em baias com 13 centímetros de largura, 19 centímetros de comprimento e altura de 25 centímetros (Figura 2B). Para minimizar um possível viés sobre pontos distintos de aceleração e amplitude sobre a plataforma vibratória, foi realizado um rodízio dos animais entre as baias durante o tratamento (MARTIN KAKIHATA *et al.*, 2019; PERETTI *et al.*, 2019)(Figura 2C).

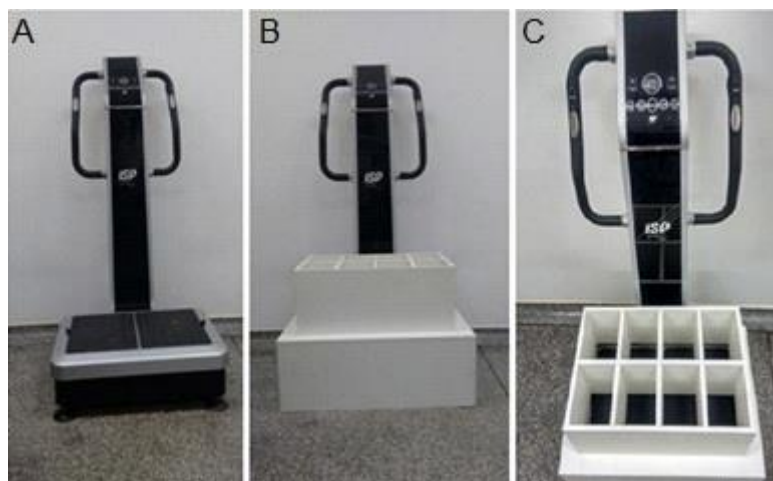


Figura 1: A: Plataforma vibratória utilizada. B: suporte desenvolvido em vista frontal. C: suporte desenvolvido em vista superior

A funcionalidade foi avaliada pelo Índice Funcional do tendão de Aquiles durante a marcha (IFA), proposto por (MURRELL) *et al.* (1992). As medidas do IFA foram realizadas nos seguintes momentos: 1) Um dia antes da imobilização; 2) Após a retirada do aparato no 15º dia para o GI, GRL e GRPV; 3) No 30º dia do experiment, para GC, GRL e GRPV.

Para a determinação do IFA, foram obtidas imagens das impressões do membro pélvico durante a marcha do animal, por meio de uma câmera acoplada a uma esteira com armazenamento de imagens em um computador. O método foi baseado na medida de parâmetros pré-estabelecidos nas impressões do membro pélvico dos animais, do lado normal e do lado experimental. O índice foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\text{IFA} = 74(\text{PLF}) + 161(\text{TSF}) + 48 (\text{ITF}) - 5$$

Considerando os elementos da equação, o máximo comprimento da pegada é definido como o fator de comprimento da pegada (PLF) e obtido por $\text{PLF}_{\text{esquerda}} - \text{PLF}_{\text{direita}} / \text{PFL}_{\text{direita}}$. A distância entre o primeiro e o quinto dedo é chamada de fator de espalhamento dos dedos do pé (TSF), obtido por $\text{TSF}_{\text{direita}} - \text{TSF}_{\text{esquerda}} / \text{TSF}_{\text{esquerda}}$; a distância entre o segundo e o quarto dedo é o fator teste intermediário (ITF), calculado por $\text{ITF}_{\text{direita}} - \text{ITF}_{\text{esquerda}} / \text{ITF}_{\text{esquerda}}$. Tais medidas foram realizadas pelo programa Image-Pro Plus 6.0 (MediaCybernetics, Inc.® - EUA) e analisadas no programa Microsoft Office Excel 2010.

Após o período de observação, de acordo com cada grupo, os animais foram anestesiados via intraperitoneal e eutanasiados por overdose de anestésico. Os

animais do GI foram eutanasiados após 15 dias de imobilização. A eutanásia dos animais, pertencentes ao GC, GRL e ao GRPV, ocorreu 15 dias após o período de remobilização, totalizando 30 dias de experimento. O músculo sóleo direito foi dissecado e fixado em superfície plana, para a mensuração do comprimento muscular máximo em repouso, por meio de paquímetro digital, em milímetros. Posteriormente, o músculo foi dividido longitudinalmente em duas partes iguais, sendo a metade lateral dos músculos utilizada para contagem do número de sarcômeros. As amostras foram fixadas em formol 7%, por 24 horas, passadas para o ácido nítrico 30%, por 72 horas; após a quebra do tecido conjuntivo, o material foi armazenado em solução de glicerol (50%).

Para confecção das lâminas, o músculo foi colocado em uma placa de Petri e, com o auxílio de uma lupa (Micronal), foram isoladas 8 fibras, de tendão a tendão, utilizando uma pinça anatômica fina (12 cm) e posicionadas em lâminas histológicas, que continham esmalte para melhor adesão da fibra. Essas lâminas foram analisadas em microscópio luz, na objetiva de 40x, fotomicrografadas e digitalizadas para serem verificadas no programa *Image-Pro Plus 6.0* (Media Cybernetics®, Silver Spring, EUA), no qual foi realizada a contagem dos sarcômeros em 50µm, em 6 campos da fibra, totalizando 300µm. Para estimular o total de sarcômeros em série, utilizou-se regra de 3 simples.



Figura 2: Contagem do sarcômeros em série

Para a avaliação da secção transversa, o músculo sóleo foi fixado em metacarn por 24 horas e acondicionado em álcool 70%. Para o processamento histológico, o

material foi desidratado em série alcóolica crescente, diafanizado em álcool N-Butílico e incluso em parafina. Foram realizados cortes, com a utilização de um micrótomo rotativo, na espessura de 5 μ m, e as lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) para análise morfológica geral do tecido muscular. Posteriormente, foi realizada a leitura em microscópio de luz (BX60 *Olympus*®, Tóquio, Japão), na objetiva de 40x; para a análise morfométrica, foram realizadas as seguintes mensurações: área de secção transversa, menor diâmetro da fibra muscular, contagem do número de fibras, núcleos e capilares sanguíneos. Para essas mensurações, foram obtidas 10 imagens na objetiva de 40X, sendo mensuradas 10 fibras em cada imagem pelo programa *Image-Pro Plus 6.0*, totalizando 100 mensurações por animal.

As fibras musculares, os núcleos e os capilares sanguíneos presentes na fotomicrografia foram identificados, marcados e contabilizados. Foram excluídas as fibras, núcleos e capilares projetados sobre as bordas superior e esquerda. Para calcular a razão núcleo por fibra e capilar por fibra, foi realizada a divisão do número total de núcleos e capilares pelo total de fibras musculares presentes no mesmo campo visual.

Os resultados foram expressos e analisados por meio da estatística descritiva e inferencial. Ademais, utilizaram-se Modelos Lineares Generalizados, com pós-teste LSD, com o nível de significância de 5%.

Resultados

Índice Funcional de Aquiles (IFA)

Houve diferenças entre as avaliações ($F= 7,27$, $p<0,001$), mas, não houve diferença entre os grupos ($F=0,41$, $p=0,745$), nem interação ($F= 0,222$, $p=0,925$), indicando que a imobilização reduziu a funcionalidade e a remobilização livre e com associação de vibração melhoram a funcionalidade, comparados a AV2, sendo capazes de retornar ao parâmetros iniciais (Tabela 1).

Tabela 1: Médias dos valores do comprimento em mm do músculo sóleo de ratos *Wistar*.

	AV1	AV2	AV3
GC	-0,73 ± 21,986 ^A	-	-4,45 ± 11,16
GI	2,53 ± 26,95 ^A	-29,18 ± 33,67 ^B	-
GRL	2,24 ± 24,021 ^A	-29,59 ± 18,62 ^B	-18,65 ± 43,40
GRPV	-5,8657 ± 11,219 ^A	-33,12 ± 45,64 ^B	-19,0271± 28,55

Legenda: **GC:** Grupo Controle; **GI:** Grupo Imobilização; **GRL:** Grupo Remobilização Livre; **GRPV:** Grupo Remobilização + Plataforma vibratória. Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente diferentes

Comprimento e sarcômeros em série do músculo sóleo

Houve diferenças entre os grupos ($p < 0,00$), indicando que a remobilização livre e associada, com a vibração mecânica, aumentou o comprimento muscular; o GRL foi maior que o GC (Tabela 2).

Para o sarcômeros em série, houve diferença entre os grupos ($p < 0,001$); os valores de GRL e GRPV foram maiores na estimativa do número de sarcômeros em série, quando comparados ao GI. Houve diferença também entre os grupos GC e GRL, em que GRL apresentou valor maior (Tabela 2).

Tabela 2: Médias dos valores do comprimento em mm do músculo sóleo de ratos Wistar.

	GC	GI	GRL	GRPV
Comprimento	19,60 ± 2,47 ^A	17,60 ± 1,58 ^{AB}	23,05 ± 2,55 ^C	20,97 ± 1,98 ^{ACD}
Sarcômeros em série	10125 ± 1552 ^A	9500 ± 1195 ^{AC}	12625 ± 1302 ^B	11875 ± 1457 ^{ABD}

Legenda: GC: Grupo Controle; GI: Grupo Imobilização; GRL: Grupo Remobilização Livre; GRPV: Grupo Remobilização + Plataforma vibratória. Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente diferentes

Histomorfometria das fibras musculares

Para a área de secção transversa das fibras do músculo sóleo, houve diferença significativa ($F=10,64$; $p < 0,001$) entre os grupos. As fibras musculares apresentaram área menor no GC, comparado ao GI ($p < 0,001$). O GI teve a área menor que GRL ($p=0,005$) e GRPV ($p < 0,001$). Além disso, houve diferença entre os grupos remobilizados, em que o GRPV teve aumento da área quando comparado a GRL ($p=0,048$) (Tabela 3).

Na quantificação do diâmetro maior da fibra muscular, também houve diferença significativa ($F=12,80$; $p < 0,0001$) entre os grupos. Isso porque o GI ($p < 0,001$) e o GRL ($p=0,023$) tiveram o diâmetro maior diminuído em relação ao GC. O grupo GI apresentou-se com redução do diâmetro maior da fibra comparado a ($p=0,010$) e GRPV ($p < 0,001$). Além disso, o GRPV teve aumento desse diâmetro em relação ao GRL ($p=0,014$) (Tabela 3).

Também, houve diferença para o diâmetro menor ($F=9,388$; $p= 0,0005$) entre os grupos, sendo entre GC e GI ($p<0.001$). Além disso, os grupos remobilizados também foram diferentes do grupo imobilizado, sendo que GI teve redução do diâmetro quando comparado ao GRL ($p=0,008$) e GPV ($p<0.001$) (Tabela 3).

Para o número de fibras, houve diferença significativa ($F= 16,936$; $p<0.0001$) entre os grupos, sendo que o GI teve aumento do número de fibras em relação a GC ($p<0.01$). Também, houve aumento do número de fibras em GI, comparado a GRL ($p< 0.01$) e GPV ($p<0.01$), (Tabela 3).

Para o número de núcleos, houve diferença significativa ($F= 17,1092$; $p<0.0001$) entre os grupos, sendo de GC e GI ($p <0.001$), GC e GRL ($p<0,011$) com aumento do número de núcleos em GI e GRL. Houve diferença entre GI e GRL ($p <0.001$), GI e GRPV ($p <0.001$), de maneira que foram reduzidos os núcleos em ambos os grupos remobilizados. Para a variável de número de capilares, não houve diferença significativa ($F= 2,950$; $p< 0,052$) (Tabela 3).

Para a variável razão núcleo por fibra, houve diferença significativa ($F= 4,844$, $p= 0,009$) entre os grupos. Assim, houve aumento dos núcleos em GI, comparado a GC ($p=0,02$), com valores aumentados para o grupo imobilizado. Também, houve aumento de núcleos em GRL ($p=0,005$) e GRPV ($p=0,001$), comparado ao GC (Tabela 3).

Para a variável razão capilar por fibra, houve diferença significativa ($F= 3,488$, $p=0,030$) entre os grupos, sendo aumentada a razão capilar por fibras de GRPV, comparado ao GC ($p=0,010$), GI ($p=0,030$) e GRL ($p=0,011$) (Tabela 3).

Para a variável porcentagem de tecido conjuntivo, houve diferença significativa entre os grupos, sendo aumentada em GI ($p<0.001$), GRL($p <0.001$) e GRPV ($p <0.001$), comparado entre o GC. GI também teve mais tecido conjuntivo que GRL ($p <0.001$) e GRPV ($p <0.001$); não houve diferença entre os grupos remobilizados (Tabela 3).

Tabela 3: Médias dos valores do número total de fibras, núcleos, relação de núcleos por fibra do músculo sóleo de ratos *Wistar*.

	GC	GI	GRL	GRPV
Área de Secção Transversa (μm^2)	1399,39 ± 372,45 _{AD}	699,00± 131,14 ^B	1155,99± 140,44 ^{AC}	1470,4± 379,2639 ^{AD}
Maior diâmetro (μm^2)	50,84 ± 6,31 ^A	33,28± 3,05 ^B	42,63 ± 3,04 ^{AC}	51,57 ± 10,08 _{AD}
Menor diâmetro (μm^2)	31,20 ± 4,48 ^A	23,51± 2,43 ^B	28,67± 1,78 ^A	32,35± 4,09 _A
Número de fibras	23,35± 4,20 ^A	33,08± 2,44 ^B	23,89± 3,40 ^A	20,28 ± 3,89 ^A
Número de núcleos	55,49± 12,39 ^A	96,95± 12,36 ^B	72,50± 11,87 ^{CD}	62,45± 9,51 ^{AD}
Número de capilares	12,38± 2,46 ^A	20,26± 4,34 ^A	13,25 ± 4,91 ^A	18,91 ± 9,99 ^A
Razão núcleo/fibra (μm^2)	2,42± 0,47 _A	2,92± 0,23 ^B	3,03± 0,23 ^B	3,13± 0,49 ^B
Razão capilar/fibra (μm^2)	0,55 ± 0,19 _{ABC}	0,61 ± 0,13 _{BD}	0,55± 0,20 _{CD}	0,9201± 0,38 _E
Tecido conjuntivo (%)	0,78± 0,43 ^A	2,60±0,14 ^B	1,95±0,10 ^C	1,71±0,09 ^C

ANÁLISE MORFOLÓGICA DO MÚSCULO SÓLEO

O músculo sóleo do grupo controle (GC) apresentou fibras com morfologia normal, de formato poligonal, multinucleadas com núcleos em posição periférica, fascículos bem definidos com organização e estrutura preservada. O tecido conjuntivo intramuscular do endomísio e perimísio apresentou arranjo com distribuição característica entre as fibras (Figura 6A).

No entanto, no grupo imobilizado (GI), as fibras musculares mostravam-se atroficas, com diâmetro menor que no GC e nos grupos remobilizados (GRL e GRPV). Foram apresentadas fibras com formato irregular e algumas em degeneração. Verificou-se aumento no número de núcleos, sendo alguns em posição central e em migração. Houve neovascularização com aumento do número de capilares sanguíneos comparado ao GC. Ainda, foi observado desarranjo no tecido conjuntivo intramuscular, aumento de fibroblastos e em maior quantidade do que o GC (Figura 6B).

No Remobilização Livre (GRL), há uma aparente desorganização dos fascículos, com algumas fibras com formato irregular, as quais apresentam variação na área da fibra muscular, assemelhando-se ao GI. Também, houve aumento no número de núcleos, com alguns de posição centrais. Houve neovascularização com aumento do número de capilares sanguíneos, que se mostravam turgidos. Quanto ao tecido conjuntivo intramuscular, foi observado um aumento, além da elevação de fibroblastos comparado a GC (Figura 6C).

No grupo que foi tratado com remobilização na Plataforma vibratória (GRPV), os fascículos estão mais organizados quando comparados ao GI e GRL; há presença, ainda, de algumas fibras com formato irregular, porém, com o diâmetro aumentado, comparado ao GI e GRL; também, há algumas fibras com hipertrofia, comparadas a todos os grupos. Houve aumento no número de núcleos, comparado ao GC, além de apresentar alguns núcleos centrais. Teve aumento da quantidade de capilares sanguíneos, comparado a GC e GRL, que se apresentavam túrgidos. Quanto ao tecido conjuntivo intramuscular, teve aumento se comparado ao GC (Figura 6D).

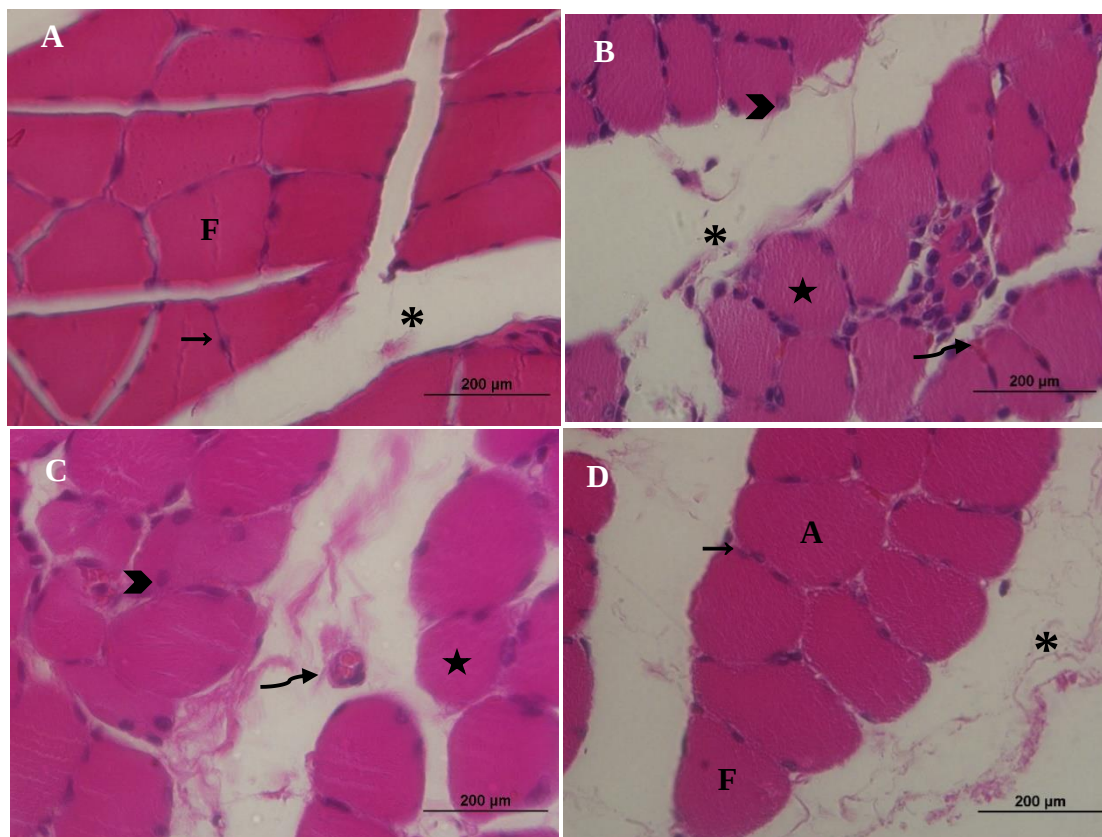


Figura 6 – Fotomicrografias do músculo sóleo de ratos *Wistar* em secção transversal, coloração HE. A: Grupo Controle, evidenciando fibras de aspecto normal com formato poligonal (F), núcleo periférico (seta reta), tecido conjuntivo com arranjo característico, perímísio (asterísco). B: Grupo imobilização apresentando fibras atróficas e amorfas (estrela), em degeneração (▼), vaso sanguíneo túrgico (seta curva), núcleo em migração (◐), aumento de fibras conjuntiva no endomísio e perímísio (asterísco). C: Grupo Remobilização Livre, apresentando fibras atróficas e amorfas (estrela), aumento de fibras conjuntiva no endomísio e perímísio (asterísco), vaso sanguíneo túrgico (seta curva), núcleo em migração (◐). D: Grupo Remobilização com Plataforma vibratória apresentando fibras em format poligonal (F) e fibras amorfas (A), vaso sanguíneo (seta

Discussão

No presente estudo, foi observado que duas semanas de imobilização articular alteraram a funcionalidade verificada a partir da análise IFA. Além disso, verificou-se que o músculo sóleo respondeu à imobilização e à remobilização, com alterações nas suas propriedades morfofisiológicas relacionadas à fibra muscular, organização dos fascículos, quantidade de tecido conjuntivo, quantidade de núcleos e vasos sanguíneos. Tais achados sugerem que as formas de remobilização adotadas no presente estudo recuperaram a morfologia do músculo sóleo, sendo que o uso da plataforma vibratória produziu efeitos mais significativos que a remobilização livre isolada, indicando a melhora das alterações induzidas pelo modelo de imobilização utilizado.

Pela avaliação do IFA, foi observado que a imobilização causa redução à funcionalidade, em concordância com os achados de BENEDINI-ELIAS *et al.*, (2014), os quais encontraram que a imobilização reduziu o comprimento da impressão da pegada dos animais. Da mesma forma, DEL CARLO *et al.* (2007) evidenciam que, após a imobilização da articulação femorotibiopatelar em ratos, o desuso afeta negativamente a marcha e a amplitude articular. Esse fato pode ser explicado, pois, durante a imobilização, os prejuízos funcionais ocorreram devido às adaptações relativas à ausência de carga imposta pelo desuso articular (AQUINO *et al.*, 2017). Isso também foi observado por BERTOLINI *et al.* (2011), que citam que, após a imobilização, foram visíveis as alterações estruturais osteocartilaginosas, demonstrando os efeitos da restrição da mobilidade articular na articulação do tornozelo em ratos.

Na prática clínica, ainda, há questionamentos sobre os procedimentos viáveis para acelerar a remobilização. Em relação ao IFA, a remobilização durante duas semanas foi capaz de melhorar a função dos animais. No entanto, não foi observada diferença entre os grupos. BENEDINI-ELIAS *et al.* (2014) perceberam que 10 dias de remobilização, com alongamento, foram capazes de melhorar a marcha dos animais. Nossos resultados corroboram os achados desses autores, pois apontam que o período de duas semanas é capaz de melhorar a funcionalidade dos ratos.

Com relação ao comprimento do músculo sóleo, a remobilização livre e com VCI promoveu aumento do comprimento do músculo comparado ao imobilizado. No entanto, apenas a plataforma vibratória não teve diferença ao se comparar com o grupo controle; GRL teve valores maiores que o controle, o que pode ser uma forma

de compensação para gerar força, pois existe uma relação direta entre a tensão desenvolvida pelo músculo e o seu comprimento. Cada músculo possui um comprimento ótimo, em que ocorre maior formação de pontes cruzadas, permitindo-o produzir força máxima (AQUINO *et al.*, 2017).

No presente estudo, os grupos remobilizados aumentaram o número de sarcômeros relacionados ao GI. O fato da estimativa de número de sarcômeros ter aumentado no grupo remobilização livre, quando comparado ao controle, pode estar associado ao aumento da deposição de tecido conjuntivo, o que promoveu a elevação do comprimento muscular e, como consequência, dos sarcômeros quando comparado ao controle. Além disso, no estudo de SALANOVA *et al.* (2015), observaram que as miofibrilas dos grupos remobilizados não estavam alinhadas adequadamente umas com as outras; assim, os sarcômeros eram caracterizados por linhas M pouco claras e desalinhamento da linha Z. As miofibrilas com sarcômeros danificados foram acompanhadas principalmente por perfis irregulares de tecido conjuntivo e adiposo das camadas endomisial e perimisial entre as miofibrilas no sóleo. As alterações das microestruturas miofibrilares e sarcômeros são índices clássicos de plasticidade do músculo esquelético humano e adaptação. No presente estudo, o fato da remobilização livre apresentar valores exacerbados com relação ao controle pode ser visto como uma forma de plasticidade anormal em resposta ao desuso, já que os valores da plataforma vibratória não foram diferentes do grupo controle.

No presente estudo, a imobilização diminuiu a área de secção transversa, diâmetro maior e menor, aumentou o número de núcleos, resultado que corrobora os achados de outros estudos, assim como o de Leite *et al.* (2017), que, após a imobilização de ratos Wistar, analisaram o músculo sóleo e observaram alterações caracterizadas pela redução significativa da área de secção transversa das fibras musculares, redução do menor diâmetro, bem como aumento no número de núcleos. Semelhantemente ao encontrado em nosso estudo, USUKI *et al.* (2019) observaram que uma semana de imobilização foi capaz de causar atrofia por desuso do músculo sóleo, alterações das microestruturas miofibrilares e dos sarcômeros.

As alterações relacionadas à histomorfometria estão em concordância com os achados morfológicos, em que foi observado que, no grupo imobilizado, as fibras musculares estavam atroficas e algumas em degeneração, com aumento de núcleos e neovascularização. Isso ocorre, pois, durante o desuso, há mudança na homeostase e a renovação das proteínas fica comprometida. Sabe-se que, após 15 dias de

imobilização, há redução na síntese de proteína muscular, promovendo a redução da massa muscular, assim como encontrado no presente estudo. Essa degradação de proteínas, em sua grande maioria, envolve a via do proteassoma da ubiquitina dependente de ATP (CHO; KIM; SONG, 2016). Ainda, o estresse oxidativo também pode acelerar a proteólise pela modificação oxidativa das proteínas miofibrilares, o que aumenta sua suscetibilidade à quebra proteolítica, pois promove a expressão gênica de proteínas envolvidas nos sistemas proteolíticos, além de resultar em um aumento no cálcio livre no citoplasma, o que pode ocasionar a ativação da calpaína e da caspase (POWERS *et al.*, 2016).

Alguns estudos apontam que a VCI pode ter efeitos adversos (BAIG *et al.*, 2013; CERCIELLO *et al.*, 2016). No entanto, no presente estudo, foi encontrado que a área e o diâmetro maior da fibra muscular do grupo remobilizado com plataforma vibratória aumentou em relação ao grupo de remobilização livre; tal achado também foi encontrado na análise morfológica, que aponta aumento do diâmetro das fibras musculares e de núcleos, comparado ao GC. Esse resultado pode ter acontecido, pois a VCI induz a contração muscular, por meio do fenômeno do reflexo vibratório tônico, em que ocorre ativação dos fusos musculares (RITTWEGGER, 2010). Esse achado corrobora o estudo de USUKI *et al.* (2019), em que os animais foram remobilizados com vibração de 90 Hz, durante 15 min, na fáscia plantar do membro posterior atrofado. Após duas semanas, observaram que a vibração induziu uma recuperação significativa da atrofia muscular por desuso, em comparação com amostras imobilizadas e não tratadas.

Além disso, a plataforma vibratória com 60Hz, aplicada durante 10 minutos, não causou prejuízos ao músculo sóleo. Semelhante resultado foi encontrado por SUN *et al.* (2015), os quais observaram que a remobilização com vibração mecânica de 35 Hz por 20 minutos não prejudicou o músculo sóleo. Em seus resultados, ainda, encontraram aumento das atividades proliferativas das células miogênicas. Isso corrobora os resultados encontrados em nosso estudo, que observou o aumento do número de núcleos nos grupos remobilizados; tal fato pode ter ocorrido, pois, quando os músculos sofrem uma lesão, as células satélites são ativadas, proliferam e se diferenciam em mioblastos (CADOT; GACHE; GOMES, 2015). Como observado por USUKI *et al.* (2019), a estimulação por vibração aumentou o número de células satélites positivas para PAX7 no músculo sóleo, com atrofia após imobilização; esses achados indicam que os mecanismos subjacentes aos efeitos terapêuticos dos

estímulos de vibração na atrofia por desuso envolvem a indução de IGF-Ia sistêmico, YAP1 e PAX7. Além disso, as miofibras em regeneração são caracterizadas pela presença de núcleos não periféricos (SUN *et al.*, 2015), o que explica a presença de alguns núcleos centrais encontrados neste estudo.

Ademais, ainda no estudo de Usuki *et al.* (2019), observaram hipertrofia muscular, o que vem ao encontro dos achados morfológicos do presente estudo, já que há algumas células com hipertrofia para o músculo que realizou plataforma vibratória. Esse efeito pode estar associado ao fato da plataforma vibratória, por meio do seu fenômeno de ativação muscular e ressonância, promover a propagação de estímulos que fizeram com que acelerasse a atividade muscular. Além disso, já foi visto que a plataforma vibratória tem efeito endócrino (CERCIELLO *et al.*, 2016)

O tecido conjuntivo é uma estrutura biologicamente ativa, capaz de adaptar-se (CAIERÃO *et al.*, 2017). No presente estudo, houve aumento do tecido conjuntivo no músculo imobilizado, em concordância com os achados de Leite *et al.* (2017), que observaram o aumento da quantidade de tecido conjuntivo após a imobilização. Para minimizar esses efeitos, recursos, que visam à contração muscular, têm sido estudados (CAIERÃO *et al.*, 2017). A contração muscular proporcionada pela plataforma vibratória foi capaz de reduzir a quantidade de tecido conjuntivo, no entanto, foi insuficiente o período de duas semanas de remobilização para retornar aos parâmetros iguais ao do GC.

No estudo de URCIUOLO *et al.* (2013), foi observado que o componente extracelular, colágeno VI, regula a renovação e diferenciação de células satélites. Dessa maneira, pode ser um fator associado à quantidade de tecido conjuntivo encontrada no presente estudo, nos grupos de remobilização, visto que, também, houve a proliferação de núcleos nesses grupos, apontando para uma regeneração muscular.

No presente estudo, houve o aumento da proporção de capilar no grupo plataforma vibratória, tal como encontrado por KANEGUCHI *et al.*, (2014), que, após a remobilização com vibração mecânica, perceberam efeitos positivos para a angiogênese no tecido muscular. Isso pode ser explicado, pois o estímulo mecânico pode ter aumentado o fluxo sanguíneo e o estresse de cisalhamento capilar, promovendo angiogênese ao músculo, assim como relatado por KOMRAKOVA *et al.* (2013); em seu estudo com ratos com deficiência de estrogênio, contataram que o

aumento da densidade capilar, ao aplicar vibração mecânica em frequências mais altas, é de 70 a 90 Hz.

A plataforma vibratória resultou em uma recuperação mais eficiente do músculo sóleo; isso pode ser atribuído à ativação do metabolismo celular, por meio das vias de produção de ATP. Em um estudo de AKIN *et al.*, (2018), ao aplicar a vibração para a remobilização durante duas semanas, observaram a ativação da AMPK do músculo sóleo de ratos. Tal fato promoveu o aumento dos sarcômeros em série, organização dos fascículos e aumento das fibras musculares.

Conclusão

A imobilização articular, durante duas semanas, reduz a função muscular. O músculo sóleo responde à remobilização com alteração nas características musculares. Indica-se, dessa maneira, que as formas de remobilização, adotadas no presente estudo, recuperaram a morfologia dos músculos sóleo, sendo que o uso da plataforma vibratória produziu efeitos mais significativos, relacionados ao aumento da fibra muscular, melhor organização dos fascículos, redução da quantidade de tecido conjuntivo e aumento do número de vasos.

Referências

- AQUINO, CF *et al.* COMPORTAMENTO BIOMECÂNICO E RESPOSTA DOS TECIDOS BIOLÓGICOS AO ESTRESSE E À IMOBILIZAÇÃO. *Fisioterapia em Movimento*, v. 18, n. 2, 30 ago. 2017. Disponível em: <<https://periodicos.pucpr.br/index.php/fisio/article/view/18570>>. Acesso em: 12 fev. 2020.
- ATHERTON, Philip J *et al.* Control of skeletal muscle atrophy in response to disuse: clinical/preclinical contentions and fallacies of evidence. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, v. 311, n. 3, p. E594-604, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27382036>>. Acesso em: 18 ago. 2019.
- BAIG, Hassam A. *et al.* Whole body vibration induces forepaw and hind paw

behavioral sensitivity in the rat. *Journal of Orthopaedic Research*, p. n/a-n/a, jul. 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jor.22432>>. Acesso em: 4 fev. 2020.

BENEDINI-ELIAS, Priscila Cação Oliveira *et al.* Post-immobilization eccentric training promotes greater hypertrophic and angiogenic responses than passive stretching in muscles of weanling rats. *Acta Histochemica*, v. 116, n. 3, p. 503–513, abr. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24304683>>. Acesso em: 18 ago. 2019.

BLOOMFIELD, Susan A. *Disuse osteopenia. Current Osteoporosis Reports*. [S.l.: s.n.], jun. 2010

CADOT, Bruno; GACHE, Vincent; GOMES, Edgar R. *Moving and positioning the nucleus in skeletal muscle-one step at a time. Nucleus*. [S.l.]: Taylor and Francis Inc. , 1 jan. 2015

CAIERÃO, Quélen *et al.* A INFLUÊNCIA DA IMOBILIZAÇÃO SOBRE O TECIDO CONJUNTIVO MUSCULAR: uma revisão. *Fisioterapia em Movimento*, v. 20, n. 3, 31 ago. 2017. Disponível em: <<https://periodicos.pucpr.br/index.php/fisio/article/view/18925>>. Acesso em: 14 fev. 2020.

CERCIELLO, Simone *et al.* Clinical applications of vibration therapy in orthopaedic practice. *Muscles, ligaments and tendons journal*, v. 6, n. 1, p. 147–56, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27331044>>. Acesso em: 18 ago. 2019.

CHO, Su Han; KIM, Jang Hoe; SONG, Wook. *In vivo rodent models of skeletal muscle adaptation to decreased use. Endocrinology and Metabolism*. [S.l.]: Korean Endocrine Society. , 1 mar. 2016

DEL CARLO, R. J. *et al.* Imobilização prolongada e remobilização da articulação fêmoro-tíbio-patelar de ratos: Estudo clínico e microscópico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, n. 2, p. 363–370, abr. 2007.

FANZANI, Alessandro *et al.* Molecular and cellular mechanisms of skeletal muscle atrophy: an update. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, v. 3, n. 3, p. 163–79, set. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22673968>>. Acesso em: 18 ago. 2019.

KANEGUCHI, Akinori *et al.* Intermittent whole-body vibration attenuates a reduction in the number of the capillaries in unloaded rat skeletal muscle. *BMC*

Musculoskeletal Disorders, v. 15, n. 1, 2014.

KOMRAKOVA, Marina *et al.* Identification of a vibration regime favorable for bone healing and muscle in estrogen-deficient rats. *Calcified Tissue International*, v. 92, n. 6, p. 509–520, jun. 2013.

KUNZ, R I *et al.* Effects of immobilization and remobilization on the ankle joint in Wistar rats. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, v. 47, n. 10, p. 842–9, out. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25140815>>. Acesso em: 18 ago. 2019.

KUNZ, Regina Inês *et al.* Morfologia dos músculos sóleo e tibial anterior de ratos Wistar imobilizados e remobilizados em meio aquático. *ConScientiae Saúde*, v. 13, n. 4, p. 595–602, 12 fev. 2015. Disponível em: <[http://periodicos.uninove.br/index.php?journal=saude&page=article&op=view&path\[\]=5179](http://periodicos.uninove.br/index.php?journal=saude&page=article&op=view&path[]=5179)>. Acesso em: 18 ago. 2019.

MARIA MARQUES GOMES BERTOLINI, Sônia; DANIELE DE OLIVEIRA, Priscila; CARLA CARARO, Deisy. *Imobilização do tornozelo de ratos: estudo histológico da extremidade distal da tibia Immobilization of rats ankle: histological study of distal extremity of the tibia Artigo original. Fisioterapia Brasil*. [S.l: s.n.], 2011.

MARTIN KAKIHATA, Camila Mayumi *et al.* Morphological and nociceptive effects of mechanical vibration on the sciatic nerve of oophorectomized Wistar rats. *Motriz. Revista de Educacao Fisica*, v. 25, n. 1, 2019.

MILLER, Mark S *et al.* Skeletal muscle myofilament adaptations to aging , disease , and disuse and their effects on whole muscle performance in older adult humans. v. 5, n. September, p. 1–15, 2014.

MURRELL, George A.C. *et al.* The achilles functional index. *Journal of Orthopaedic Research*, v. 10, n. 3, p. 398–404, 1992.

NARICI, Marco; FRANCHI, Martino; MAGANARIS, Constantinos. Muscle structural assembly and functional consequences. p. 276–284, 2016.

ONDA, Akiko *et al.* New mouse model of skeletal muscle atrophy using spiral wire immobilization. *Muscle & Nerve*, v. 54, n. 4, p. 788–791, out. 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27227343>>. Acesso em: 18 ago. 2019.

PERETTI, Ana Luiza *et al.* Effects of Mechanical Vibration in Neuromuscular Junctions and Fiber Type of the Soleus Muscle of Oophorectomized Wistar Rats. *Revista Brasileira de Ortopedia*, 23 set. 2019. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0039-1697016>>. Acesso em: 4 fev. 2020.

PEZOLATO, Vitor Alexandre *et al.* Efeito dos aminoácidos de cadeia ramificada no músculo imobilizado e no músculo desnervado. *Ciência & Saúde*, v. 7, n. 3, p. 123, 31 dez. 2014. Disponível em:

<<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/faenfi/article/view/17705>>. Acesso em: 18 ago. 2019.

POWERS, Scott K. *et al.* Redox control of skeletal muscle atrophy. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 98, p. 208–217, 1 set. 2016.

RITTWEGER, Jörn. *Vibration as an exercise modality: How it may work, and what its potential might be.* *European Journal of Applied Physiology*. [S.l: s.n.], mar. 2010

SALANOVA, Michele *et al.* Vibration mechanosignals superimposed to resistive exercise result in baseline skeletal muscle transcriptome profiles following chronic disuse in bed rest. *Scientific Reports*, v. 5, n. 1, p. 17027, 24 dez. 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/srep17027>>. Acesso em: 18 ago. 2019.

SUN, K. T. *et al.* Differential effects of low-magnitude high-frequency vibration on reloading hind-limb soleus and gastrocnemius medialis muscles in 28-day tail-suspended rats. *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*, v. 15, n. 4, p. 316–324, 1 dez. 2015.

URCIUOLO, Anna *et al.* Collagen VI regulates satellite cell self-renewal and muscle regeneration. *Nature Communications*, v. 4, n. 1, p. 1964, 7 out. 2013. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/ncomms2964>>. Acesso em: 18 ago. 2019.

USUKI, Fusako *et al.* Local vibration stimuli induce mechanical stress-induced factors and facilitate recovery from immobilization-induced oxidative myofiber atrophy in rats. *Frontiers in Physiology*, v. 10, n. JUN, 2019.

ZHANG, Jing *et al.* Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide induces cognitive dysfunction, mediated by neuronal inflammation via activation of the TLR4 signaling pathway in C57BL/6 mice. *Journal of Neuroinflammation*, v. 15, n. 1, p. 37, 9 dez. 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29426327>>. Acesso em: 28 ago. 2019.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização desta pesquisa permitiu analisar os efeitos da remobilização sobre nocicepção, funcionalidade e tecido muscular, sendo possível identificar uma forma de tratamento com VCI viável após um período de imobilidade. Observou-se como os animais sofreram prejuízos devido à imobilização, tanto no limiar nociceptivo quanto em sua função, além dos prejuízos causados ao músculo sóleo. Isso porque a remobilização livre e a remobilização com plataforma vibratória são meios viáveis para a restauração dos parâmetros avaliados no presente estudo. No entanto, a VCI foi superior à remobilização livre isolada no que tange às adaptações musculares frente à remobilização, sendo observado, principalmente, o aumento da área de secção transversal e a neovascularização.

No entanto, em relação ao limiar nociceptivo, o modelo utilizado não foi capaz de restauração ao limiar inicial, sendo assim, sugerem-se outros modelos de tratamento com a plataforma vibratória, ao utilizar a VCI, durante o período de imobilismo.

O presente estudo encontrou que a plataforma vibratória, durante 10 minutos ao dia, com uma frequência de 60 Hz, é uma forma segura e eficaz para a

remobilização em animais, no entanto, mais pesquisas devem ser realizadas para elucidar os efeitos dessa modalidade de reabilitação para a aplicação em seres humanos.

REFERÊNCIAS GERAIS

AL-MOHREJ, O.A., AL-KENANI, N.S. Acute ankle sprain: conservative or surgical approach? **EFORT Open Reviews**, v.1, n.2, p.34-44, 2016.

AMARAL, P. C.; PÉRCORA, C. W. **Plataforma Vibratória: introdução do treinamento vibratório**. São Paulo, 2012.

ARTIFON, E.L. FERRARI, D.; CUNHA, D.; NASCIMENTO, C.; RIBEIRO, L.; BERTOLINI, G. Efeitos do ultrassom terapêutico associados ao alongamento estático sobre parâmetros histomorfométricos longitudinais de sóleos imobilizados de ratos. **Revista Brasileira de Medicina e do Esporte**, v. 18, n. 5, p. 341-344, 2012.

ATHERTON, P.J.; GREENHAFF, P.; PHILLIPS, S.; BODINE, S. ADAMS, C.; LANG, C. Control of skeletal muscle atrophy in response to disuse: clinical/preclinical contentions and fallacies of evidence. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v.311, n.3, p.594–604, 2018.

BENEDINI-ELIAS, P.C.; MORGAN, M.; CORNACHIONE, A.; MARTINEZ, E.; MATTIELLO-SVERZUT, A. Post-immobilization eccentric training promotes greater hypertrophic and angiogenic responses than passive stretching in muscles of weanling rats. **Acta Histochemica**, v.116, n.3 p. 503-513, 2014.

BETTIS, T.; KIM, B.; HAMRICK, M. Impact of muscle atrophy on bone metabolism and bone strength: implications for muscle-bone crosstalk with aging and disuse. **Osteoporosis International**, v. 29, n. 8, p. 1713-1720, 2018.

BODINE, S.C. Disuse-induced muscle wasting. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.45, n.10, p.1-17, 2013.

BODINE, S.C.; BAEHR, L.M. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v.307, n. 6, p. 469-84, 2014.

BOECHAT, J. C. S.; MANHÃES, F.; FILHO, R.; ISTOE, R. A síndrome do imobilismo e seus efeitos sobre o aparelho locomotor do idoso. **InterScienceplace**, v. 1, n.22, n.5, p.NC, 2012

BLOOMFIELD, S.A. Disuse osteopenia. **Current Osteoporosis Reports**, v.8, n.2, p.91-7, 2010.

BUFFA, R.; FLORIS, G.U.; PUTZU, P.F.; MARINI, E. Body composition variations in ageing. **Collegium Antropologicum**, v.35, n.1, p.259-265, 2011.

CAZEIRO, A.P.M.; PERES, P.T. A terapia ocupacional na prevenção e no tratamento de complicações decorrentes da imobilização no leito. *Cad Ter Ocup UFSCar* v.18, n.2, p.149-6, 2010.

CERCIELLO, S. ROSSI, S.; VISONÀ, E.; CORONA, K.; OLIVA, F. Clinical applications of vibration therapy in orthopaedic practice. **Muscles, Ligaments and Tendons Journal**, v. 6, n.1, p. 147-156, 2016.

CORNACHIONE, A.S. CAÇÃO-BENEDINI, L.; MARTINEZ, E.; NEDER, L.; MATTIELLO-SVERZUT, A. Effects of eccentric and concentric training on capillarization and myosin heavy chain contents in rat skeletal muscles after hindlimb suspension. **Acta Histochemica**, v.113, n.3, p. 277-282, 2011

COUTINHO, E. L. GOMES, A.R.S.; FRANÇA, C.N.; OISHI, J.; SALVINI, T.F. Effect of passive stretching on the immobilized soleus muscle fiber morphology. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 12, p.1853-1861, 2004.

DÖNMEZ, G. DORAL, M.; SULJEVIC, Ş.; SARGON, M.; BILGILI, H.; DEMIREL, H. Effects of immobilization and whole-body vibration on rat serum type I collagen

turnover. **Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica**. v.50, n.4, p.452-457, 2016.

GAO, Y.; ARFAT, Y.; WANG, H.; GOSWAMI, N. Muscle Atrophy Induced by Mechanical Unloading: Mechanisms and Potential Countermeasures. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. NC, p. NC, 2018.

GOMES, N.; SOUZA, K.; RABELO, M.; FORTES, J.; BARBOSA, L.; CRAVEIRO, R.; FILHO, F.; JUNIOR, F.; CECCATTO, V. Aquatic therapy in bone mineral density in rats after paw disuse by immobilization. **International Journal of Therapies and Rehabilitation Research**, v. 5, n.5, p. 161, 2016.

GOSWAMI, N.; BLABER, A.; HINGHOFFER-SZALKAY, H.; MONTANI, J. Orthostatic Intolerance in Older Persons: Etiology and Countermeasures. **Frontiers in physiology**, v. 8, n.803, 2017.

EDWARDS, J. H.; REILLY, G. C. Vibration stimuli and the differentiation of musculoskeletal progenitor cells: Review of results in vitro and in vivo. **World journal of stem cells**, v.7, n.3, p.568–582, 2015.

FRONTERA, W.R.; OCHALA, J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. **Calcified Tissue International**, v. 96, n. 3, p. 183-195, 2015.

FANZANI, A.; CONRAADS, V.; PENNA, F.; MARTINET, W. Molecular and cellular mechanisms of skeletal muscle atrophy: an update. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 3, n. 3, p.163–179, 2012.

FENG, H.Z.; CHEN, X.; MALEK, M.; JIN, J. Slow recovery of the impaired fatigue resistance in postunloading mouse soleus muscle corresponding to decreased mitochondrial function and a compensatory increase in type I slow fibers. **American journal of physiology. Cell physiology**, v. 310, n.1, p. 27-40, 2016.

HAIZLIP, K.M.; HARRISON, B.C.; LEINWAND, L.A. Sex-based differences in skeletal muscle kinetics and fiber-type composition. **Physiology (Bethesda)**, v.30, n.1, p. 30-9, 2015.

HALLAL, C. Z; MARQUES, N.R; GONCALVES, M. O uso da vibração como método auxiliar no treinamento de capacidades físicas: uma revisão da literatura. **Motriz**, v. 16, n. 2, p. 527-533, 2010.

HAMAUE, Y.; NAKANO, J.; SEKINO, Y.; CHUGANJI, S.; SAKAMOTO, J.; YOSHIMURA, T, et al. Effects of Vibration Therapy on Immobilization-Induced Hypersensitivity in Rats. **Research Report**. V.95, n.7, p.1015–26.

JÄRVINEN, T.A.; JÓZSA, L.; KANNUS, P.; JÄRVINEN, T.; JÄRVINEN, M. Organization and distribution of intramuscular connective tissue in normal and immobilized skeletal muscles. An immunohistochemical, polarization and scanning electron microscopic study. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v.23, n.3, p245-54, 2002.

JUNG, C.; TEPOHL, L.; THOLEN, R.; BEITZEL, K.; BUCHMANN, S.; GOTTFRIED, T.; GRIM, C.; MAUCH, B.; KRISCHAK, G.; ORTMANN, H.; SCHOCH, C.; MAUCH, F. Rehabilitation following rotator cuff repair: A work of the Commission Rehabilitation of the German Society of Shoulder and Elbow Surgery e. V. (DVSE) in collaboration with the German Association for Physiotherapy (ZVK) e. V., the Association Physical Therapy, Association for Physical Professions (VPT) e. V. and the Section Rehabilitation—Physical Therapy of the German Society for Orthopaedics and Trauma e. V. (DGOU). **Obere Extremität**, v.13, n.1, p.45-61, 2018.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. São Paulo: Guanabara. 2013.

KNEPPERS, A. LEERMAKERS, P.; PANSTERS, N.; BACKX, E.; GOSKER, H.; LOON, L.; SCHOLS, A.; LANGEN, R.; VERDIJK, L. Coordinated regulation of skeletal muscle mass and metabolic plasticity during recovery from disuse. **FASEB Journal**. v. 33, n.1, p.1288-1298, 2019.

KOMRAKOVA, M.; SEHMISCH, S.; TEZVAL, M.; AMMON, J.; LIEBERWIRTH, P.; SAUERHOFF, C.; TRAUTMANN, L.; WICKE, M.; DULLIN, C.; STUERMER, K.; STUERMER, E. identification of a vibration regime favorable for bone healing and muscle in estrogen-deficient rats. **Calcified Tissue International**, v.92, n.6, p.509-520, 2013.

KUNZ, R. I.; CORADINI, J.; SILVA, L.; BERTOLINI, G.; BRANCALHÃO, R.; RIBEIRO, L. Effects of immobilization and remobilization on the ankle joint in Wistar rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.47, n.10, p.842–849, 2014.

KUNZ, R. I.; CORADINI, J.; SILVA, L.; KAKIHATA, C.; BERTOLINI, G.; BRANCALHÃO, R.; RIBEIRO, L. Morfologia dos músculos sóleo e tibial anterior de ratos Wistar imobilizados e remobilizados em meio aquático. **ConscientiaeSaude**, v.13, n.4, 2014.

LANGEVIN, H.M.; NEDERGAARD, M.; HOWE, A.K. Cellular control of connective tissue matrix tension. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.114, n.8, p.1714-9, 2013.

LAU, R.W.L.; LIAO, L.; YU, F.; TEO, T.; CHUNG, R.; PANG, M. The effects of whole body vibration therapy on bone mineral density and leg muscle strength in older adults: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Rehabilitation**, v. 25, n.11, 2011.

LOVISON, K. VIEIRA, L.; KUNZ, R. I.; SCARTON, S.; ANTUNES, J.; KARVAT, J.; PERETTI, A.L.; BERTOLINI, G.R.F.; BRANCALHÃO, R.; BEU, C.C.L.; RIBEIRO, L F.C. Resistance exercise recovery morphology and AQP1 expression in denervated soleus muscle of Wistar rats. **Motricidade**, v. 14, n.1, p. 40–50, 2018.

KAKIHATA, C. M. M. Efeitos da vibração mecânica sobre o tecido ósseo e nervoso periférico de ratas wistar ooforectomizadas. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná

MAAS, J.C.; DALLMEIJER, A.; HUIJING, P.; BRUNSTROM-HERNANDEZ, J.; KAMPEN, P.; JASPERS, R.; BECHER, J. Splint: the efficacy of orthotic management in rest to prevent equinus in children with cerebral palsy, a randomised controlled trial. **BMC Pediatrics**, v.12, n.38, p.NC, 2012.

MCGEE-LAWRENCE, M.E., CAREY, H.V., DONAHUE, S. Mammalian hibernation as a model of disuse osteoporosis: the effects of physical inactivity on bone metabolism, structure, and strength. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, v.295, n.6, p.1999-2014, 2008.

MCKEEHEN, J. N.; NOVOTNY, S.; BALTGALVIS, K.; CALL, J.; NUCKLEY, D.; LOWE, D. Adaptations of mouse skeletal muscle to low-intensity vibration training. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 45, n.6, p.1051-9, 2013.

MIAO, Z.G.; ZHANG, L.; FU, X.; YANG, Q.; ZHU, M.; DODSON, M.; DU, M. Invited review: mesenchymal progenitor cells in intramuscular connective tissue development. **Animal**, v. 10, n.1, p.75-81, 2015.

MILLER, M.S.; CALLAHAN, D.M.; TOTH, M.J. Skeletal muscle myofibril adaptations to aging, disease, and disuse and their effects on whole muscle

performance in older adult humans. **Frontiers in Physiology**, v. 5, n.369, p.1-15, 2014.

MURPHY, S.; DOWLING, P.; OHLENDIECK, K. Comparative Skeletal Muscle Proteomics Using Two-Dimensional Gel Electrophoresis. **Proteomes**, v.4, n.3, p. 1-27, 2016.

MURRELL, G.A.; LILLY, E.G.; DAVIES, H.; BEST, T.M.; GOLDNER, R.D.; SEABER, A.V. The Achilles Functional Index. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 10, n. 3, p.398-404.

NARICI, M.; FRANCHI, M.; MAGANARIS, C. Muscle structural assembly and functional consequences. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, p.276-284, 2016

OLIVEIRA, E. N.; AGUIAR, R.C.; ALMEIDA, M.T.O.; ELOIA, S.C.; LIRA, T.Q. Benefícios da Atividade Física para Saúde Mental. **Saúde Coletiva**, v.8, n.50, p.126-130, 2011.

OHMICH, M.; OHMICH, Y.; OHISHI, H.; YOSHIMOTO, T.; MORIMOTO, A.; LI, Y. et al. Activated spinal astrocytes are involved in the maintenance of chronic widespread mechanical hyperalgesia after cast immobilization. **Molecular pain**, v.24, n.10, 2014.

ONDA, A. KONO, H.; JIAO, Q.; AKIMOTO, T.; MIYAMOTO, T.; SAWADA, Y.; SUZUKI, K.; KUSAKARI, Y.; MINAMISAWA, S.; FUKUBAYASHI, T. New mouse model of skeletal muscle atrophy using spiral wire immobilization. **Muscle Nerve**, v.54, n.4, p. 788–791, 2016.

OSTROVIDOV, S. HOSSEINI, V.; AHADIAN, S.; FUJIE, T.; PARTHIBAN, S.; RAMALINGAM, M.; BAE, H.; KAJI, H.; KHADEMHOSEINI. A. Skeletal Muscle Tissue Engineering: Methods to Form Skeletal Myotubes and Their Applications. **Tissue engineering**, v. 20, n.5, p.403-436, 2014.

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

PAIVA, D.; CABEZUELO, P.J.M.; BERNANDO-FILHO, M. Plataforma oscilante/vibratória: fundamentos e a prática clínica. São Paulo: Andreoli, 2014.

PARK, S.Y.; SON, W.M.; KWON, O.S. Effects of whole body vibration training on body composition, skeletal muscle strength, and cardiovascular health. **Journal of Exercise Rehabilitation**. v. 11, n. 6, p. 289-295, 2015.

PERETTI, A.L. (2018). Análise histomorfométrica e do estresse oxidativo do músculo sóleo de ratas wistar ooforectomizadas e submetidas à vibração mecânica. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná

PETRINI, A. C.; RAMOS, D. M.; GOMES DE OLIVEIRA, L.; ALBERTO DA SILVA, C.; PERTILLE, A. Prior swimming exercise favors muscle recovery in adult female rats after joint immobilization. **Journal of physical therapy science**, v.28, n.7, p.2072–2077, 2016

PEZOLATO, V.A.; POLACOW, M.; PACHECO, C.; MASCARIN, A.; DA SILVA, C. Efeito dos aminoácidos de cadeia ramificada no músculo imobilizado e no músculo desnervado. **Revista Ciência & Saúde**, v.7, n.3, p.123-130, 2014.

POWERS, S. K.; SMUDER, A.; JUDGE, A. Oxidative stress and disuse muscle atrophy: cause or consequence? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v.15, n.3, p. 240–245, 2012.

RITZMANN, R. KRAMER, A.; GRUBER, M.; GOLLHOFER, A.; TAUBE, W. EMG activity during whole body vibration: motion artifacts or stretch reflexes? **European Journal of Applied Physiology**, v.110, n.1, p. 143–151, 2010.

RITTWEGER, J. Vibration as an exercise modality: how it may work, and what its potential might be. **European Journal of Applied Physiology**, v. 108, p. 877 – 904, 2010

ROCHA, A.P.C.; KRAYCHETE, D.C.; LEMONICA, L.; DE CARVALHO, L.R.; DE BARROS, G.A.M.; GARCIA, J.B.D.S. et al. Dor: Aspectos atuais da sensibilização periférica e central. **Revista Brasileira Anestesiologia**.v.57, n.1, p.94–105, 2007.

SIEVÄNEN H. Immobilization and bone structure in humans. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 503, n.1, p.146-52.

SALANOVA, M.; GAMBARA, G.; MORIGGI, M.; VASSO, M.; UNGETHUEM, U.; BELAVÝ, D.; FELSENBURG, D.; CERRETELLI, P.; GELFI, C.; BLOTTNER, D. Vibration mechanosignals superimposed to resistive exercise result in baseline skeletal muscle transcriptome profiles following chronic disuse in bed rest. **Scientific Reports**, v.5, n.1, p.17027, 2015

SANTOS-FILHO, D. S.; BERNARDO, R.; SANTOS, F.; MEYER, P.; RONZIO, O.; GUEDES, S.; GASS, R.; CARDOSO, D.; SILVA, R.; REUTER, E.; PAIVA, D.; BERNARDO-FILHO, M. Exercícios de vibração de corpo inteiro em plataformas vibratórias: Interesse Científico. **Revista Saúde (Santa Maria)**, Santa Maria, v. 41, n. 2, p. 19-26, 2015.

SANTOS, F.F.U.; PIRES, A.D.F.; RIBEIRO, N.M.; MENDONÇA, V.A; ALVES, J.O.; SOARES, P.M. et al. Sensorial, structural and functional response of rats subjected to hind limb immobilization. **Life Sciences**, v.15;137:158–63.

SPRÍCIGO, D.V.; SILVA, C.A.; ARRUDA, E.J. Padrão Metabólico Muscular de Ratos Idosos e Jovens Submetidos à Imobilização Articular. **Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v.13, n. 4, p.233-237, 2011.

TURRINA, A.; GONZÁLEZ, M.A.M.; STECCO, C. The muscular force transmission system: Role of the intramuscular connective tissue. **Journal of Bodywork and Movement Therapies**, v.17, n.1, p.95-102, 2013.

WANG, F.; ZHANG, Q.; ZHOU, Y.; CHEN, S.; HUANG, P.; LIU, Y.; XU, Y. The mechanisms and treatments of muscular pathological changes in immobilization-induced joint contracture: A literature review. **Chinese Journal of Traumatology**, v.22, n.2, p.93-98, 2019

WEERT, E; LIESHOUT, E.; VRIES, M.; ELST, M.; SCHEPERS T. Determinants of outcome in operatively and non-operatively treated Weber-B ankle fractures. **Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery**, v.132, n.2, p.257-263, 2012.

WING, S. S. Deubiquitinases in skeletal muscle atrophy. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.45, n.10, p.2130–2135, 2013.

WISDOM, K.M.; DELP, S.L.; KUHL, E. Review. Use it or lose it: Multiscale skeletal muscle adaptation to mechanical stimuli. **Biomechanics and modeling in mechanobiology**, v. 14, n.2, p.195-215, 2015.

URCIUOLO, A.; QUARTA, M.; MORBIDONI, V.; GATTAZZO, F.; MOLON, S.; GRUMATI, P.; MONTEMURRO, F.; TEDESCO, F.; BLAAUW, B.; COSSU, G.; VOZZI, G.; RANDO, T.; BONALDO, P, Collagen VI regulates satellite cell self-renewal and muscle regeneration. **Nature Communications**, v.4, p. 1-26, 2013

YANG, W. W.; CHOU, L.; CHEN, W.; SHIANG, T.; LIU, C. Dual-frequency whole body vibration enhances vertical jumping and change-of-direction ability in rugby players. **Journal of Sport and Health Science**, v.6, n.3, p. 346-351, 2017.

YAVROPOULOU, M. P.; YOVOS, J. G. The molecular basis of bone mechanotransduction. **Journal of musculoskeletal & neuronal interactions**, v.16, n.3. p.221–236, 2016.

ANEXO A



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Pré-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA

PARECER DE PROTOCOLO

O protocolo intitulado "Efeito da imobilização e remobilização associada a plataforma vibratória em ratos Wistar – análises morfométricas, morfológica e funcional", 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, 19/10/2016

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

ANEXO B

Política editorial da revista - Divulgar artigos originais, artigos de revisão e relatos de casos sobre o estudo da fisiopatologia e da terapêutica da dor aguda ou crônica em seres humanos e em animais, de autores nacionais e estrangeiros sócios ou não da Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED).

Forma e preparação de manuscritos

1. ARTIGOS ORIGINAIS

Introdução - esta sessão deve ser descrever sucintamente o escopo e o conhecimento prévio baseado em evidência para o delineamento da pesquisa, tendo como base referências bibliográficas relacionadas ao tema. Deve incluir ao final o objetivo da pesquisa de forma clara. Incluir até seis autores.

Métodos - deve incluir o desenho do estudo, processos de seleção de amostra, aspectos éticos, critérios de exclusão e de inclusão, descrição clara das intervenções e dos métodos utilizados, além das análises dos dados bem como poder da amostra e testes estatísticos aplicados.

Resultados - devem ser descritos de forma objetiva, elucidados por figuras e tabelas quando necessário. Incluir análises realizadas e seus resultados.

Discussão - esta seção deve discutir os resultados encontrados na pesquisa à luz do conhecimento prévio publicado em fontes científicas, devidamente citadas. Pode ser dividido em subcapítulos. Incluir as limitações do estudo, e finalizar com a conclusão do trabalho. Incluir sempre que possível, as implicações clínicas do estudo e informações sobre a importância e a relevância.

Agradecimentos - agradecimentos a colaboradores entre outros poderão ser citados nesta seção, antes das referências.

Referências - devem estar formatadas segundo as normas de Vancouver (<http://www.icmje.org>).

Figuras e Tabelas - Devem ser enviadas juntas com o texto principal do artigo, em formato que permita edição (figuras em Excel e tabelas em Word).

REFERÊNCIAS

O Br J Pain adota as "Normas de Vancouver" (<http://www.icmje.org>) como estilo para formatação das referências. Estas devem ser apresentadas no texto na ordem sequencial numérica, sobrescritas. Não deverão ser citados trabalhos não publicados e preferencialmente evitar a citação de resumos apresentados em eventos científicos. Referências mais antigas do que cinco anos deverão ser citadas caso sejam fundamentais para o artigo. Artigos já aceitos para publicação poderão ser citados com a informação de que estão em processo de publicação. Deverão ser citados até seis autores e, se houver mais, incluir após os nomes, et al. O título do periódico deverá ter seu nome abreviado.

EXEMPLOS DE REFERÊNCIAS:

Artigos de revistas:

- 1 autor - Wall PD. The prevention of postoperative pain. Pain. 1988;33(1):289-90.

- 2 autores - Dahl JB, Kehlet H. The value of pre-emptive analgesia in the treatment of postoperative pain. Br J Anaesth. 1993;70(1):434-9.

- Mais de 6 autores - Barreto RF, Gomes CZ, Silva RM, Signorelli AA, Oliveira LF, Cavellani CL, et al. Pain and epidemiologic evaluation of patients seen by the first aid unit of a teaching hospital. Rev Dor. 2012;13(3):213-9.

Artigo com errata publicada:

Sousa AM, Cutait MM, Ashmawi HA. Avaliação da adição do tramadol sobre o tempo de regressão do bloqueio motor induzido pela lidocaína. Estudo experimental em ratos avaliação da adição do tramadol sobre o tempo de regressão do bloqueio motor induzido pela lidocaína. Estudo experimental em ratos. Rev Dor. 2013;14(2):130-3. Errata em: Rev Dor. 2013;14(3):234.

Artigo de suplemento:

Walker LK. Use of extracorporeal membrane oxygenation for preoperative stabilization of congenital diaphragmatic hernia. Crit Care Med. 1993;2(2Suppl1):S379-80.

Livro: (quando estritamente necessários)

Doyle AC, editor. Biological mysteries solved, 2nd ed. London: Science Press; 1991. 477-80p.

Capítulo de livro:

Lachmann B, van Daal GJ. Adult respiratory distress syndrome: animal models. In: Robertson B, van Golde LMG, editores. Pulmonary surfactant. Amsterdam, 2nd ed. Batenburg: Elsevier; 1992. 635-63p.

Teses e dissertações: não são aceitas.

ILUSTRAÇÕES E TABELAS

Todas as ilustrações (incluindo figuras, tabelas e fotografias) devem ser obrigatoriamente citadas no texto, em lugar preferencial de sua entrada. Enumerá-las em algarismos arábicos. Todas deverão conter título e legenda. Utilizar fotos e figuras em branco e preto, e restringi-las a um máximo de três. Um mesmo resultado não deve ser expresso por mais de uma ilustração.

Sinais gráficos utilizados nas tabelas, figuras ou siglas devem ter sua correlação mencionada no rodapé. Figuras e tabelas devem ser enviadas em formato que permita edição, segundo recomendação a seguir:

Formato Digital

A carta de submissão, o manuscrito, e tabelas deverão ser encaminhadas no formato DOC (padrão Windows Word); figuras em barras ou linhas deverão ser encaminhadas em Excel (extensão XLS). Fotos deverão ser digitalizadas com resolução mínima de 300 DPI, em formato JPEG. O nome do arquivo deve expressar o tipo e a numeração da ilustração (Figura 1, Tabela 2, por exemplo). Cópias ou reproduções de outras publicações serão permitidas apenas mediante a anexação de autorização expressa da Editora ou do Autor do artigo de origem.

Ética:

Ao relatar experimentos com seres humanos, indique se os procedimentos seguidos estavam de acordo com os padrões éticos do Comitê responsável pela experimentação humana (institucional ou regional) e com a Declaração de Helsinque de 1975, tal como revista em 1983. Deve-se citar o número de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.

Registro de Ensaio Clínico:

O Br J Pain respeita as políticas da Organização Mundial de Saúde e da Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE- International Committee of

Medical Journal Editors) para registro de estudos clínicos, reconhecendo a importância dessas iniciativas para a disseminação internacional de informações sobre pesquisas clínicas com acesso aberto. Assim, a partir de 2012, terão preferência para publicação os artigos ou estudos registrados previamente em uma Plataforma de Registros de Estudos Clínicos que atenda aos requisitos da Organização Mundial de Saúde e da Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas. A lista de Plataforma de Registros de Estudos Clínicos se encontra no site <http://www.who.int/ictcp/en>, da International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP).

Entre elas está o Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC), que é uma plataforma virtual de acesso livre para registro de estudos experimentais e não experimentais realizados em seres humanos, em andamento ou finalizados, por pesquisadores brasileiros e estrangeiros, que pode ser acessada no site <http://www.ensaiosclinicos.gov.br>. O número de registro do estudo deve ser publicado ao final do resumo.

Uso de Abreviações:

O título, o resumo e abstract não devem conter abreviações. Quando expressões são extensas no texto, a partir da INTRODUÇÃO não precisam ser repetidas. Após a sua primeira menção no texto, precedida da sigla entre parêntesis, recomenda-se que suas iniciais maiúsculas as substituam.

Envio de manuscritos

Os artigos deverão ser enviados através de submissão online: <http://www.sgponline.com.br/dor/sgp/>, inclusive o documento de Cessão de Direitos Autorais, devidamente assinado pelo(s) autor(es). Deve ser encaminhada Carta de Submissão juntamente com os arquivos do manuscrito, que conste as informações referentes à originalidade, conflitos de interesses, financiamento, bem como que o artigo não está em avaliação por outra revista nem foi publicado anteriormente. Também deve constar nesta carta a informação de que o artigo, se aceito, será de

direito de publicação exclusiva no Br J Pain, e se respeita os aspectos éticos, no caso de estudos envolvendo animais ou humanos. Os artigos poderão ser enviados em português ou em inglês, porém a publicação impressa será na língua original de envio e a publicação eletrônica em português e inglês. Os autores têm a responsabilidade de declarar conflitos de interesses no próprio manuscrito, bem como agradecer o apoio financeiro quando for o caso.

Correção Final e Aprovação para Publicação: Quando aceitos, os artigos serão encaminhados para o processamento editorial que deverá ocorrer em um prazo de 5 dias, e após, submetidos ao autor correspondente no formato PDF para que faça a aprovação final antes do encaminhamento para publicação e impressão. O autor terá até três dias para aprovar o PDF final.

FORMAS DE APRESENTAÇÃO DOS TRABALHOS

Os manuscritos encaminhados devem ser acompanhados por uma Carta de Submissão que contenha as seguintes informações: originalidade, conflitos de interesses, financiamento, que o artigo não está em processo de avaliação por outra revista bem como não foi publicado anteriormente. Também deve constar nesta carta a informação de que o artigo, se aceito, será de direito de publicação exclusiva no Br J Pain, e se respeita os aspectos éticos, no caso de estudos envolvendo animais ou humanos.

O manuscrito deve conter os seguintes itens:

PÁGINA INICIAL

Título: O título do artigo deve ser curto, claro e conciso para facilitar sua classificação. Quando necessário, pode ser usado um subtítulo. Deve ser enviado em português e inglês.

Autor(es): O(s) nome(s) completo(s) do(s) autor(es) e afiliações (na ordem: Universidade, Faculdade, Hospital ou Departamento, mini-currículos não são aceitos).

Autor de correspondência: Nome, endereço convencional, CEP, cidade, estado, país e endereço eletrônico.

Fontes de financiamento (quando houver).

1. Resumo estruturado, com no máximo 250 palavras. Para artigos de Pesquisa e Ensaio Clínico incluir: JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS, MÉTODOS, RESULTADOS e CONCLUSÃO. Para os relatos de casos incluir: JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS, RELATO DO CASO e CONCLUSÃO. Para artigos de revisão incluir: JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS, CONTEÚDO e CONCLUSÃO. Incluir até seis descritores. Recomenda-se a utilização do DeCS - Descritores em Ciência da Saúde da Bireme, disponível em <http://decs.bvs.br/>.

2. Abstract: A versão do resumo para o inglês deve ser encaminhada junto ao artigo. Incluir até seis keywords.

3. Corpo do Texto: Organizar o texto de acordo com os tipos de artigo descritos a seguir. Em artigos originais com humanos ou animais deve-se informar aspectos éticos além do nº do processo e o ano do Comitê ou Comissão de Ética da Instituição. Agradecimentos a outros colaboradores poderão ser citados no final, antes das referências.