

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

**FERNANDA TEIXEIRA FURLAN CHICO**

**REPERCUSSÕES MORFOFUNCIONAIS DA REMOBILIZAÇÃO COM  
MOBILIZAÇÃO ARTICULAR PASSIVA E ULTRASSOM TERAPÊUTICO NO  
MÚSCULO SÓLEO DE RATOS *WISTAR***

CASCAVEL-PR

(fevereiro/2023)

**FERNANDA TEIXEIRA FURLAN CHICO**

**REPERCUSSÕES MORFOFUNCIONAIS DA REMOBILIZAÇÃO COM  
MOBILIZAÇÃO ARTICULAR PASSIVA E ULTRASSOM TERAPÊUTICO NO  
MÚSCULO SÓLEO 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: Fatores que Influenciam a Morfofisiologia Orgânica

ORIENTADORA: Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro  
CO-ORIENTADOR: Gladson Ricardo Bertolini

CASCADEL-PR  
(fevereiro/2023)

## FICHA CATALOGRÁFICA

Teixeira Furlan Chico, Fernanda  
REPERCUSSÕES MORFOFUNCIONAIS DA REMOBILIZAÇÃO COM  
MOBILIZAÇÃO ARTICULAR PASSIVA E ULTRASSOM TERAPÊUTICO NO  
MÚSCULO SÓLEO DE RATOS WISTAR / Fernanda Teixeira Furlan  
Chico; orientadora Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro;  
coorientador Gladson Ricardo Bertolini. -- Cascavel, 2023.  
63 p.

Trabalho de Conclusão Final (Mestrado Profissional  
Campus de Cascavel) -- Universidade Estadual do Oeste do  
Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde,  
Fisioterapia, 2023.

1. Desuso muscular. 2. Atrofia. 3. Recursos  
Fisioterapêuticos. 4. Remobilização. I. de Fátima Chasko  
Ribeiro, Lucinéia, orient. II. Ricardo Bertolini, Gladson,  
coorient. III. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço à Deus por ter me proporcionado essa experiência, e ter permitido tanto aprendizado com o mestrado.

Agradeço a toda a minha família, que mesmo longe, sempre me apoiaram em cada decisão tomada, e sempre demonstraram carinho e amor nessa jornada, especialmente minha mãe Andrea Teixeira e meu pai Marcos Chico, que nunca mediram esforços para me verem feliz.

Ao meu amor, que nada seria de mim sem o seu apoio nesses momentos vividos. Você esteve comigo nos piores momentos da pesquisa e nos melhores momentos conquistados. Obrigada por ser a pessoa mais paciente que já conheci, e me dar suporte e apoio nesse momento tão importante.

Agradeço à minha orientadora, professora Dr<sup>a</sup> Lucinéia, que mesmo sabendo sobre a minha inexperiência com pesquisas animais, aceitou me orientar e proporcionar tanto aprendizado. Obrigada por me acalmar nos momentos de desespero.

Aos colegas de laboratório, agradeço imensamente, por toda ajuda e participação. Uma pesquisa nunca acontece sozinha, e vocês foram essenciais nesse processo. Obrigada por todos que fizeram parte dessa realização, principalmente Aline, Ana Retameiro, Lilian, Thaís, Gabriella, Celeste e aos alunos de PIBIC que sempre estiveram presentes, me auxiliando.

Aos professores envolvidos, que sempre me apoiaram e ensinaram tanto. Especialmente professora Rose, Márcia, Adriano, Jurandy, Gladson e Ana Tereza. Agradeço imensamente por tanto conhecimento.

Agradeço ao programa de pós-graduação em Biociências e Saúde e Universidade Estadual do Oeste do Paraná pela oportunidade de realizar essa pesquisa, e à Capes pelo incentivo com bolsa de estudo.

Obrigada por acreditarem em mim e na minha pesquisa.

“Um dia, quando olhares para trás, verás que os dias mais belos foram aqueles em que lutaste”. Sigmund Freud

**CHICO, F.T.F. REPERCUSSÕES MORFOFUNCIONAIS DA REMOBILIZAÇÃO COM MOBILIZAÇÃO ARTICULAR PASSIVA E ULTRASSOM TERAPÊUTICO NO MÚSCULO SÓLEO DE RATOS *WISTAR*.** 63 páginas. Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Cascavel, UNIOESTE, 2023.

A imobilização acontece comumente em tratamento de lesões osteomioarticulares ou de repouso prolongados, como pacientes que permanecem muito tempo acamados em ambientes hospitalares, levando a importantes alterações morfofuncionais, como atrofia muscular, desorganização tecidual, aumento de células inflamatórias, diminuição de força e da funcionalidade. Sendo assim, métodos que acelerem a reabilitação são de extrema valia, como o ultrassom terapêutico e a mobilização passiva, que podem ser usados na remobilização. O objetivo do estudo foi analisar essas terapias de maneira isolada e associada, na recuperação do músculo sóleo de ratos *Wistar* imobilizados. Foram utilizados 40 ratos, com idade aproximada de 10 semanas, alocados randomicamente em 5 grupos (n=8), sendo GI (imobilização), GRL (remobilização livre), GRMP (remobilização com mobilização passiva), GRU (remobilização com ultrassom terapêutico) e GRMU (remobilização com mobilização passiva e ultrassom terapêutico). Os animais foram imobilizados com atadura gessada no membro pélvico direito por 21 dias e sequencialmente distribuídos de acordo com o tratamento (por 3 semanas). A fase experimental do GI foi concluída após os 21 dias de imobilização, o GRL seguiu com movimentação livre, o GRMP teve o tratamento de mobilização passiva (sendo grau IV de mobilização articular, com aproximadamente 50 movimentos em 1 minuto), o GRU foi tratado com o ultrassom (frequência de 1,0 MHz, intensidade de 0,5 w/cm<sup>2</sup> por 2 minutos no joelho e tornozelo e o GRMU teve a associação das duas técnicas terapêuticas. Os animais foram avaliados funcionalmente com os testes de Von Frey para avaliar a nocicepção e força de preensão, antes da imobilização, após a imobilização e uma vez por semana durante a fase de tratamento, totalizando 5 avaliações. Após a coleta do músculo sóleo, foi realizado o processamento para análises da morfologia geral, sendo utilizado a coloração com hematoxilina-eosina, tricômico de Masson para análise do tecido conjuntivo e fusos musculares, além do índice histopatológico para nível de lesão tecidual. Os dados estatísticos foram analisados no software SPSS 20.0 ® por meio dos modelos lineares generalizados (p < 0,05). Quanto aos resultados funcionais todos os grupos apresentaram menor limiar nociceptivo após a retirada da órtese, evidenciado que a imobilização leva a quadros algícos e o GRMU apresentou melhor recuperação em relação a força muscular. A morfologia do músculo sóleo dos animais imobilizados apresentou atrofia e necrose das fibras musculares, aumento de células inflamatórias, desorganização e aumento do tecido conjuntivo, comprovado pelo índice histopatológico, enquanto o GRU apresentou maior quantidade de capilares e vasos sanguíneos congestionados. Referente à organização tecidual, o GRMU apresentou menor quantidade de tecido conjuntivo intramuscular, e com maior organização. Quanto aos fusos neuromusculares, o GRL e o GRMU apresentaram maior espessamento da cápsula. Portanto a imobilização afeta a funcionalidade e provoca grave lesão tecidual e ambos os tratamentos propostos, obtiveram melhora nos parâmetros nociceptivos e de força e na morfologia, entretanto as técnicas associadas potencializaram a recuperação tecidual.

Palavras-chave: atrofia muscular; imobilização; mobilização precoce, terapia por ultrassom.

**CHICO, F.T.F. MORPHOFUNCTIONAL REPERCUSSIONS OF REMOBILIZATION WITH PASSIVE JOINT MOBILIZATION AND THERAPEUTIC ULTRASOUND IN THE SOLEUS MUSCLE OF WISTAR RATS.** 63 pages. Thesis (Master's degree). Graduate in Biosciences and Health, Cascavel, UNIOESTE, 2023.

Immobilization commonly happens in the treatment of musculoskeletal injuries or prolonged rest, such as patients who remain bedridden in hospital environments for a long time, leading to important morphofunctional changes, such as muscle atrophy, tissue disorganization, increase in inflammatory cells, decrease in strength and functionality. Therefore, methods that accelerate rehabilitation are extremely valuable, such as therapeutic ultrasound and passive mobilization, which can be used in remobilization. The objective of this study was to analyze these treatments in an isolated and associated way, in the recovery of the soleus muscle of immobilized Wistar rats. Forty rats, aged approximately 10 weeks, were randomly allocated into 5 groups (n=8), GI (immobilization), GRL (free remobilization), GRMP (remobilization with passive mobilization), GRU (remobilization with therapeutic ultrasound) and GRMU (remobilization with passive mobilization and therapeutic ultrasound). The animals were immobilized with plaster bandage on the right pelvic limb for 21 days and sequentially distributed according to the treatment (for 3 weeks). The experimental phase of GI was completed after 21 days of immobilization, the GRL continued with free movement, the GRMP had the passive mobilization treatment (being grade IV of joint mobilization, with approximately 50 movements in 1 minute), the GRU was treated with ultrasound (frequency of 1.0 MHz, intensity of 0.5 w/cm<sup>2</sup> for 2 minutes on the knee and ankle and the GRMU had the association of the two therapeutic techniques. The animals were functionally evaluated with the Von Frey and strength tests grip, before immobilization, after immobilization and once a week during the treatment phase, totaling 5 evaluations. After collecting the soleus muscle, processing was performed for analysis of general morphology, using hematoxylin-eosin staining, Masson's trichometer for analysis of connective tissue and muscle spindles, in addition to the histopathological index for level of tissue injury. Statistical data were analyzed using SPSS 20.0 ® software using models generalized linear ( $p < 0.05$ ) As for the functional results, all groups showed a lower nociceptive threshold after the removal of the orthosis and the GRMU showed better recovery in relation to muscle strength. The morphology of the soleus muscle of the immobilized animals showed atrophy and necrosis of the muscle fibers, an increase in inflammatory cells, disorganization and an increase in the connective tissue, confirmed by the histopathological index, while the GRU presented a greater number of capillaries and congested blood vessels. Regarding the tissue organization, the GRMU presented a smaller amount of connective tissue, and with greater organization. As for the neuromuscular spindles, the GRL and the GRMU showed greater capsule thickening. Therefore, immobilization affects functionality and causes severe tissue damage. Both proposed treatments improved functional assessments and morphology, however, the associated techniques enhanced tissue recovery.

Keywords: muscle atrophy; immobilization; early mobilization, ultrasound therapy.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Organização do tecido conjuntivo no músculo estriado esquelético	12
<b>Figura 2</b> - Organização dos filamentos contraídos e relaxados	13
<b>Figura 3</b> - Esquema dos fusos musculares	14

### ARTIGO

<b>Figura 1</b> - Organograma do experimento	26
<b>Figura 2</b> – Avaliação do Limiar nociceptivo	27
<b>Figura 3</b> – Avaliação da força de preensão	28
<b>Figura 4</b> – Protocolo de imobilização com atadura gessada	28
<b>Figura 5</b> – Protocolo de mobilização passiva	29
<b>Figura 6</b> – Protocolo de tratamento com ultrassom terapêutico	30

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>HE</b>	Hematoxilina-Eosina
<b>ATP</b>	Adenosina Trifosfato
<b>MHZ</b>	Mega-Hertz
<b>CEUA</b>	Comitê de ética no uso de animais
<b>UNIOESTE</b>	Universidade Estadual do Oeste do Paraná
<b>g</b>	gramas
<b>GI</b>	Grupo imobilização
<b>GRL</b>	Grupo remobilização livre
<b>GRMP</b>	Grupo remobilização com mobilização passiva
<b>GRU</b>	Grupo remobilização com ultrassom terapêutico
<b>GRMU</b>	Grupo remobilização com mobilização passiva e ultrassom terapêutico
<b>AV0</b>	Avaliação basal
<b>AV1</b>	Avaliação 1 após a imobilização
<b>AV2</b>	Avaliação 2 após a imobilização
<b>AV3</b>	Avaliação 3 após a imobilização
<b>AV4</b>	Avaliação 4 após a imobilização
<b>mg/kg</b>	Miligramas/quilogramas
<b>cm<sup>2</sup></b>	Centímetros ao quadrado
<b>w/cm<sup>2</sup></b>	Watts por centímetro ao quadrado
<b>mm</b>	milímetros
<b>µm</b>	Micrômetros
<b>FIG.</b>	Figura

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	8
2. OBJETIVOS .....	10
2.1 Objetivo Geral.....	10
2.2 Objetivos Específicos .....	10
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
3.1 Músculo estriado esquelético.....	11
3.2 Imobilização e os seus efeitos no tecido muscular estriado esquelético.....	15
3.3 Mobilização articular passiva .....	17
3.5 Ultrassom terapêutico .....	19
4. PUBLICAÇÃO DO ARTIGO .....	21
5. ARTIGO.....	22
5.1 - INTRODUÇÃO.....	23
5.2 - METODOLOGIA .....	24
5.3 - RESULTADOS.....	33
5.7 - DISCUSSÃO.....	41
5.8 - CONCLUSÃO .....	45
5.9 - AGRADECIMENTOS.....	46
6. REFERÊNCIAS DO ARTIGO .....	47
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
8. REFERÊNCIAS GERAIS.....	52
8. ANEXO 1 .....	56
9. ANEXO 2.....	57

## 1. INTRODUÇÃO

A imobilização articular é muito comum para tratamento de lesões osteomioarticulares, como no caso de fraturas ósseas, em reposicionamento articular, mas também pode estar presente em longos períodos de internação hospitalar ou restrição ao leito, no qual o paciente fica impossibilitado de realizar movimentação ativa, devido a condições de saúde ou no uso de sedativos (POWERS; HOWLEY, 2009; OLIVEIRA, 2021).

No ano de 2020, o vírus SARS-CoV-2 contaminou milhares de pessoas, e dentre as sequelas provocadas, estão os distúrbios musculoesqueléticos, advindos do desuso muscular em longos períodos de internação levando ao imobilismo (OLIVEIRA, 2021). Estudos experimentais comprovaram que o imobilismo repercute negativamente no tecido muscular, pois aumenta o processo inflamatório, altera a relação de síntese e degradação de proteína, além da desorganização tecidual o que reduz a funcionalidade, provocando fraqueza muscular, atrofia e hiperalgesia (KUNZ *et al.*, 2014; KANEGUCHI, 2020; HUBER *et al.*, 2020).

Estas adaptações acontecem devido a capacidade plástica do músculo, que se adapta aos estímulos externos, como no caso do imobilismo articular (TALBOT; MAVES, 2016). Dessa forma, o tipo de músculo imobilizado e o posicionamento podem influenciar no grau de lesão tecidual. Neste sentido, o sóleo é um músculo suscetível as adaptações do desuso, por possuir predominância de fibras I, bem como, a imobilização em encurtamento provoca lesões acentuadas no tecido, por reduzir a elasticidade tecidual nessa posição (MATHEUS, 2007).

Para reverter as repercussões negativas do imobilismo, a mobilização articular passiva é muito utilizada dentro do ambiente hospitalar, já que muitos pacientes se encontram sedados e com o uso de ventilação mecânica invasiva (FREITAS, 2012). Pesquisas experimentais evidenciaram que o movimento articular passivo pode reduzir a atrofia muscular ocasionada no imobilismo, embora o seu mecanismo ainda não está bem esclarecido (TAKEDA, 2019).

Outro método de tratamento muito utilizado em clínicas ortopédicas é o ultrassom terapêutico. Estudos com animais reforçam os efeitos analgésicos, anti-inflamatórios, de regeneração tecidual, angiogênese e permeabilidade, otimizam a

reorganização tecidual (SILVA, 2021; SOL *et al.*, 2021). Por se tratar de um recurso barato, de fácil acesso, e com grandes benefícios, estima-se que o ultrassom terapêutico possa ajudar de maneira positiva na recuperação do tecido muscular esquelético imobilizado. Assim, espera-se que a remobilização com aplicação da mobilização passiva e, do ultrassom terapêutico acelerem o processo de regeneração do tecido muscular estriado esquelético do sóleo em modelo de imobilização e a combinação das técnicas potencialize a recuperação muscular.

Sendo assim, é importante buscar evidências destas formas de tratamentos e entender suas ações na remobilização após o desuso muscular. Tendo em vista a escassez de pesquisas que abordem a mobilização passiva e o ultrassom terapêutico como métodos de tratamento para o imobilismo, este estudo analisou os efeitos morfofuncionais das duas técnicas de maneira isolada e associadas na remobilização do músculo sóleo de ratos *Wistar*.

## 1. OBJETIVOS

### 1.1 Objetivo Geral

Analisar as repercussões morfofuncionais da remobilização com mobilização passiva e ultrassom terapêutico de maneira isolada e associada, no músculo sóleo de ratos *Wistar*.

### 1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os parâmetros de funcionalidade, por meio das avaliações de força de preensão e limiar nociceptivo;
- Descrever as alterações morfológicas do músculo sóleo imobilizado e remobilizado com os tratamentos, submetidos à coloração de hematoxilina-eosina (HE);
- Pontuar o nível de lesão no músculo sóleo, a partir do índice histopatológico;
- Mensurar as adaptações teciduais do imobilismo e tratamentos, através da coloração de HE;
- Estimar a quantidade de tecido conjuntivo pela coloração de Tricômico de Masson;
- Evidenciar as características dos fusos musculares, pela coloração de Tricômico de Masson.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

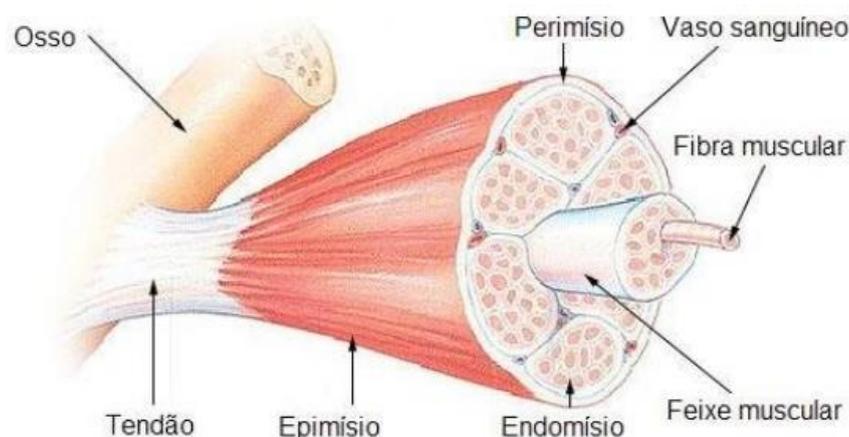
### 2.1 Músculo estriado esquelético

O tecido muscular é constituído de células alongadas, com típica característica estrutural que permite a transformação da energia química (adenosina trifosfato ou ATP) em energia mecânica (contração muscular). Isso acontece, pois, o músculo possui capacidade contrátil, movida pelas propriedades mecânicas de irritabilidade, contratilidade, extensibilidade e elasticidade (CRETOUIU *et al.*, 2018; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2018).

De acordo com essas capacidades mecânicas, a extensibilidade é caracterizada como a capacidade de alongamento do músculo a partir do repouso. A elasticidade é responsável pelo retorno da fibra ao seu comprimento normal após o alongamento do músculo. Enquanto a irritabilidade é capacidade de responder a uma determinada estimulação, e a contratilidade é a capacidade do músculo de encurtar-se a partir de um estímulo (HAMILL; KNUTZEN, 1999).

Além disso, o tecido muscular é composto de várias estruturas, como fibras musculares, capilares sanguíneos, tecido nervoso e tecido conjuntivo. O tecido conjuntivo possui um papel fundamental na formação muscular, pois age estruturalmente, organizando as fibras musculares e unindo-as em feixes. Sua organização se divide em camadas, sendo o epimísio um tecido externo que contempla vasos e nervos; o perimísio, responsável por agrupar as miofibrilas em feixes musculares, formando os fascículos; e o endomísio, caracterizado por um tecido interno que envolve a miofibrila, sendo composto principalmente por colágeno do tipo III (CRETOUIU *et al.* 2018) (FIGURA 1).

**Figura 1** – Organização do tecido conjuntivo no músculo estriado esquelético.



FONTE: Universidade Federal de Pelotas, 2018

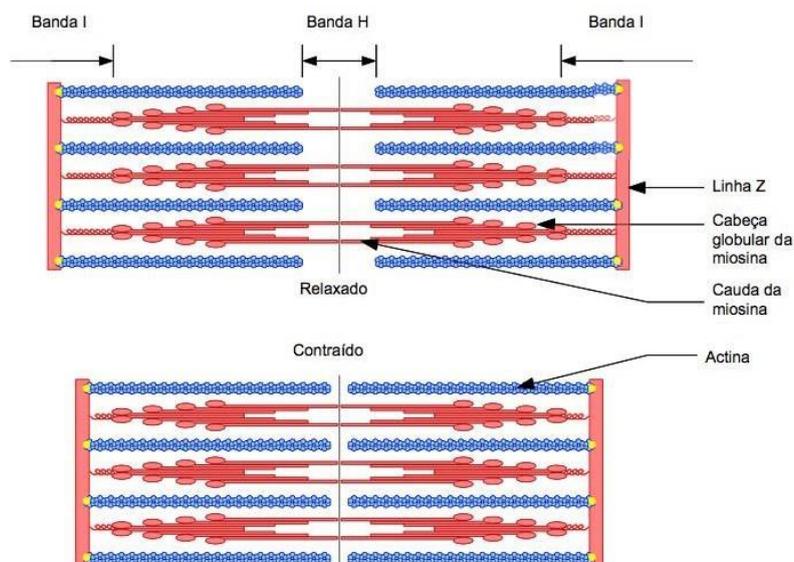
Para que o movimento corporal seja efetivo, é necessária uma organização tecidual, que caracteriza o músculo como estriado devido à disposição das bandas claras e escuras presentes nos sarcômeros (KINNEY *et al.*, 2017; MOO; HERZOG, 2018). Na organização do sarcômero, encontra-se filamentos de actina, caracterizados como finos, e os filamentos de miosina, considerados filamentos espessos, permitindo a contração muscular. Além disso, possuem linha Z, banda A, banda I e zona H (ERTBJERG, 2017; POWERS; HOWLEY, 2009).

A linha Z é composta por uma fina camada de proteína estrutural e divide o sarcômero em banda A e banda I, sendo que a banda A representa o aspecto escuro do sarcômero e é constituída de filamentos de miosina, enquanto as bandas I apresentam os filamentos de actina, representando o aspecto claro. Já a zona H é caracterizada por uma região central, onde encontra-se filamentos de miosina, ainda sem sobreposição dos filamentos de actina (POWERS; HOWLEY, 2009; RASSIER, 2017) (FIGURA 2).

A contração muscular ocorre a partir do momento que o estímulo elétrico é transmitido por meio dos neurônios motores, que se ligam nas unidades musculares por intermédio de uma conexão, conhecida como junção neuromuscular. A partir desse momento, o músculo está apto para realizar a contração muscular, que ocorre pelo deslizamento dos filamentos de actina sobre os filamentos de miosina, permitindo assim o encurtamento das fibras, e desenvolvendo a tensão muscular. Assim como durante o relaxamento, os filamentos de actina e miosina não estão firmemente

ligadas, dessa maneira, ocorre o alongamento das fibras, e conseqüentemente o relaxamento muscular (POWERS; HOWLEY, 2009) (FIGURA 2).

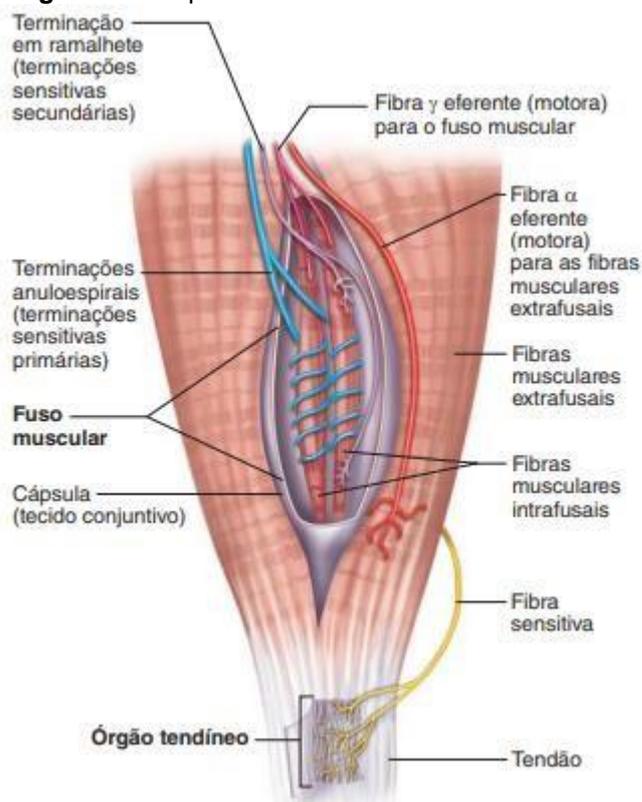
**Figura 2** – Desenho esquemático da organização dos filamentos contraídos e relaxados.



FONTE: Wikiciência, 2012.

Para que a contração e o relaxamento muscular aconteçam de maneira precisa, é necessário um receptor sensorial no tecido muscular. Essa informação é detectada através dos fusos musculares, que são formados por fibras especializadas, fibras intrafusais, e circundadas por uma bainha de tecido conjuntivo. O fuso muscular atua como um detector de comprimento, que age na propriocepção do corpo e ajuda no controle da movimentação muscular, permitindo não só o mecanismo reflexo, como as respostas sensório-motoras mais complexas que envolvem a força e funcionamento muscular. Além disso, sabe-se que como mecanismo de defesa, os fusos podem sofrer alterações a fim de evitar lesões teciduais. (KROGER, 2021; BANKS, 2012) (FIGURA 3).

**Figura 3** – Esquema dos fusos musculares.



FONTE: Elaine Marieb (Anatomia Humana), 2014

Ainda por cima, os músculos apresentam uma característica única, que permite delimitar o tipo de fibra presente no tecido muscular, que impactam diretamente na contração, permitindo baixa ou alta resposta à fadiga muscular. Podem variar de fibras I, caracterizadas como de contração lenta e oxidativas, além de apresentar maior resistência à fadiga, ou, fibras II que se dividem em IIA, fibras intermédias, e em IIB, denominadas como fibras rápidas, com menor capacidade oxidativa, e baixa resistência à fadiga (CAMPOS *et al.* 2002; QAISAR, 2016).

Outro componente fundamental para o funcionamento muscular é a via da ubiquitina-proteassoma, sendo a principal responsável pelo catabolismo proteico celular. Essa via coordena a quantidade adequada de síntese de proteína e proteólise, através de enzimas específicas, que proporcionam a manutenção, geração de antígenos e regulação proteica no tecido. Dessa forma, qualquer disfunção nesse sistema, pode provocar déficits à funcionalidade muscular (WANG, 2019; FORESTO, 2015).

Através dessas informações, entende-se que é necessária uma estrutura em equilíbrio para o adequado funcionamento muscular, sendo responsável pela funcionalidade, através da sustentação corporal, manutenção da postura, fornecimento de energia e força, permitindo a movimentação humana (HAMILL; KNUTZEN, 1999; CRETOUIU *et al.* 2018).

## **2.2 Imobilização e os seus efeitos no tecido muscular estriado esquelético**

Há diversas maneiras de realizar a imobilização articular, seja em decorrência de lesão como fraturas, onde se imobiliza o membro com talas, gessos e botas ortopédicas, em situações mais específicas, como em voos espaciais, ou no caso de pacientes que ficam hospitalizados por um longo período, na maioria das vezes, em ventilação mecânica, impossibilitados de realizar uma movimentação ativa (POWERS; HOWLEY, 2009).

Sabe-se que no ano de 2020 houve o surto mundial de um vírus extremamente agressivo, denominado SARS-CoV-2, afetando a vida de milhões de pessoas que necessitaram de internação hospitalar. Isso porque, o desuso muscular provocado em longos períodos de internamento, principalmente devido ao uso de sedativos e ventilação mecânica invasiva, repercutem de maneira negativa na funcionalidade do indivíduo (OLIVEIRA, 2021; ESTRANEO, 2021).

Levando em consideração esse dado, é importante salientar que quanto mais tempo uma pessoa permanece em desuso muscular, maior podem ser as sequelas envolvidas. Estudos em humanos comprovam que o imobilismo afeta a força muscular e a funcionalidade, podendo até mesmo aumentar a taxa de mortalidade (PAPLER, 2021). A imobilização provoca repercussões motoras como hiperalgesia e fraqueza muscular, e afeta o tecido muscular com aumento do processo inflamatório, desequilíbrio entre a degradação e síntese de proteína, alterações estruturais, vasculares e neurais da região (KUNZ *et al.*, 2014; KANEGUCHI, 2020; HUBER *et al.*, 2020).

As alterações provocadas pelo desuso muscular podem acontecer em curtos períodos, estudos experimentais apontam que mesmo três dias de imobilização já é o suficiente para provocar redução da massa muscular e de força, e longos períodos, podem ocasionar atrofia muscular, enfraquecimento ligamentar, alterações de sensibilidade, degradação proteica na musculatura, na vascularização e nos nervos envolvidos, além da redução significativa de força muscular e amplitude de movimento (ROCHA, 2020; WUTSKE *et al.*, 2020).

As repercussões do imobilismo podem ficar mais evidentes de acordo com o tipo de fibra muscular estudado, já que os músculos com predominância de fibras tipo I sofrem mais lesões referentes ao desuso muscular em comparação com músculos que predominam fibras do tipo II. Isso acontece, pois, as fibras oxidativas, são mais suscetíveis ao efeito catabólico ocasionado pela desregulação da via ubiquitina-proteassoma, ocasionada pelo desuso muscular (TALBOT; MAVES, 2016; WANG, 2019)

Além disso, a desregulação dessa via também está relacionada com a atrofia muscular, pois ocorre um desbalanceamento entre a síntese e degradação de proteína, além do aumento de apoptose tecidual, corroborando para esse aumento de fibras atroficas (SUH *et al.*, 2019; WANG, 2019). Uma das hipóteses para que isso aconteça, é que o estresse catabólico provoca inflamação tecidual e aumenta a degradação proteica como resposta ao desuso muscular. (OLIVEIRA, 2021).

A imobilização também altera a organização da matriz extracelular, com uma diminuição da mecanotransdução e uma rigidez do tecido, acompanhada do aumento da adipogênese. Essa rigidez pode ser relacionada com uma desorganização do colágeno no tecido imobilizado, além de disseminação de células, sugerindo uma deficiência na migração dentro da matriz extracelular (HUBER, 2020).

Concomitantemente ocorre a hiperalgesia no membro afetado pelo imobilismo, em consequência da inflamação que pode aumentar a sensibilidade dos terminais das fibras A-delta e C, além de aumentar a excitabilidade dos neurônios da medula espinhal. Essa cascata de reações provoca uma hipersensibilidade, tornando um estímulo inofensivo em uma resposta altamente exagerada de dor (WUTZKE, 2020).

Infelizmente, não há uma compreensão clara sobre os mecanismos moleculares relacionados à atrofia e fraqueza muscular, apenas sendo levantado a hipótese de uma falha bioenergética no músculo, além da alteração mitocondrial que

ocorre no tecido, afetando diretamente a síntese proteica e conseqüentemente a força muscular (ROCHA, 2021).

Dentre as possíveis formas de tratamento fisioterapêutico que podem ser utilizadas para a recuperação muscular, encontra-se comumente o alongamento passivo (MENON *et al.*, 2007), estimulação elétrica neuromuscular (DURIGAN *et al.*, 2008), remobilização livre (POLIEZZO *et al.*, 2011), ultrassom terapêutico (ARTIFON *et al.*, 2012) e mobilização articular passiva (GAMA, 2019; KISNER, 1998).

### **2.3 Mobilização articular passiva**

A mobilização articular é muito utilizada nas alterações osteomioarticulares e é caracterizada por um deslizamento da superfície articular, através da tração desse componente (GAMA, 2019). Pode também ser definida como “movimento passivo realizado com velocidade baixa o suficiente para que o utente possa interromper o movimento” (KISNER, 1998).

Na mobilização articular passiva não há contração voluntária do indivíduo, sendo todos os movimentos proporcionados por força externa, sendo a própria gravidade, um aparelho, outra pessoa ou outra parte do próprio corpo do indivíduo. Geralmente é indicada para minimizar a formação de contraturas, manter a elasticidade muscular, melhorar a circulação vascular, otimizar a nutrição articular, reduzir a dor, auxiliar na cicatrização de lesões, manutenção da amplitude muscular, além de outros benefícios (KISNER, 1998).

Além disso, recupera a artrocinética na articulação acometida, otimizando a movimentação e promovendo uma melhora da biomecânica, além de reduzir o atrito na articulação, a dor e o edema, reestabelecendo a funcionalidade do membro acometido (BANKS; HENGEVELD, 2012).

Um conceito muito utilizado para graduar os níveis de mobilização articular é o conceito de Maitland, que classifica a mobilização articular passiva em graus, sendo I, II, III, IV e V. O grau I é definido como movimento lento e de pequena amplitude; o grau II o movimento é de grande amplitude dentro da parte livre; o grau III é composto de movimentação lenta, de grande amplitude e grande resistência, chegando ao máximo de amplitude possível; o grau IV é realizado com pequena amplitude e grande resistência, chegando ao limite da mobilidade e; o grau V é um movimento brusco, de

alta velocidade com pequena amplitude, próximo ao ponto final disponível na manipulação (BANKS; HENGEVELD, 2012).

Quanto aos efeitos da mobilização articular, o grau I é de difícil aplicação, devido a sua especificidade de movimento; o grau II é usado para promover analgesia na articulação; o grau III é utilizado para o remodelamento tecidual, redução de fibrose no tecido e otimização do colágeno; e o grau IV e V são utilizados para movimento articular com restrição (RESENDE *et al.*, 2006; LEDERMAN, 2001).

As repercussões no tecido podem variar de acordo com o tempo de aplicação da mobilização articular. Alguns estudos apontam que em protocolos de 9 minutos de aplicação, já houve um efeito hipalgésico na região acometida, indicando que a mobilização articular passiva pode estar associada com a redução da inflamação no local (SLUKA, 2001).

Entretanto a sua ação na melhora da atrofia muscular ainda não é bem definida, já que não possui uma ação tão eficaz quanto a contração muscular ativa voluntária. Porém, mesmo que sem atuar diretamente na recuperação de força muscular, sabe-se que a contratura e rigidez muscular é um dos principais fatores que comprometem a reabilitação de um indivíduo, e em estudos experimentais, a mobilização articular passiva foi considerada benéfica para a mobilidade articular (CORDEIRO *et al.*, 2007; PFLUEGLER, 2019).

Pfluegler (2019) evidenciou em seus estudos que essa técnica melhora a atividade tônica dos músculos profundos, por meio da estimulação de mecanorreceptores articulares que aumentam a sensibilidade do fuso muscular, melhorando o padrão motor do indivíduo. Uma revisão sistemática realizada pelo mesmo autor, analisou efeitos da mobilização espinhal na função muscular, podendo normalizar a musculatura da região afetada, entretanto esse assunto ainda é obscuro, pois ficam lacunas interrogadas, como por exemplo a redução da algia e outros mecanismos envolvidos com a mobilização articular (PFLUEGLER, 2019).

Os efeitos neurobiológicos da intervenção são conhecidos, mas é necessário um aprofundamento sobre a principal mecânica da mobilização articular passiva na atrofia muscular provocada pelo desuso.

### 3.5 Ultrassom terapêutico

O ultrassom terapêutico pode ser utilizado no tratamento tecidual após a imobilização articular pois o seu funcionamento é caracterizado por uma descarga de energia mecânica com intensidade baixa, transmitida ao tecido lesionado por meio de ondas acústicas de alta frequência. Essas ondas são formadas através da conversão de energia elétrica em energia mecânica por meio de um transdutor piezoelétrico, promovendo uma regulação da proliferação e diferenciação celular, além das aberturas de canais da membrana (JIANG *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2019).

O ultrassom produz efeitos térmicos e não térmicos, que influenciam na condição muscular. O efeito térmico se mostra eficaz na expansibilidade muscular, e o efeito não térmico, cria microbolhas induzidas por cavitação acústica, que age na estimulação mecânica muscular. Além dessas vantagens, o ultrassom é utilizado de acordo com uma determinada frequência, que varia de 1 a 3 MHz e essa frequência consegue controlar o alcance das ondas, através da profundidade do tecido (JIANG *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2019).

Concomitantemente, age na aceleração do reparo tecidual das lesões musculares, na proliferação celular e na síntese proteica, além de otimizar a circulação sanguínea na região (MATHEUS *et al.*, 2008). Segundo Ter Haar (1999), o ultrassom com o efeito não térmico melhora a permeabilidade da membrana tecidual, permitindo melhor troca de nutrientes no tecido, conseqüentemente melhorando o metabolismo celular e a liberação de aderências.

O efeito térmico, otimiza a circulação na área acometida, diminuindo a rigidez articular, conseqüentemente aliviando a dor e reduzindo contraturas musculares (TER HAAR, 1999). Matheus *et al.* (2008) evidenciaram em seu estudo, que o ultrassom acelerou o processo de reparação de uma musculatura lesionada, evidenciando a importância do ultrassom terapêutico nesse tipo de tratamento.

Não há referências que associem a mobilização passiva e o ultrassom terapêutico na reabilitação de pacientes após um longo período de imobilização. Sabe-se que a mobilização passiva é amplamente utilizada em hospitais durante o período de imobilização, enquanto o ultrassom terapêutico é mais voltado para casos clínicos ou ambulatoriais.

Devido às repercussões que a imobilização pode gerar no tecido muscular, há necessidade de entender melhor a efetividade dos tratamentos para evitar os efeitos deletérios da imobilização e promover uma maior recuperação do tecido lesionado. Sabe-se que a mobilização articular passiva é muito utilizada nos hospitais como forma de tratamento para pacientes imobilizados por um longo período de tempo. Enquanto o ultrassom terapêutico é mais utilizado em clínicas de reabilitação, visando a melhor recuperação do tecido lesionado, por meio dos seus efeitos anti-inflamatórios e regenerativos.

Dessa maneira, esse estudo visou analisar os efeitos da mobilização passiva e do ultrassom terapêutico de maneira isolada após um período de imobilização, além disso, observar os efeitos que as duas técnicas juntas podem gerar no tecido lesionado. Devido aos benefícios que essas técnicas podem proporcionar, espera-se que os animais tratados de maneira associada, tenham uma maior reparação tecidual após o período de imobilização, quando comparado aos demais grupos.

## **2. PUBLICAÇÃO DO ARTIGO**

Enviado para avaliação na revista EINSTEN (ISSN: 1679-4508), em fevereiro de 2023.

Segue o artigo que está adaptado conforme as normas da revista, sendo estas, especificadas como anexo no final do trabalho (ANEXO 2).

### 3. ARTIGO

#### REPERCUSSÕES MORFOFUNCIONAIS DA REMOBILIZAÇÃO COM MOBILIZAÇÃO ARTICULAR PASSIVA E ULTRASSOM TERAPÊUTICO NO MÚSCULO SÓLEO DE RATOS *WISTAR*.

**Objetivo:** analisar as repercussões morfofuncionais da mobilização passiva e do ultrassom terapêutico de maneira isolada e associada, na remobilização do músculo sóleo de ratos *Wistar*. **Métodos:** Foram utilizados 40 ratos, aproximadamente 10 semanas, distribuídos randomicamente em cinco grupos (n=8), sendo grupo imobilização, remobilização livre, remobilização com mobilização passiva (grau IV), remobilização com ultrassom terapêutico (frequência de 1,0 MHz e intensidade de 0,5 w/cm<sup>2</sup>) e associação de ambas as técnicas. Os animais foram imobilizados com atadura gessada por 21 dias e sequencialmente, tratados por 3 semanas conforme protocolos estabelecidos. As avaliações funcionais de nocicepção e força de preensão foram realizadas antes, pós imobilização e uma vez por semana durante o tratamento, totalizando 5 avaliações. O músculo sóleo foi coletado e processado para análise da morfologia geral e histomorfometria das fibras musculares, tecido conjuntivo e fusos neuromusculares em microscopia de luz. Os dados estatísticos foram analisados no software SPSS 20.0®, por meio dos modelos lineares generalizados ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** Todos os grupos evidenciaram menor limiar nociceptivo após a retirada da órtese. O grupo associação apresentou melhor recuperação da força muscular em comparação com os demais. Morfologicamente, o músculo sóleo dos animais imobilizados apresentou alterações teciduais mais pronunciadas, comprovadas por maior pontuação no índice histopatológico, já o grupo associação apresentou o tecido muscular com melhores aspectos morfológicos e recuperação tecidual. **Conclusão:** A imobilização afeta a funcionalidade e provoca lesão tecidual, ambos os tratamentos propostos obtiveram melhora funcional e morfológica, entretanto as técnicas associadas potencializaram a recuperação tecidual.

Palavras-chave: atrofia muscular; imobilização; mobilização precoce, terapia por ultrassom.

### 3.1 - INTRODUÇÃO

A imobilização articular é um dos principais métodos de tratamento em lesões osteomioarticulares, como no caso de fraturas ósseas. <sup>(1)</sup> Por outro lado, os pacientes sofrem com o desuso muscular, em circunstâncias de repouso no leito, como em unidades de terapia intensiva (UTI), ou até mesmo por condições de saúde associadas com a senilidade. <sup>(2)</sup> Em 2020, em decorrência do surto mundial de Covid- 19, milhares de pessoas foram submetidas a longos períodos de internação, principalmente associado ao uso de sedativos e ventilação mecânica invasiva, e sofreram as repercussões motoras e funcionais pelo desuso muscular. <sup>(3,4)</sup>

Este desuso, provocado pelo imobilismo, repercute de forma negativa na morfofuncionalidade muscular, pois provoca inflamação, atrofia, desorganização do tecido conjuntivo, desalinhamento dos sarcômeros, aumento de adipogênese, descompensação da regulação de síntese de proteína e proteólise, culminando em fraqueza muscular, rigidez articular, redução da amplitude de movimento, enfraquecimento ligamentar e hiperalgesia, sendo que essas alterações em conjunto, podem suscitar em incapacidade, redução da qualidade de vida e contribuir para a mortalidade. <sup>(3-7)</sup>

As mudanças estruturais provocadas pelo imobilismo podem variar de acordo com o tipo de músculo estudado e o posicionamento do membro imobilizado, alterando a quantidade de lesões teciduais encontradas. <sup>(8)</sup> O músculo sóleo é amplamente suscetível às adaptações do imobilismo em decorrência do seu predomínio de fibra tipo I, além disso, pesquisas experimentais analisaram que músculos imobilizados em encurtamento, apresentam maior déficit em relação aos

músculos imobilizados em alongamento, devido à redução de elasticidade na posição encurtada. <sup>(9,10)</sup>

Levando em consideração as repercussões morfofuncionais advindas da imobilização, é importante buscar protocolos de tratamentos que acelerem a regeneração muscular, minimizem a dor e reestabeleçam a funcionalidade ao indivíduo e, neste sentido, a mobilização articular passiva vem sendo amplamente utilizada no ambiente hospitalar, embora pouco se saiba sobre o seu mecanismo de ação na morfologia do tecido muscular esquelético. <sup>(11,12)</sup>

Quanto ao ultrassom terapêutico, estudos mostram que possui efeito na regeneração tecidual e aumento da circulação local, principalmente em pacientes pós-operatórios. <sup>(13,14)</sup> Entretanto, são escassos estudos que associem essas técnicas e há lacunas sobre os parâmetros que devem ser utilizados como forma de tratamento após períodos prolongados de imobilização. Dessa forma, o presente estudo analisou os efeitos morfofuncionais das duas técnicas de maneira isolada e associadas na remobilização do músculo sóleo de ratos *Wistar*.

## **3.2 - METODOLOGIA**

### **Animais e grupos experimentais**

O presente estudo é de caráter experimental, randomizado e exploratório, aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE (Protocolo nº. 09-21) 12/07/2021 e realizado respeitando os preceitos éticos em experimentação animal (ANEXO 1).

Foram utilizados 40 ratos da linhagem *Wistar*, com idade de 10 semanas e peso médio de  $278 \pm 28$ g, obtidos do Biotério Central da UNIOESTE, que foram alocados em caixas plásticas de polipropileno, em temperatura ambiente, com fotoperíodo claro/escuro de 12 horas e com acesso a água e ração à vontade.

Os animais foram randomizados em 5 grupos experimentais, com 8 animais em cada grupo, sendo grupo imobilização (GI), grupo remobilização livre (GRL), grupo remobilização tratado com mobilização passiva (GRMP), grupo remobilização tratado com ultrassom terapêutico (GRU) e grupo remobilização tratado com mobilização passiva e ultrassom terapêutico (GRMU).

### **Cronograma do experimento**

Após a fase de adaptação (sete dias), os animais foram submetidos à avaliação funcional basal (AV0), e no mesmo dia, foram imobilizados com atadura gessada, na qual permaneceram por 21 dias consecutivos. <sup>(6)</sup>

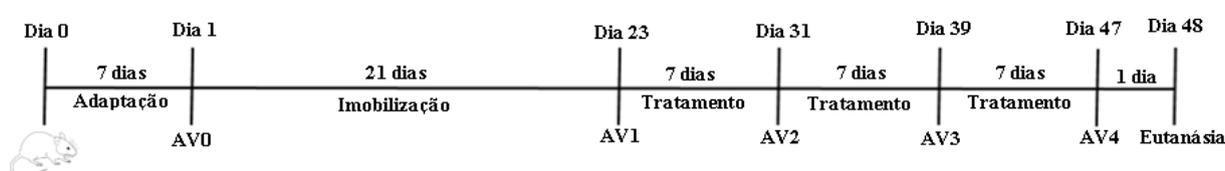
Posteriormente, a órtese foi retirada e os animais realizaram a primeira avaliação funcional (AV1), em sequência, o GI foi eutanasiado, para grupo controle dos efeitos do desuso muscular. Os demais grupos foram submetidos aos protocolos de tratamento proposto, sendo que o GRL permaneceu em movimentação livre na caixa, sem qualquer tipo de intervenção, o GRMP foi tratado com mobilização passiva, o GRU com ultrassom terapêutico e GRMU com a associação da mobilização passiva e do ultrassom terapêutico (FIG. 1).

Cada grupo realizou avaliações a cada semana de tratamento, sendo assim, após a primeira semana de tratamento (7 dias) foi realizada a segunda avaliação funcional (AV2), a seguir, na segunda semana (14 dias), a avaliação três (AV3) e posteriormente na última semana de tratamento, os animais realizaram a quarta

avaliação funcional (AV4), completando o protocolo de 21 dias de intervenção (FIG. 1).

Logo após 24 horas da última avaliação, aconteceu a eutanásia dos grupos, e então, realizado a coleta do músculo sóleo para o processamento dos materiais e análise das amostras (FIG. 1).

**Figura 1** – Organograma do período experimental



FONTE: Própria, 2022.

### **Avaliações funcionais**

Os animais foram previamente treinados e adaptados aos equipamentos de avaliação funcional, durante o período de 7 dias. As avaliações foram realizadas no primeiro dia antecedente à imobilização articular (AV0), após a retirada da órtese (AV1), na primeira semana de tratamento (AV2), na segunda semana de tratamento (AV3) e após a terceira semana de tratamento (AV4).

### **Limiar nociceptivo**

Foi utilizado o analgesímetro digital do tipo filamento de Von Frey (Insight ®), que possui um transdutor de pressão, medido através de uma ponteira descartável de polipropileno, com 0,5 mm de diâmetro. Os animais foram posicionados em uma caixa de madeira elevada, com um assoalho inferior de arame não maleável, possibilitando

o contato do filamento de forma perpendicular à região plantar do membro pélvico direito, com pressão crescente até que o animal retirasse o membro, fornecendo o limiar nociceptivo. <sup>(15)</sup> Foram obtidos 3 valores e a média foi utilizada (FIG. 2).

**FIGURA 2** – Avaliação do limiar nociceptivo com o filamento de Von Frey.

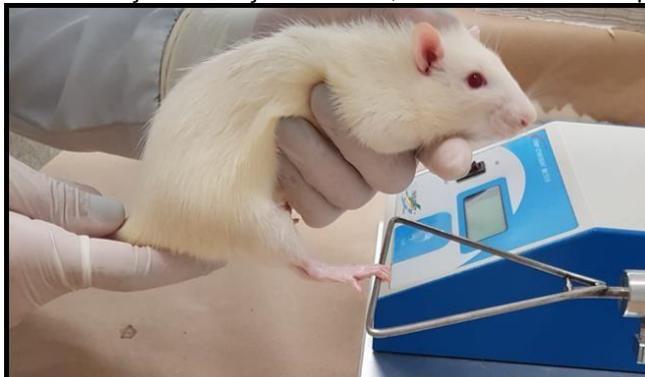


FONTE: Própria, 2022.

### **Força do membro pélvico**

A avaliação foi feita através da força de preensão (Insight®). <sup>(16)</sup> Os animais foram posicionados de modo que o membro estivesse agarrado a grade, sendo em seguida, tracionado pela cauda com força crescente até que a preensão fosse perdida. A partir disso, o aparelho mediu a força exercida pelo animal para manter a preensão. Esse teste foi realizado no membro pélvico direito e o membro esquerdo foi imobilizado pela mão do avaliador para não interferir na avaliação. Foram obtidos 3 valores e a média foi utilizada (FIG. 3).

**FIGURA 3** – Avaliação da força muscular, através do teste de preensão.



FONTE: Própria, 2022.

### **Protocolo de Imobilização**

O protocolo utilizado foi adaptado <sup>(21)</sup>, sendo que os animais foram anestesiados (quetamina: 95 mg/kg; xilazina: 12 mg/kg, intraperitoneal) e imobilizados com atadura gessada por 21 dias consecutivos. A órtese foi moldada a partir da região abdominal, logo abaixo do gradil costal, e seguiu para o membro pélvico direito. A articulação do quadril e joelho permaneceu em extensão completa e a articulação tibiotarsal, em flexão plantar máxima (FIG. 4).

**FIGURA 4** - Protocolo de imobilização com atadura gessada.

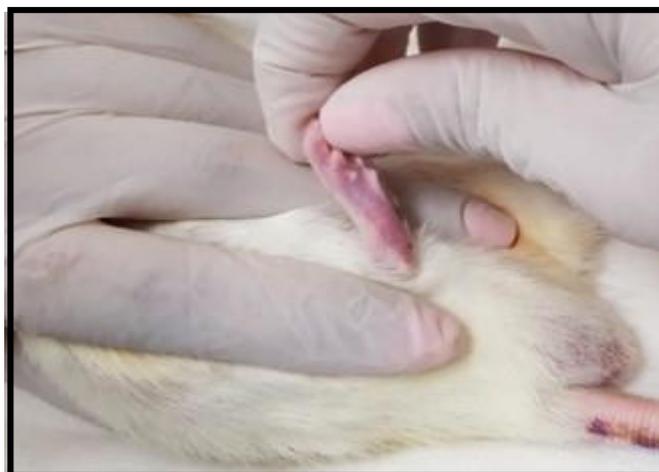


FONTE: Própria, 2022.

### **Protocolo de tratamento com mobilização passiva**

O protocolo de tratamento foi aplicado no membro pélvico direito dos animais pertencentes aos grupos GRMP e GRMU, no qual foi realizado mobilização passiva articular grau IV (mobilização de pequena amplitude que chega na barreira restritiva).<sup>(17)</sup> Na articulação do joelho, o movimento foi posteroanterior; e no tornozelo, anteroposterior. Para ambas as articulações, foram aproximadamente 50 movimentações em um minuto, por três vezes na semana, durante 3 semanas, totalizando 9 sessões (FIG. 5).

**FIGURA 5** - Protocolo de mobilização articular passiva.



FONTE: Própria, 2022.

### **Protocolo de tratamento com ultrassom terapêutico**

O ultrassom terapêutico foi realizado nos grupos GRU e GRMU. O aparelho utilizado foi o Sonoplus Ibramed®, com ERA de 3 cm<sup>2</sup>, frequência de 1,0 MHz e intensidade de 0,5 w/cm<sup>2</sup>, emissão contínua, por 2 minutos no joelho (1 minuto na face lateral e 1 minuto na face medial) e 2 minutos no tornozelo (1 minuto na face lateral e

1 minuto na face medial) do membro pélvico direito. Também foi realizado três vezes por semana, 3 semanas, totalizando 9 sessões (FIG. 6).

**FIGURA 6** - Protocolo do tratamento com ultrassom terapêutico.



FONTE: Própria, 2022.

### **Eutanásia dos animais e análises histomorfológicas**

Os animais do GI foram eutanasiados após a retirada da órtese, enquanto o GRL, GRMP, GRU e GRMU após 21 dias de intervenção. Para a eutanásia, os animais foram previamente pesados e anestesiados com injeção intraperitoneal de cloridrato de quetamina e xilazina até a overdose. O músculo sóleo foi dissecado, pesado em balança digital e medido por meio do paquímetro digital (*Digimess*<sup>®</sup>).

Em seguida, foi fixado em Metacarn (70% Metanol + 20% clorofórmio + 10% de ácido acético glacial) por 24 horas e armazenado em álcool 70% até o processamento. Para a confecção das lâminas, houve o processo de desidratação em série alcóolica crescente, diafanização em álcool n-butílico e inclusão em parafina histológica. Posteriormente, os músculos foram seccionados em cortes transversais com 7 µm de espessura por meio do micrótomo (CUT 4055 Olympus<sup>®</sup>) e corados em HE para análise geral do tecido muscular. <sup>(18)</sup>

As lâminas foram analisadas em microscópio de luz (BX60 Olympus®), sendo que foram retiradas 10 fotomicrografias de cada animal, em objetiva de 40x, e foram mensuradas 10 fibras dentro de um mesmo fascículo, totalizando 100 mensurações por animal, por meio do programa *Image-Pro-Plus* 6.0 (Media Cybernetics®).

Para a histomorfometria, foram medidas a área de secção transversa, diâmetro menor e maior, número de núcleos, densidade de fibras e de capilares sanguíneos. Para calcular a razão de núcleo e de capilar por fibra, foi realizada a divisão do número total de núcleos e de capilares pelo número total de fibras musculares presentes no mesmo campo visual. <sup>(19)</sup> Para evitar erro de amostragem, foram excluídas as fibras e os capilares sanguíneos projetados sobre as bordas superior e direita em todas as mensurações.

### **Análise do tecido conjuntivo**

Para a estimativa da densidade do tecido conjuntivo foi realizado o mesmo armazenamento e processo de emblocamento do HE, porém com coloração de Tricômico de Masson. <sup>(20)</sup>

As lâminas foram analisadas em microscópio de luz (BX60 Olympus®), sendo que foram retiradas 10 fotomicrografias de cada animal, em objetiva de 40x e analisadas através do programa *Image-Pro-Plus* 6.0 (Media Cybernetics®). A área relativa do tecido conjuntivo (densidade da área) foi calculada dividindo o total de pixels da fotomicrografia, pelo total de pixels da marcação do tecido conjuntivo. <sup>(20)</sup>

Foi utilizado a objetiva de 40x com ampliação para o fuso muscular, sendo analisados 6 fusos de cada grupo com medidas da espessura da cápsula, área dos fusos e quantidade de fibras intrafusais, por meio do programa *Image-Pro-Plus* 6.0 (Media Cybernetics®, Silver Spring, USA). <sup>(33)</sup>

## **Histopatologia**

O índice histopatológico foi utilizado para mensurar o nível de alterações e lesões no tecido muscular, classificando em grave, moderada ou leve. <sup>(22)</sup> O cálculo utilizado é:  $X = a \times w$ , sendo que “X” indica a soma de dano total do tecido, “a” representa o score da extensão da lesão (0=nenhuma, 2=mínima, 4=moderada e 6=grande) e “w” o fator de importância patológica (mínima, moderada e grande). O índice de lesão varia de acordo com a pontuação estabelecida pela fórmula, sendo que, quanto maior a pontuação (podendo chegar até 320 pontos), maior a lesão tecidual.

As lâminas foram analisadas em microscopia de luz e as alterações vistas foram plotadas em tabela do Microsoft Excel®, onde foi realizado a mensuração das estruturas encontradas, classificadas pelo índice como desordens inflamatórias e circulatórias (Hemorragia, edema, exsudato e infiltrado inflamatório), mudanças regressivas (Fibras arredondadas, anguladas, divididas, com degeneração, vacuolização, atrofia, necrose, mionúcleos, aumento de núcleos, tecido adiposo, alteração de tecido nervoso e fusos musculares), e mudanças progressivas (Hipertrofia ou hiperplasia do tecido muscular, hipertrofia ou hiperplasia do tecido conjuntivo e neoplasias).<sup>(21)</sup>

## **Análise Estatística**

Para análise estatística das avaliações funcionais, histomorfometria, densidade do tecido conjuntivo e índice histopatológico foi utilizado o programa SPSS 20.0®. As comparações foram realizadas por Modelos Generalizados Lineares, com pós-teste

de Fisher (LSD). O valor de significância adotado foi de  $p < 0,05$  e os resultados expressos em média e desvio padrão.

### **3.3 - RESULTADOS**

#### **Avaliações funcionais**

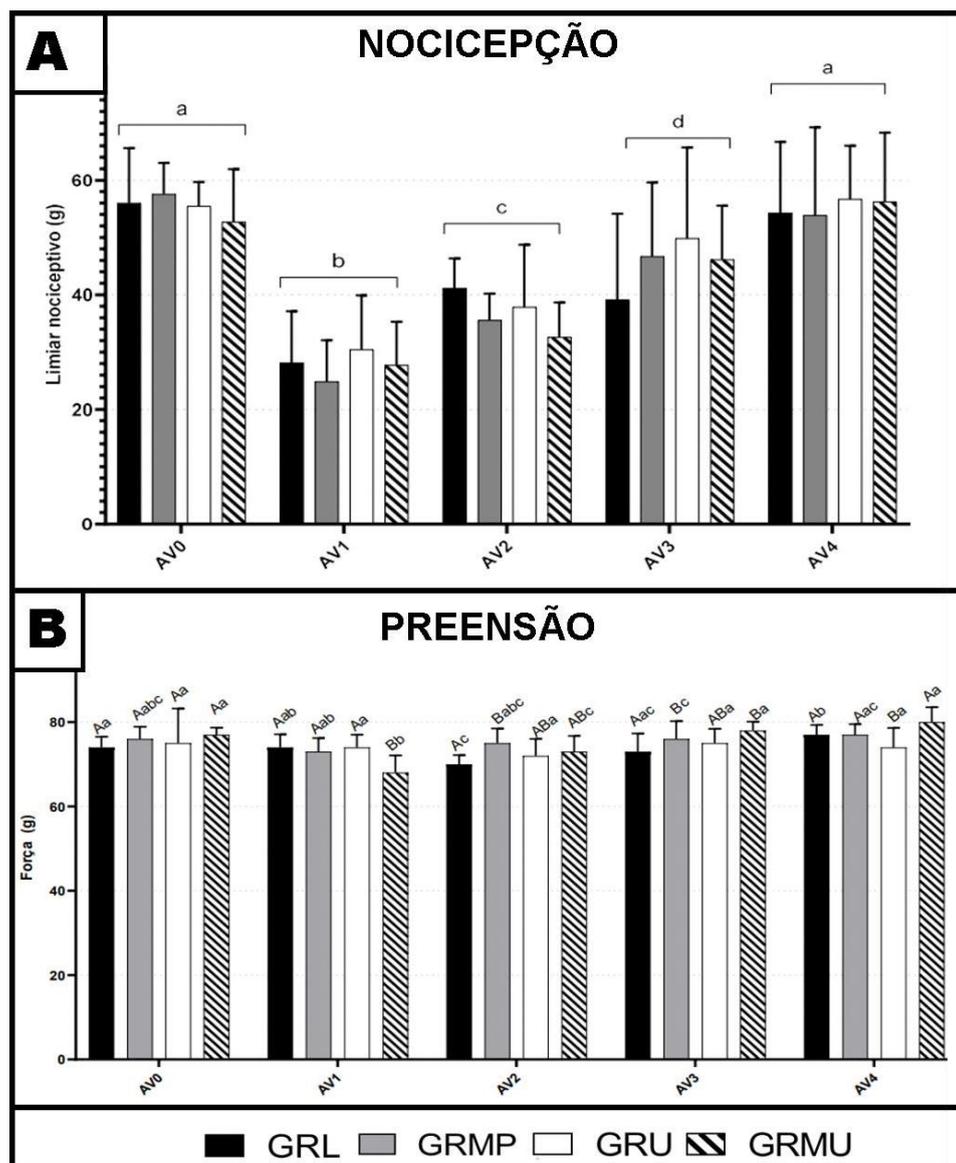
Em relação ao limiar nociceptivo, houve diferença entre as avaliações ao longo das semanas ( $p < 0,05$ ), porém não houve interação entre os grupos de tratamento. Na AV1, realizada logo após a retirada da órtese, todos os grupos apresentaram um menor limiar nociceptivo e com o decorrer das avaliações, houve um aumento exponencial, sendo que na AV4 todos os grupos se igualaram a AV0 (FIG. 7A).

Quanto à força muscular, é possível observar diferença significativa intragrupo ao longo das avaliações, representado pelas letras minúsculas ( $p < 0,05$ ). Nota-se que o GRL teve o seu menor grau de força na AV2, e o maior valor na AV4. Os grupos tratados de maneira isolada (GRU e GRMP) não apresentaram diferença significativa ao longo das semanas de tratamento. E o grupo associação (GRMU), obteve o seu menor valor na AV1, porém, na última avaliação, apresentou valor semelhante ao início do experimento ( $p < 0,05$ ) (FIG. 7B).

Em relação à comparação intergrupos, indicado pelas letras maiúsculas, é evidente que na AV1, após a retirada da órtese, o grupo associação (GRMU), apresentou o valor mais baixo de força em relação aos demais grupos. Na AV2 o GRMP apresentou maior significância em relação ao GRL. Enquanto na AV3 o grupo associação (GRMU), se equipara aos demais grupos de tratamento (GRMP e GRU), o GRL passa a ser o grupo com menor valor de força entre os demais. E na última

avaliação, todos os grupos (GRL, GRMP e GRMU) apresentaram valores superiores em relação ao GRU.

**FIGURA 7** – Resultados da avaliação de limiar nociceptivo e força de preensão.



Limiar nociceptivo (representado por A), avaliado em gramas, de acordo com o teste realizado de Von Frey ( $P < 0,005$ ) e força do membro pélvico direito (gramas), por meio da preensão (B). As letras minúsculas representam os resultados entre as avaliações, enquanto as letras maiúsculas indicam os resultados entre os grupos de tratamento ao longo das avaliações ( $P < 0,005$ ).

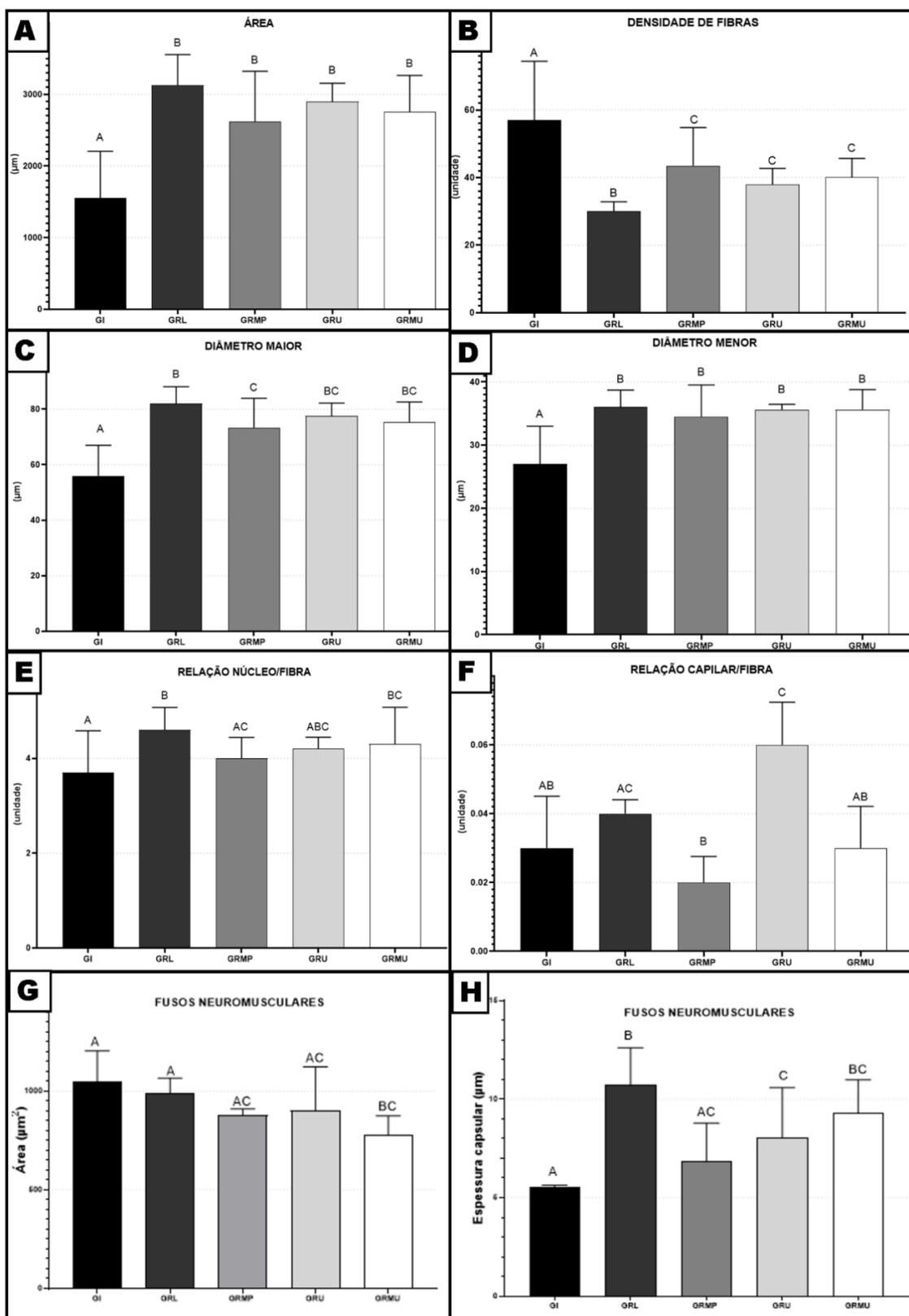
## Histomorfometria

Na análise histomorfométrica das fibras musculares do sóleo, foi possível observar que as fibras do grupo GI apresentaram menor área de secção transversa (FIG. 8A), maior número de fibras e conseqüentemente maior densidade (FIG. 8B). Em relação aos diâmetros menor e maior, também se revelou com menores mensurações em relação aos demais grupos ( $p < 0,05$ ) (FIG. 8C-D).

Quanto a relação de núcleo por fibra, o GI, GRMP e GRU apresentaram menor quantidade comparado aos demais grupos. Enquanto os grupos de tratamento (GRMP, GRU e GRMU) não apresentaram diferenças significativas entre si (FIG. 8E). No que diz respeito à relação de capilar por fibra, o GRU apresentou maior quantidade de capilares (FIG. 8F).

Referente aos fusos musculares, os grupos de tratamento, de maneira isolada e associada, foram os que mais se assemelharam quanto à área, enquanto os grupos GI e GRMP obtiveram valores aproximados da espessura capsular (FIG. 8G-H).

**FIGURA 8** – Histomorfometria do músculo sóleo de ratos *Wistar* corado em Hematoxilina -eosina



Na imagem A, área da fibra muscular (µm)<sup>2</sup>, em B, densidade de fibras (un), C e D diâmetro maior e menor (µm), em E, relação de núcleo/fibra (un) e F, relação capilar/fibra (un) do músculo sóleo, com a coloração de hematoxilina-eosina (P<0,005). Em G e H, valores da área e espessura capsular dos fusos neuromusculares (P<0,005), por meio da coloração de tricômico de Masson.

## Histomorfologia e Índice histopatológico

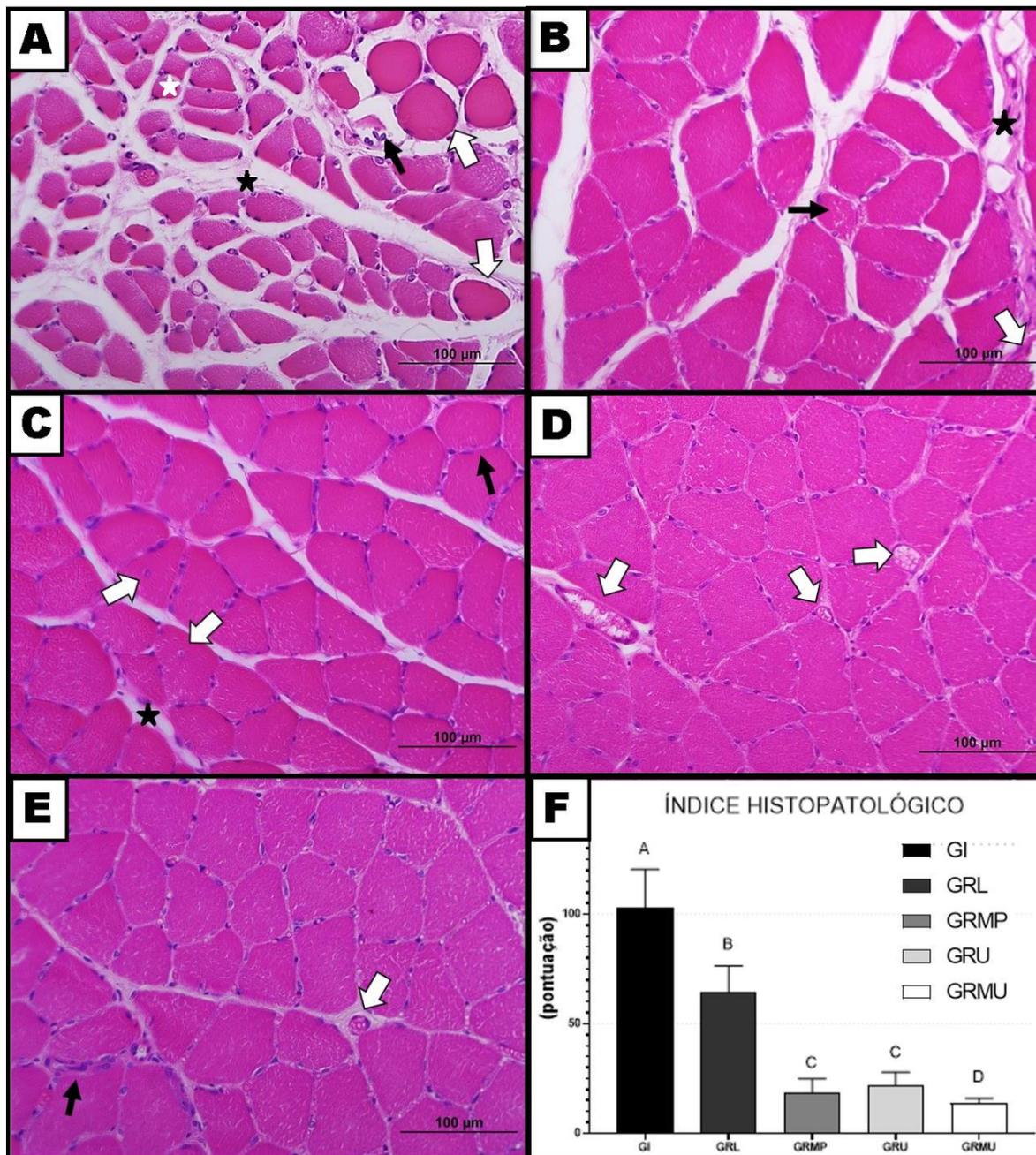
Morfologicamente, o GI apresentou diversas alterações teciduais, como fibras amorfas, hipereosinofílicas e em processo de necrose tecidual, atrofia, vacuolização, presença de infiltrado inflamatório, hipertrofia do tecido conjuntivo e desorganização tecidual (FIG. 9A).

Em relação aos grupos de tratamento, o GRL teve presença de vasos congestos, além de desorganização tecidual, com hipertrofia do tecido conjuntivo e células atrofiadas, porém, em menor quantidade do que o GI (FIG. 9B). Enquanto o GRMP evidenciou pequena quantidade de tecido conjuntivo desorganizado, algumas fibras arredondadas e amorfas, e núcleos centralizados (FIG. 9E).

Em contrapartida, o GRU (FIG. 9D) evidenciou grande quantidade de vasos sanguíneos, representando aumento da vascularização e congestão sanguínea. E o GRMU, exibiu maior organização tecidual, porém, com algumas aglomerações nucleares e alguns vasos congestos (FIG. 9E).

Na análise do índice histopatológico o GI apresentou maior pontuação em relação aos demais grupos, com uma média de 103 pontos. O GRL obteve uma média de 64 pontos, superior ao GRMP, GRU e GRMU. Os grupos GRMP e GRU não apresentaram diferenças significativas, sendo que as pontuações foram de 18 e 22 pontos consecutivamente. Em relação ao GRMU, foi o grupo que apresentou menor valor no índice, com uma média de 13 pontos (FIG. 9F).

**FIGURA 9** – Fotomicrografias do músculo sóleo de ratos Wistar em corte transversal corado com a técnica de Hematoxilina e Eosina e gráfico do índice histopatológico.



Em A, grupo imobilizado (GI) com hipertrofia e desorganização do tecido conjuntivo (asterisco preto), atrofia das fibras (asterisco branco), fibras amorfas e hipereosinofílicas (seta branca) e necrose tecidual (seta preta). Em B, remobilização livre (GRL) mostra vasos congestionados (seta branca), atrofia muscular (seta preta), desorganização e hipertrofia do tecido conjuntivo (asterisco preto). C, grupo mobilização passiva (GRMP), os núcleos centralizados (seta branca), fibras arredondadas (seta preta) e hipertrofia do tecido conjuntivo (asterisco preto). Enquanto em D, ultrassom (GRU) é possível observar grande quantidade de vasos sanguíneos (seta branca). Na imagem E, grupo associação (GRMU) nota-se aglomeração de núcleos (seta preta) e presença de vasos sanguíneos (seta branca). A imagem F representa o índice histopatológico, de acordo com a pontuação de cada grupo representado o grau de lesão.

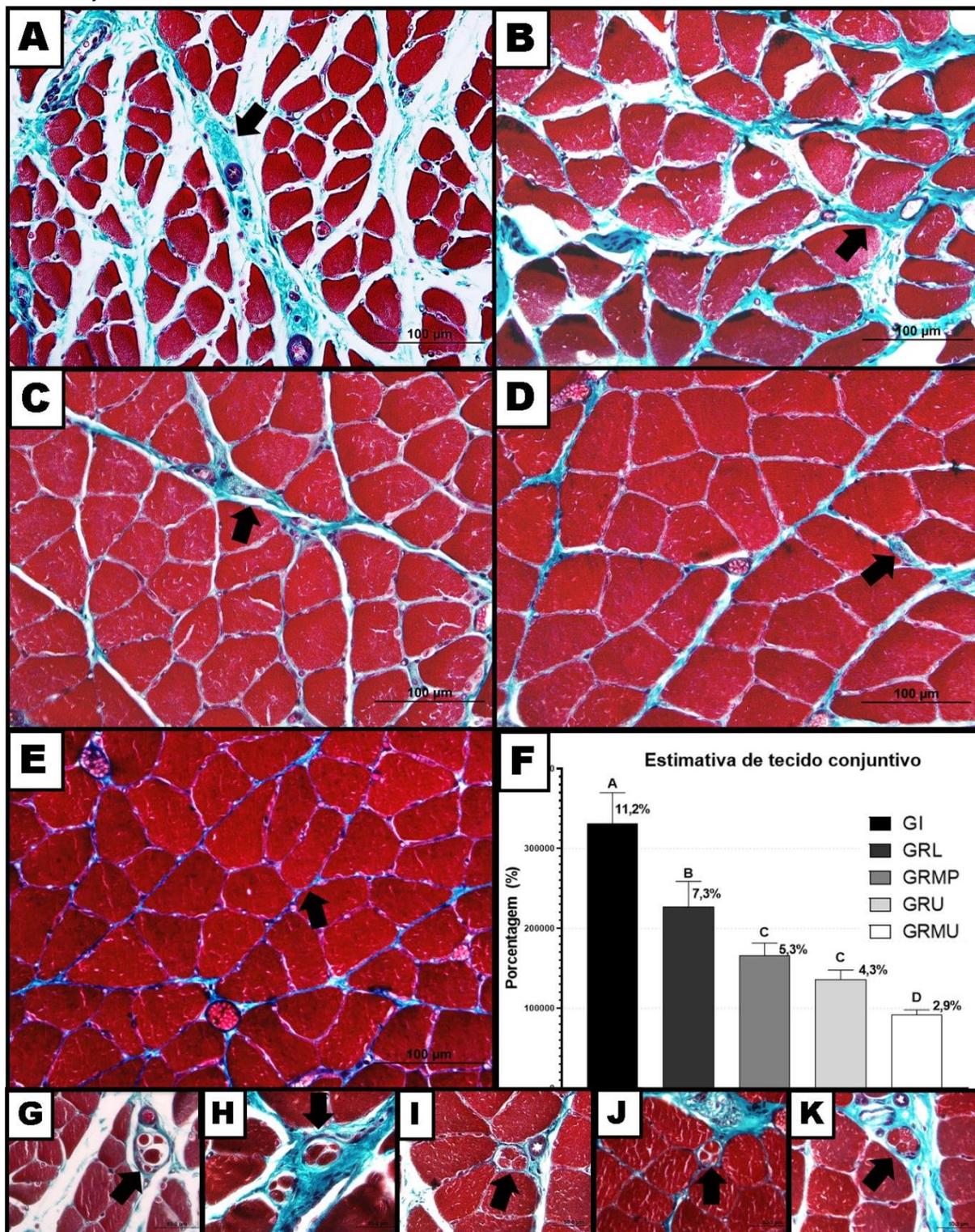
## **Tecido conjuntivo e fusos musculares**

Na análise da densidade do tecido conjuntivo do endomísio e perimísio foi possível observar grande quantidade de tecido conjuntivo no GI e importante desorganização tecidual (FIG. 10A). Quanto aos demais grupos, o GRL ainda apresentou desorganização e aumento do tecido conjuntivo (FIG. 10B). Em seguida o GRMP e GRU (FIG. 10C-D), enquanto o GRMU o grupo com menor quantidade de tecido conjuntivo e maior organização tecidual (FIG. 10E).

É visto a diferença entre os grupos do experimento ( $p < 0,05$ ), sendo que GI exibiu 11,2% de tecido conjuntivo, o GRL 7,3%, o GRMP e o GRU não apresentaram valores significativos entre si, sendo aproximadamente 5% e 4% respectivamente, e o GRMU evidenciou a menor quantidade, com 3% (FIG. 10F).

Além disso, é possível identificar aumento da espessura capsular dos fusos, nos grupos GRL e GRMU (FIG. 10H-K). Enquanto o GI, GRMP e GRU não apresentaram grande diferença entre si, conforme visto (FIG. 10G-H).

**FIGURA 10** – Fotomicrografias do músculo sóleo de ratos *Wistar* em corte transversal evidenciando tecido conjuntivo e fusos musculares, corado com tricômico de Masson, e gráfico da densidade de tecido conjuntivo.



Grupo GI (A), GRL (B), GRMP (C), GRU (D), GRMU (E). Em vermelho as fibras musculares e em verde o tecido conjuntivo (identificados pelas setas pretas). A imagem F representa o gráfico da estimativa de tecido conjuntivo. E as imagens G, H, I, J, K, sequencialmente representam os fusos neuromusculares dos grupos GI, GRL, GRMP, GRU e GRMU (sendo evidenciado as cápsulas por meio das setas pretas).

## 5.7 - DISCUSSÃO

No presente estudo, foi analisado as repercussões morfofuncionais da imobilização articular por 21 dias, assim como das intervenções terapêuticas com mobilização passiva articular, ultrassom terapêutico e associação de ambas as terapias na remobilização do músculo sóleo por 3 semanas.

A imobilização acontece em situações de restrição no leito, como em longos períodos de internação hospitalar, ou em pacientes acamados devido a senilidade ou desordens osteomioarticulares. <sup>(2)</sup> É evidente que quanto maior o tempo de desuso muscular, maior serão as sequelas e repercussões, afetando a funcionalidade, através da fraqueza muscular e redução do limiar nociceptivo. <sup>(1,23,28)</sup>

Pesquisas evidenciaram que a inflamação provocada pelo imobilismo, aumenta a dor, pois interfere no limiar nociceptivo, causando hipersensibilidade. Essa condição pode estar relacionada com uma sensibilização central, devido ao estímulo excessivo provocado pela órtese na periferia do membro <sup>(24-27)</sup>. Estes dados vão ao encontro dos achados do presente estudo, já que após a imobilização todos os grupos apresentaram menor limiar nociceptivo em relação às demais avaliações.

A força muscular também foi severamente afetada após a imobilização. O imobilismo reduz a síntese proteica e aumenta a proteólise tecidual, provocando atrofia, e com isso, a contração muscular se torna ineficaz, reduzindo a força muscular. <sup>(9, 27)</sup> Esses achados podem justificar a diferença de força muscular na avaliação após a retirada da órtese em comparação com a basal. Embora o GRMU tenha apresentado menor força em relação aos demais grupos na AV1, nota-se que na última avaliação ele se equiparou aos demais grupos de tratamento, indicando

que a associação dos tratamentos pode ter auxiliado na recuperação da força muscular.

Esses achados se complementam com a histomorfometria, a qual evidencia no GI maior densidade de fibras, com menor área e diâmetro, realçando a presença de fibras atroficas. <sup>(21,30)</sup> Além disso, pesquisadores descrevem que com o imobilismo, ocorre a redução de núcleos musculares, entretanto, na atual pesquisa o grupo imobilização apenas apresentou menor núcleo em relação ao GRL, sendo similar aos demais grupos de tratamento. <sup>(10,31)</sup> Sabe-se que os mionúcleos são determinantes de volume citoplasmático, dessa forma, a atrofia muscular pode prejudicar o seu funcionamento, reduzindo a ação transcricional. <sup>(32)</sup>

No que se refere ao índice histopatológico e histomorfologia, o GI apresentou maior lesão tecidual, com atrofia, fibras amorfas e hipereosinofílicas, necrose tecidual, aumento de células inflamatórias e desorganização conjuntiva. <sup>(21,33)</sup> Em seguida, o GRL também apresentou alguns pontos de lesão, como desorganização tecidual, além da presença de fibras atroficas e arredondadas. O GRMP e GRU não se diferenciaram em relação aos pontos, no entanto, o GRU apresentou maior quantidade de vasos congestos em relação aos demais grupos. Quanto ao GRMU, se destacou com o menor índice de lesão, demonstrando ação positiva da associação da mobilização passiva e do ultrassom terapêutico na remobilização do músculo sóleo.

Concomitantemente, é possível observar que animais imobilizados apresentam uma pontuação alta no índice histopatológico, corroborando com os achados do presente estudo. <sup>(21)</sup> O fluxo sanguíneo aumentado foi comumente achado nos grupos estudados, e está diretamente relacionado com a inflamação tecidual e tentativa de reparo, mais evidentes no GRL e no GRU, sendo que no grupo com ultrassom, esse aumento do fluxo sanguíneo é considerado uma consequência do efeito térmico dessa

terapia. <sup>(13,14,34,35)</sup> Além dessas alterações, o GI, GRL e GRMP apresentaram grande quantidade de núcleos centralizados, indicando uma adaptabilidade e tentativa de recuperação tecidual. <sup>(21, 36-37)</sup>

Quanto à densidade do tecido conjuntivo, estudos experimentais analisaram que a imobilização articular aumenta a quantidade de macrófagos no tecido, desregulando a deposição de tecido conjuntivo e aumentando as fibroses, além de alterar a síntese de colágeno, acarretando em desorganização do tecido conjuntivo e aumento da rigidez local. <sup>(14, 38-42)</sup> Esses achados condizem com a atual pesquisa, pois o GI apresentou maior quantidade de tecido conjuntivo e desorganização de seu arranjo característico na formação do endomísio e perimísio, seguido do GRL, que não foi submetido a nenhum tratamento.

Em relação aos fusos neuromusculares, pouco se sabe sobre as suas adaptações como tentativa de defesa e reparação, entretanto, pesquisadores especulam que o espessamento da cápsula ao redor das fibras intrafusais, indica um mecanismo de defesa, como resposta adaptativa para que as fibras não sofram atrofia. No atual estudo, o GRL e o GRMU apresentaram cápsulas mais espessas em relação aos demais grupos, corroborando com a hipótese de que o tecido está tentando se recuperar das repercussões do imobilismo. <sup>(2,33)</sup>

Uma possível justificativa para a presença de tantas adaptações teciduais na presente pesquisa, é o fato de que o músculo estudado possui predominância de fibras I, que são mais suscetíveis às repercussões do desuso muscular, <sup>(9, 38)</sup> além do fato de ter sido imobilizado em posição de encurtamento, o que também favorece as lesões teciduais quando comparado em imobilizações com alongamento muscular, assim como outros estudos já reportaram. <sup>(10,44)</sup>

E para tratar as repercussões da imobilização articular, a mobilização passiva é muito utilizada em unidades de terapia intensiva como exercício em casos de sedação prolongada. Entretanto, muitos profissionais se questionam em relação ao seu uso, devido à falta de evidência dos benefícios propostos por essa técnica no desuso muscular. Sugere-se que através do deslizamento articular, ocorre maior lubrificação e nutrição local, auxiliando no processo de combate inflamatório, regeneração e cicatrização local. <sup>(12,45-47)</sup>

Embora não se tenha ciência de todos os benefícios da mobilização passiva, no presente estudo, os animais desse grupo apresentaram uma resposta eficaz ao tratamento, evidenciando que de determinada maneira, essa técnica contribui para a reorganização do tecido conjuntivo, recuperação da fibra e força muscular. Em estudos com humanos, é visto que a mobilização passiva melhora o padrão motor e estimula os mecanorreceptores. <sup>(48)</sup> Entretanto, esta técnica não se mostrou eficaz para o aumento da circulação sanguínea no GRMP, ao contrário do que outros estudos avaliaram em humanos, de que a técnica pode estar relacionada com o aumento da circulação sanguínea, avaliada por meio da frequência cardíaca, débito cardíaco e pressão arterial de pacientes internados. <sup>(49)</sup>

Referente ao ultrassom terapêutico de maneira isolada, os animais desse grupo também obtiveram uma resposta eficaz ao tratamento proposto. Essa técnica transmite ao tecido lesionado ondas acústicas que auxiliam na proliferação celular e reparo tecidual. Na atual pesquisa foi utilizado o parâmetro do ultrassom contínuo, sabendo que, em intensidades como a proposta, proporciona efeito térmico, assim age diretamente na extensibilidade tecidual, no aumento da síntese proteica, redução de contraturas e aumento da circulação local. <sup>(13,14,50)</sup>

Embora o ultrassom terapêutico seja muito utilizado em âmbito ambulatorial e raramente utilizado em unidades de terapia intensiva, as duas técnicas de maneira associada potencializaram a recuperação dos animais desse grupo. Destacando a melhora da força, redução de fibras atroficas, contenção da inflamação local, melhor organização tecidual e redução da hipertrofia do tecido conjuntivo.

Limitações: Os benefícios da mobilização passiva ainda são incertos na literatura, e nesse estudo a mobilização passiva pode ter sido limitada, pois os animais não estavam sedados durante a aplicação do exercício, dificultando uma mobilização realmente passiva, visto que os animais se movimentavam e realizavam em algumas situações, resistência contra o movimento.

## **5.8 - CONCLUSÃO**

Conclui-se com o presente estudo, que a imobilização prolongada gera inúmeras alterações no tecido muscular estriado esquelético, provocando lesões morfológicas e sequelas funcionais. E como forma de tratamento, a mobilização passiva e o ultrassom terapêutico de maneira isolada, foram eficazes na recuperação tecidual após a imobilização. Entretanto, o uso das terapias associadas potencializou a remobilização, com melhor recuperação tecidual, reorganização e redução do tecido conjuntivo, menor quantidade de células atroficas e indícios de lesão tecidual, provocadas pelo desuso muscular.

## **5.9 - AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus pelo tamanho aprendizado vivenciado através dessa pesquisa. À minha família, que sempre me apoiou nessa jornada. Aos professores envolvidos, que ensinaram com tanto zelo e carinho. Agradeço aos colegas de laboratório, sem vocês essa pesquisa não seria possível. À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, e à Capes, por incentivar a pesquisa científica. Meu imenso agradecimento a todos.

#### 4. REFERÊNCIAS DO ARTIGO

1. Powers SK, Howley, ET. Fisiologia do Exercício - Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho. Ed. Manole, 2009.
2. Kroger S, Watkins B. Muscle spindle function in healthy and diseased muscle. *Skeletal Muscle*. Edição 11, volume 3, 2021.
3. Plapler PG, Souza DR, Kaziyama HHS, Battistella LR, Barros FT. Relationship between the coronavirus disease 2019 pandemic and immobilization syndrome. *Clinics (Sao Paulo)*, 2021.
4. Estraneo, et al. Not only pulmonary rehabilitation for critically ill patients with COVID-19. *J Neurol* 268, 27–29, 2021.
5. Kunz, et al. Effects of immobilization and remobilization on the ankle joint in Wistar rats. *Brazilian journal of medical and biological research*, 2014.
6. Kaneguchi A, Ozawa J, Minamimoto K, Yamaoka K. Morphological and biomechanical adaptations of skeletal muscle in the recovery phase after immobilization in a rat. *Clin Biomech*, 2020.
7. Leite MA, et al. Periodontite Experimental na Potencialização dos Efeitos do Imobilismo no Músculo Estriado Esquelético. *Inflamação* 40, 2000-2011, 2017.
8. Minamoto VB. Classificação e adaptações das fibras musculares: uma revisão. *Fisioterapia E Pesquisa*, 12 (3), 2005.
9. Lima SC, Caierão QM, DuriganJLQ, SchwarzenbeckA. Silva CA, Minamoto VB. Curto período de imobilização provoca alterações morfométricas e mecânicas no músculo de rato. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, v. 11(4), 2007.
10. Matheus JPC, Gomide LB, Goulart J, Milani PO, Shimano AC. A imobilização gessada por um curto período de tempo pode influenciar nas propriedades biomecânicas do músculo esquelético? *Brazilian Journal of Biomotricity*, v. 1, p. 28-33, 2007.
11. Koukourikos K, Tsaloglidou A, Kourkouta L. Muscle atrophy in intensive care unit patients. *Acta Inform Med*, 2014.
12. Sluka KA, Wright A. Knee joint mobilization reduces secondary mechanical hyperalgesia induced by capsaicin injection into the ankle joint. *European Journal of Pain*, v.5, n.2, p. 81–87, 2001.
13. Ter Haar G. Therapeutic ultrasound. *Eur J Ultrasound*. 1999.
14. Matheus JPC, Oliveira FB, Gomide LB, Milani JGPO, Volpon JB, Shimano AC. Efeitos do ultrassom terapêutico nas propriedades mecânicas do músculo esquelético após contusão. *Rev Bras Fisioter*, 2008.

15. Neugebauer, et al. Techniques for assessing knee joint pain in arthritis. *Mol Pain*, v. 3, p. 8, 2007.
16. Bertelli JA, Mira JC. The grasping test: a simple behavioral method assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. *Journal Neurosci Methods*, 1995
17. Maitland GD, Banks K, English K, Hengeveld E. *Manipulação vertebral de Maitland*. 6. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003.
18. Junqueira LC, CARNEIRO LMM. *Técnicas básicas de citologia e histologia*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1983.
19. Lovison, et al. Resistance exercise recovery morphology and AQP1 expression in denervated soleus muscle of Wistar rats. *Resistance exercise recovery in denervated muscle*. 2018.
20. Bancroft JD, Steven A. *Theory and practice of histological techniques*. 3rd ed. Churchill Livingstone: Edinburg. 1990.
21. Zazula, et al. Morphological effects of whole-body vibration on remobilization of the tibialis anterior muscle of Wistar rats. *American Association for Anatomy*. 2020.
22. Zazula et al. Development of a histopathological index for skeletal muscle analysis in *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae). *Acta Histochemica*, 2022.
23. Hermans G, Van DBG. Clinical review: intensive care unit acquired weakness. *Crit Care*, 2015.
24. Wutzke MLS, et al. Evaluation of nociception induced by whole-body vibration remobilization in Wistar rats. *Brazilian Journal of Pain*, 2020.
25. Ota, et al. Responses of cutaneous C-fiber afferents and spinal microglia after hindlimb cast immobilization in rats. *J Physiol Sci* 71, 19, 2021.
26. Ashmawi HA, Freire GMG. Peripheral and central sensitization. *Rev Dor*. São Paulo, 17:S31-4, 2016.
27. Usuki F, Fujimura M, Nakamura A, Nakano J, Okita M, Higuchi. Local Vibration Stimuli Induce Mechanical Stress-Induced Factors and Facilitate Recovery from Immobilization-Induced Oxidative Myofiber Atrophy in Rats. *Front. Physiol*. 2019.
28. Oliveira LSN, Macedo MRA. Alterações musculoesqueléticas pós COVID-19: revisão bibliográfica. *Research, Society and Development*, 2022.
29. Marmonti, et al., A Rat Immobilization Model Based on Cage Volume Reduction: A Physiological Model for Bed Rest? *Front. Physiol*. 2017.

30. Edgerton VR, Roy RR, Allen DL, Monti RJ. Adaptations in skeletal muscle disuse or decreased-use atrophy. *American Journal of Physical Medicine Rehabilitation*, v. 81, n.11, p. S127- 47, 2002.
31. Kadi F, Johansson F, Johansson R, Sjostrom M, Henriksson L. Effects of one bout of endurance exercise on the expression of myogenin in human quadriceps muscle. *Histochemical cell biology*, 2004.
32. Honda, et al. Effect of belt electrode-skeletal muscle electrical stimulation on immobilization-induced muscle fibrosis. *Plosone*, 2021.
33. Mayer, et al. Consequências da imobilização articular do tornozelo: insights de uma análise morfométrica sobre tipificação de fibras, tecido conjuntivo intramuscular e fuso muscular em ratos. *Histochem Cell Biol* 156, 583–594, 2021.
34. Silva, et al. Mecanismos de regeneração muscular estimulados pela terapia por ultrassom. *Research, Society and Development*. 2021.
35. Artifon, et al. Efeitos do ultrassom terapêutico associado ao alongamento estático sobre parâmetros histomorfométricos longitudinais de sóleos imobilizados de ratos. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 2012.
36. Mattinello SAC. Efeitos morfológicos do retorno da sobrecarga após imobilização em alongamento de músculo esquelético de ratas. *Revista brasileira de fisioterapia*, v. 15, n.1, p. 73- 79, 2011.
37. Frimel TN, Kapadia F, Gaidosh GS, Li Y, Walter GA, Vandeborne K. A model of muscle atrophy using cast immobilization in mice. *Muscle & Nerve*, New York, 2005.
38. Kannus, et al. Free mobilization and low-to high-intensity exercise in immobilization-induced muscle atrophy. *Journal of applied physiology*. Washington, 1998.
39. Hibino I, Okita M, Inoue T, Banno Y, Hosono M. Effect of Immobilization on Collagen of Rat Soleus Muscle. *Journal of the Japanese Physical Therapy Association*, v.11, n.1-6, 2008.
40. Bertolini SMMG, Cararo DC, Oliveira PD. Estudo morfométrico do músculo sóleo de ratos da linhagem wistar pós-imobilização articular. *Acta Scientiarum Health Sciences*, Maringá, v.32, n.1, p.23-27, 2010.
41. Coutinho EL, Gomes ARS, França CN, Salvani TF. A new model for the immobilization of the rat hind limb. *Brazilian Journal of medical and biological research*. 2002.
42. Honda, et al. Relationship between extensibility and collagen expression in immobilized rat skeletal muscle. *Muscle Nerve*, 2018.

43. Honeycutt CF, Nardelli P, Timothy P, Richard N. Muscle spindle responses to horizontal support surface perturbation in the anesthetized cat: insights into the role of autogenic feedback in whole body postural control. *J Neurophysiol* 108: 1253–1261, 2012.
44. Williams PE, Goldspink G. Connective tissue changes in immobilised muscle. *Journal of anatomy, London*, v. 138, n.2, p. 343-50, 1983.
45. Kisner C, Colby LA. *Exercícios terapêuticos: fundamentos e técnicas*. 6.ed. Barueri: Manole, 2016.
46. Banks K, Hengeveld E. *Maitland guia clínico para fisioterapeutas: manipulação periférica e vertebral*. 10 ed. Revinter, Rio Janeiro, 2012.
47. Resende, et al, Estudo da confiabilidade da força aplicada durante a mobilização articular ântero-posterior do tornozelo. *Bras. Fisioterapia*. v.10. n.2, 2006.
48. Pfluegler G, Kasper J, Luedtke K. The immediate effects of passive joint mobilisation on local muscle function. A systematic review of the literature. *Musculoskelet Sci Pract*, 2020.
49. Freitas, et al, Effects of passive mobilization on acute hemodynamic responses in mechanically ventilated patients. *Rev Bras Ter Intensiva*. 24(1):72-78. 2012.
50. Vásquez B, Navarrete J, Farfán E, Cantín M. Effect of pulsed and continuous therapeutic ultrasound on healthy skeletal muscle in rats. *Int J Clin Exp Pathol*. 15;7(2):779-83, 2014.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dessa forma, o presente estudo evidencia que a imobilização articular gera inúmeras alterações no tecido, provocando lesões morfológicas e sequelas motoras. A remobilização livre com o passar do tempo, promove a recuperação parcial do tecido, embora, seja obscuro o tempo necessário para a recuperação total após o desuso.

Quanto as formas de tratamento, a mobilização passiva e o ultrassom terapêutico se mostraram eficaz na recuperação tecidual após a imobilização, sendo que o ultrassom promoveu uma melhora da circulação local. Em contrapartida, o grupo associação foi o grupo que melhor apresentou recuperação tecidual, obtendo uma reorganização e redução do tecido conjuntivo, menor quantidade de células atróficas e redução inflamatória.

Sendo assim, esse estudo indica que tanto a mobilização passiva, quanto o ultrassom terapêutico, de maneira isolada, podem auxiliar no processo de recuperação tecidual, entretanto, as duas técnicas associadas são mais eficazes em situações de desuso muscular.

## 6. REFERÊNCIAS GERAIS

- ARTIFON, E. L. *et al.* **Efeitos do ultrassom terapêutico associado ao alongamento estático sobre parâmetros histomorfométricos longitudinais de sóleos imobilizados de ratos.** Revista Brasileira de Medicina do Esporte, 2012.
- BANCROFT, J. D., STEVEN, A. **Theory and practice of histological techniques.** 3rd ed. Churchill Livingstone: Edinburg. 1990.
- BANKS K. & HENGEVELD, E. **Maitland guia clínico para fisioterapeutas: manipulação periférica e vertebral.** 10 ed. Revinter, Rio Janeiro, 2012.
- BERTELLI, J. A; MIRA, J. C. **The grasping test: a simple behavioral method assessment of peripheral nerve regeneration in the rat.** J Neurosci Methods, 1995.
- CAMPOS, G.E.R, *et al.* **Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: Specificity of repetition maximum training zones.** European Journal of Applied Physiology, 2002.
- CORDEIRO, C., *et al.* **O sentido das mobilizações articulares passivas dos membros com espasticidade - Perspectiva do Enfermeiro Especialista em Reabilitação.** Instituto Politécnico Saúde do Norte, 2007.
- COUTINHO, E. L. *et al.* **Effect of passive stretching on the immobilized soleus muscle fiber morphology.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, São Paulo, 2004.
- CRETOIU, D., *et al.* **M. Myofibers.** v. 1088, 2018.
- DURIGAN, J.L.Q, *et al.* **Efeitos da estimulação elétrica neuromuscular no músculo sóleo de ratos: análise morfométrica e metabólica.** Acta Ortopédica Brasileira, 2008.
- ERTBJERG, P.; PUOLANNE, E. **Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: A review.** Meat Science, 2017.
- ESTRANEO, *et al.* **Not only pulmonary rehabilitation for critically ill patients with COVID-19.** J Neurol **268**, 27–29 (2021).
- FORESTO, *et al.*, **Morphological and molecular aspects of immobilization-induced muscle atrophy in rats at different stages of postnatal development: the role of autophagy.** The American Physiological Society. 2016.
- FREITAS, *et al.*, **Effects of passive mobilization on acute hemodynamic responses in mechanically ventilated patients.** Rev Bras Ter Intensiva. 2012.

GAMA, C.E., GONÇALVES, G.B. & DAVID, R.F. **Efeito da quiropraxia sobre a dor e mobilidade de pacientes com espondiloartrose cervical.** Brazilian Journal of Health 2, 2019.

HAMILL, J e KNUTZEN, K M. **Bases biomecânicas do movimento humano.** São Paulo: Manole, 1999.

HUBER, A. *et al.* **Immobilization after injury alters extracellular matrix and stem cell fate.** The Journal of Clinical Investigation, 2020.

JIANG, X., *et al.* **A Review of Low-Intensity Pulsed Ultrasound for Therapeutic Applications.** Transactions on Biomedical Engineering IEEE, 2019.

JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, J. **Histologia básica.** 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

KANEGUCHI, A., OZAWA, J., MINAMIMOTO, K., YAMAOKA K. **Morphological and biomechanical adaptations of skeletal muscle in the recovery phase after immobilization in a rat.** Clin Biomech, 2020.

KINNEY, M. C.; *et al.* **Reduced skeletal muscle satellite cell number alters muscle morphology after chronic stretch but allows limited serial sarcomere addition.** Muscle and Nerve, 2017.

KISNER, C., COLBY, L.A. **Exercícios terapêuticos: fundamentos e técnicas.** 6.ed. Barueri: Manole, 2016.

KROGER, S., WATKINS, B. **Muscle spindle function in healthy and diseased muscle. Skeletal Muscle.** Edição 11, volume 3, 2021.

KUNZ, R.I, *et al.* **Effects of immobilization and remobilization on the ankle joint in Wistar rats.** Brazilian journal of medical and biological research, 2014.

LEDERMAN E. **Fundamentos da Terapia Manual.** 10 Edição, São Paulo: Manole, 2001.

LEHRER GM, ORNSTEIN L. **A diazo coupling method for the electron microscopic localization of cholinesterase.** J Biophys Biochem Cytol, 1959.

LOVISON, *et al.*, **Resistance exercise recovery morphology and AQP1 expression in denervated soleus muscle of Wistar rats.** Resistance exercise recovery in denervated muscle. 2018.

MATHEUS JPC, OLIVEIRA FB, GOMIDE LB, MILANI JGPO, VOLPON JB, SHIMANO AC. **Efeitos do ultra-som terapêutico nas propriedades mecânicas do músculo esquelético após contusão.** Rev Bras Fisioter, 2008.

MATHEUS, J. P. C.; GOMIDE, L. B.; GOULART, J.; MILANI, P. O.; SHIMANO, A. C. **A imobilização gessada por um curto período de tempo pode influenciar nas**

**propriedades biomecânicas do músculo esquelético?** Brazilian Journal of Biomechanics, 2007.

MENON, T., *et al.* **Influência do alongamento passivo em três repetições de 30 segundos a cada 48 horas em músculo sóleo imobilizado de ratos.** Revista Brasileira de Medicina do Esporte 13, 2007.

MOO, E. K.; HERZOG, W. **Single sarcomere contraction dynamics in a whole muscle.** Scientific Reports, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2018.

OLIVEIRA, L. S. N.; MACEDO, M. R. A. **Alterações musculoesqueléticas pós COVID-19: revisão bibliográfica.** Research, Society and Development, 2022.

PFLUEGLER, G., KASPER, J., LUEDTKE, K. **The immediate effects of passive joint mobilisation on local muscle function. A systematic review of the literature.** Musculoskelet Sci Pract, 2020.

PLAPLER, P.G., SOUZA D, R., KAZIYAMA H.H.S., BATTISTELLA L.R, BARROS, F.T. **Relationship between the coronavirus disease 2019 pandemic and immobilization syndrome.** Clinics (Sao Paulo), 2021.

POLIZELLO, J. C.; CARVALHO, L. C.; FREITAS, F. C.; PADULA, N.; MARTINEZ, E. Z.; MATTIELLO-SVERZUT, A. C. **Morphological effects of resumption of loading after immobilization of skeletal muscles in lengthened position in female rats.** Revista Brasileira de Fisioterapia, 2011.

POWERS, S.K.; HOWLEY, E.T. **Fisiologia do Exercício - Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho.** Ed. Manole, 2009.

QAISAR, R.; BHASKARAN, S.; VAN REMMEN, H. **Muscle fiber type diversification during exercise and regeneration.** Free Radical Biology and medicine, v. 98, p. 56– 67, 2016.

RASSIER, D. E. **Sarcomere mechanics in striated muscles: from molecules to sarcomeres to cells.** American Journal of Physiology - Cell Physiology, v. 313, n. 2, p. C134–C145, 2017.

RESENDE *et al.*, **Estudo da confiabilidade da força aplicada durante a mobilização articular anteroposterior do tornozelo.** Bras. Fisioterapia. v.10. n.2, 2006.

ROCHA LC, BARBOSA GK, PIMENTEL NETO J, JACOB CDS, KNUDSEN AB, WATANABE IS, CIENA AP. **INT J MOL SCI. Aquatic Training after Joint Immobilization in Rats Promotes Adaptations in Myotendinous Junctions.** 2021.

ROCHA, L. C. **Plasticidade tecidual dos sarcômeros e junção miotendínea de ratos submetidos à imobilização articular e remobilização aquática: análises histoquímica, ultra estrutural e morfométrica.** 2020.

SANTOS, A.P. DE A.M., ROCHA, D.A.F., ROCHA, S. DA C. & RODRIGUES, G.M. DE M. **Ação fisioterapêutica do ultrassom**. Revista liberum accessum 4, 1–14. 2019.

SILVA, A. N. G.; *et al.* **Mecanismos de regeneração muscular estimulados pela terapia por ultrassom**. Research, Society and Development, 2021.

SLUKA K. A. & WRIGHT, A. **Knee joint mobilization reduces secondary mechanical hyperalgesia induced by capsaicin injection into the ankle joint**. European Journal of Pain, v.5, n.2, p. 81–87, 2001.

SOL, L., *et al.* **Molecular and Metabolic Mechanism of Low-Intensity Pulsed Ultrasound Improving Muscle Atrophy in Hindlimb Unloading Rats**. International Journal of Molecular Sciences, 2021.

SUH, H.R, PARK, E.H., MOON, S.W., KIM, J.W., CHO, H.Y., HAN, H.C. **Apoptotic changes in a full-lengthened immobilization model of rat soleus muscle**. Muscle Nerve, 2019.

TAKEDA K, TAKESHIMA E, KOJIMA S, WATANABE M, MATSUZAKI T, HOSO M. **Daily and short-term application of joint movement for the prevention of infrapatellar fat pad atrophy due to immobilization**. J Phys Ther Sci. 2019.

TALBOT, J., MAVES, L. **Skeletal muscle fiber type: using insights from muscle developmental biology to dissect targets for susceptibility and resistance to muscle disease**. Wiley Interdiscip Rev Dev Biol, 2016.

TER HAAR G. **Therapeutic ultrasound**. Eur J Ultrasound. 1999.

WANG, *et al.* **The mechanisms and treatments of muscular pathological changes in immobilization-induced joint contracture: A literature review**. Chinese Journal of Traumatology 22, 2019.

WUTZKE, M.L.S., *et al.* **Evaluation of nociception induced by whole-body vibration remobilization in Wistar rats**. Brazilian Journal of Pain, 2020.

ZAZULA, M. F., *et al.* **Development of a histopathological index for skeletal muscle analysis in Rattus norvegicus (Rodentia: Muridae)**. Acta Histochemica, 2022.

ZAZULA, M. F., *et al.* **Morphological effects of whole-body vibration on remobilization of the tibialis anterior muscle of Wistar rats**. American Association for Anatomy. 2020.

## 8. ANEXO 1

**Autorização**

O Protocolo nº **09-21** intitulado "**Ultrassom associado a mobilização articular passiva no processo de remobilização articular: análises funcionais e morfológicas.**", sob a responsabilidade de **Gladson Ricardo Flor Bertolini** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata*, para fins de pesquisa científica encontra-se **Aprovado** para execução, está de acordo com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do UNIOESTE em reunião de 09/07/2021. Essa Autorização não substitui o Certificado Experimental de realização ética da pesquisa, necessitando do encaminhamento do Relatório Final de execução do Projeto para sua emissão.

FINALIDADE	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/09/2021 - 31/08/2022
Espécie/inhagem/raça	Rato heterogênico/Wistar
N. de animais	40
Peso/Idade	250 gramas/10 semanas
Sexo	Masculino
Origem	Biotério Central da Unioeste, Campus de Cascavel

Cascavel, 12/07/2021.

**Prof. Dra. Luciana Oliveira de Fariña**  
Coordenadora do CEUA  
Portaria nº 3126/2018-GRE

## 9. ANEXO 2

Revista: EINSTEIN (ISSN: 1679-4508 | e-ISSN: 2317-6385). Qualis Capes A4.

### Instructions for authors

The journal accepts original contributions in English only. After approval by the editors, all articles are referred to peer-review by at least two reviewers, who will remain anonymous throughout the entire review process. Reviewers' comments are sent to authors, so that they may revise their manuscript or give reasons for not altering it. After making corrections suggested by reviewers, the reviewed version of the article should be submitted to the **einstein** (São Paulo) through the journal's submission system. Articles are published only after the final acceptance by reviewers and editors. The authors of the articles published in the journal **einstein** (São Paulo) are the copyright owners of the article and grant any third party the right to use, reproduce or disseminate their article under the terms of the CC BY Creative Commons Attribution 4.0 license adopted by the journal.

The journal uses Turnitin plagiarism detection software to check the originality of articles. The cases of misconduct in publication will be assessed based on the criteria and recommendations of the Committee on Publication Ethics (COPE).

All contributions should follow the requirements below, which are based on the format proposed by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), published in the article Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals, available at <http://www.icmje.org/recommendations/browse/manuscript-preparation>.

### Technical requirements

The authors must submit the articles containing:

- Text typed in double-spaced 12-point Arial font, 2.5cm margin on each side, highlighting each section of the article.
- Authors' statement that the manuscript is not under consideration, and will not be submitted to publication, in another journal (available in the electronic submission system).
- Studies performed that require animal or human subjects ethical committee approval must include in the methods section the appropriate ethical committee approval number. For example, human subject studies performed in Brazil must include the CAAE number.
- Conflict of interest disclosure statement from each author.

### Preparing a manuscript

**Title**

Title of the article, in English, which should be concise but informative.

**Abstract**

Abstract, in English, limited to **250 words**. For original articles, abstracts should be structured (Objective, Methods, Results, Conclusion), describes the main parts of the work and highlights the most relevant data. For articles of other sections, the abstract should not be structured.

**Keywords**

Provide at least 5 and no more than 10 keywords, in English reflecting the content of the paper. Keywords must be based on the Medical Subject Headings (MeSH) of the National Library of Medicine, and available at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/>

**Registry in Clinical Trials Database**

Indicate, for Clinical Trials, the registry number in the clinical trials database (<https://clinicaltrials.gov>). \*

\* Important note: in support of the policies on registry of clinical trials of the World Health Organization (WHO) and ICMJE, the journal **einstein** (São Paulo) understands the relevance of these initiatives for registration and international dissemination of information on clinical studies. The journal only accepts for publication the clinical research articles that have received an identification number in one of the Clinical Trials Registries validated by the criteria established by the WHO and the ICMJE, available at <https://clinicaltrials.gov> or at the website [PubMed](#), in the item [<clinicaltrials.gov>](https://clinicaltrials.gov). The identification number should be shown at the end of the abstract.

**Text**

Text must comply with the structure required for each category of article. Citations of authors in the text must be numbered sequentially, by superscript Arabic numerals in parentheses. The complete definition of abbreviations and acronyms should write before their first use in the text. Do not use abbreviations or acronyms in title and abstract. In table and figure legends, the abbreviations must be followed by the full term.

## **Acknowledgements**

This describes collaboration by individuals that deserve acknowledging but do not qualify for authorship. This section should also be used to provide information about financial and/or technical support, etc.

## **References**

They must be numbered consecutively in the same order they appear in the text, and identified by Arabic numerals. References follow the “Vancouver Style”, and the titles of journals should be abbreviated according to the style presented by the List of Journals Indexed in Index Medicus, of the National Library of Medicine, available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>. For any references, mention up to six authors. In case of more than six authors, mention the first six, followed by et al., as shown in the following examples:

### **Articles from electronic journals**

Moniz MH, Low LK, Stout MJ. Intensive nurse home visiting program and adverse birth outcomes. JAMA. 2022;328(1):23-4.

Oliveira MM, Andrade KF, Lima GH, Rocha TC. Metformin versus glyburide in treatment and control of gestational diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis. *einstein* (São Paulo). 2022;20: eRW6155.

### **Books**

Ritchie S. Science fictions: how fraud, bias, negligence, and hype undermine the search for truth. New York: Metropolitan Books; 2020.

### **Chapters of books**

Josephson CD, Strauss RG. Plasma transfusions. In: Behrman RE, Editor. Nelson textbook of pediatrics. 21st ed. Philadelphia (PA): Elsevier; c2020. p.2585-6.

### **Works presented in conferences**

Rivarola E, Dimuro CA, Scandolo MC, Quintero Florez A. Design of gourmet menus high in fiber for diabetic patients of the French sanatorium: evaluation of the nutritional content, acceptability, organoleptic characteristics and glycemic control. Clinical Nutrition ESPEN. 2021;46: S690. [ESPEN 2021 Virtual Congress; 2021 Sep 9-14].

### **Thesis**

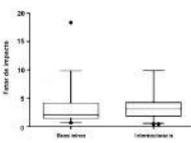
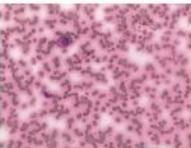
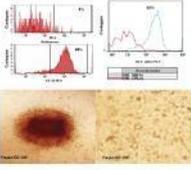
Pinheiro LL. Avaliação da aorta torácica de brasileiros tabagistas por tomografia de tórax de baixa dose: diâmetros e prevalência de aneurismas [tese]. São Paulo: Faculdade Israelita de Ciências da Saúde Albert Einstein; 2021.

## Tables

All tables (**≤ 4 tables**) should contain the title and heading for columns and must be mentioned in the text. They should be numbered sequentially by Arabic numerals, in the order they appear in the text. Table footnotes should have a definition for abbreviations and statistical tests used.

## Figures

Any figure (images, graphs, photographs and illustrations) should be mentioned in the text and submitted in greater than or equal to intended display size. **The journal accepts no more than four figures per article.** They should be numbered sequentially by Arabic numerals; in the order they appear in the text. If the figures have already been published, a written permission for reproduction must be provided by the author/editor, and legends should include the source of publication. When saved in digital files, the resolution should comply with the following instructions:

Image Type	Description	Example	Recommended Format	Color mode	Resolution
Line art	An image composed of lines and text, which contains no tonal or shaded areas.		tif or eps	Monochrome 1 bit or RGB	900 to 1,200 dpi
Halftone	A continuous tone photograph containing no text		tif	RGB or Grayscale	300 dpi
Combo	Image contains halftone plus text or line art elements.		tif or eps	RGB or Grayscale	500 to 900 dpi

Example of line art extracted from:

Loureiro LV, Callegaro Filho D, Rocha Ade A, Prado BL, Mutão TS, Donnarumma Cdel C, et al. Is there publication bias towards Brazilian articles on cancer. *einstein* (São Paulo). 2013;11(1):15-22;

Example of halftone extracted from:

Pavon LF, Marti LC, Sibov TT, Miyaki LA, Malheiros SM, Mamani JB, et al. Isolation, cultivation and characterization of CD133+ stem cells from human glioblastoma. *einstein* (São Paulo). 2012;10(2):197-202;

Example of combo extracted from:

Souza CL, Perini GF, Hamerschlak N, Silveira PA. Plasma cell leukemia. *einstein* (São Paulo). 2013;11(1):132.

Source: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/pub/filespec-images/#fig-format>