

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO MÚSCULO SÓLEO DE RATOS DA LINHAGEM WISTAR EM DIFERENTES PERÍODOS PÓS-IMOBILIZAÇÃO

Priscila Daniele de Oliveira¹; Deisy Carla Cararo¹; Sonia Maria Marques Gomes Bertolini²

RESUMO: Este estudo teve como objetivo analisar o efeito da imobilização articular do músculo sóleo do membro posterior de ratos no perfil morfométrico, em períodos de 7 e 14 dias. Foram utilizados 10 *Rattus navegicus albinus* machos, variedade *Wistar*, que foram divididos em dois grupos com 5 animais cada, sendo o primeiro grupo submetido à imobilização por 7 dias e o segundo por 14 dias. O controle do experimento foi obtido a partir do membro contralateral direito do respectivo animal. A imobilização do membro posterior esquerdo foi por meio de uma órtese adaptada. A análise morfométrica do sóleo foi realizada através de cortes transversais não seriados de 5µm de espessura. Foi analisada, por meio das imagens obtidas, a área das fibras musculares, juntamente com a densidade do tecido conjuntivo, comparando-as ao grupo controle referentes à perna contralateral. Com 7 e 14 dias de imobilização, pode-se observar redução significativa ($p < 0,05$) na área das fibras musculares, associada a um aumento dos espaços intersticiais, principalmente ao redor dos fascículos musculares. Isto sugere uma ampliação na densidade do tecido conjuntivo e uma hipotrofia muscular. Com isso, conclui-se que a imobilização, mesmo que por curto período de tempo, pode alterar a integridade da musculatura esquelética, com importantes implicações funcionais.

PALAVRAS-CHAVE: Atrofia muscular; Imobilização; Músculo sóleo.

1 INTRODUÇÃO

A hipotrofia pode ser definida como uma conseqüência da subtração na síntese protéica muscular e/ou desenvolvimento da sua, além da diminuição da disponibilidade de substratos energéticos (GLASS, 2003).

De acordo com Kasper (2002) as fibras do tipo I têm menor adaptação em relação às fibras do tipo II, sendo, por conseguinte, mais afetadas. Possibilitando assim, postular que o músculo sóleo, por ser constituído predominantemente por fibras tônicas, sofre considerável comprometimento frente à restrição de mobilidade (TANAKA, KARIYA E HOSHINO, 2004).

No âmbito experimental, diversos estudos foram direcionados aos numerosos períodos de inatividade muscular, demonstrando que, apenas uma semana, é suficiente para promover importantes adaptações de sarcômero e alterações na morfometria e mecânica dos músculos sóleo e gastrocnêmio de ratos (LIMA et al, 2007). Enquanto que, outros trabalhos enfatizam 14 dias, alcançando nestes, até 23% de redução (BODINE, 2001).

Desta forma, tendo em vista que a imobilização ainda é uma opção de tratamento freqüentemente usada, que propicia efeitos deletérios indesejáveis às células musculares

¹ Acadêmicos do Curso Fisioterapia do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – PR. Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PROBIC-CESUMAR). prisciladanielefisio@hotmail.com; deisycarla@yahoo.com.br.

² Orientadora e docente do Curso de Fisioterapia do Centro Universitário de Maringá – Cesumar, Maringá – Paraná. smmgbertolini@cesumar.br.

(SAKAKIMA, 2004) influenciando diretamente no diagnóstico, tratamento e prevenção de lesões esportivas e ortopédicas (LIMA, 2007), esta pesquisa justifica-se.

Neste contexto, este estudo tem como objetivo verificar os efeitos da imobilização articular do músculo sóleo do membro posterior de ratos por meio de uma análise histomorfométrica em períodos de 7 e 14 dias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo caracteriza-se como experimental e foi aprovado pelo Comitê de Bioética Animal do Cesumar (COBAC), conforme o registro nº 015/2007. Foram utilizados 10 *Rattus navegicus albinus* machos, variedade Wistar (3 a 4 meses, massa corpórea entre 250-300g). Estes foram divididos em dois grupos (grupos I e II), com 5 animais cada, sendo o primeiro grupo submetido à imobilização por 7 dias e o segundo por 14 dias. O controle do experimento foi obtido através do membro contralateral direito do respectivo animal.

Os animais permaneceram no biotério do Centro Universitário de Maringá (CESUMAR) com ambiente climatizado e controlado a ciclos foto periódicos de 12h claro/escuro e água e ração ad libitum.

Os animais foram anestesiados com uma associação anestésica associada de Ketamina (50 mg/Kg -1) e cloridrato de Xilazina (10 mg/Kg -1), com o volume de 0,1 mL para cada 100 gramas de peso para a efetivação da imobilização do membro posterior esquerdo. Esta, por meio de uma órtese de alumínio moldada ao segmento a ser imobilizado em extensão e flexão dorsal do tornozelo a 90°.

Após o período experimental, os animais foram sacrificados, conforme as fases de imobilização, com dosagem letal de Tiopental Sódico 45mg/kg de peso (1g) diluído em água (22ml), por via intraperitoneal. Em seguida, ocorreu a dissecação do músculo sóleo para a verificação histológica.

Para a análise morfométrica foi retirado do sóleo um segmento de 1cm², que foi fixado em solução tamponada de formol a 10% e o material passou por um processo de banho em parafina, obtendo-se vários cortes transversais não seriados de 5 µm de espessura, os quais foram corados pela Hematoxilina-Eosina (HE) e fixados com resina Permont. Após a preparação das lâminas, a observação foi auxiliada pelo microscópio óptico Olympus BX40 e fotografadas em fotomicroscópio BX50, com equipamento fotográfico PM10AK.

A área das fibras musculares juntamente com a densidade do tecido conjuntivo, relacionando ao grupo controle referente à perna contralateral foram analisadas através do software Image Pro Plus 4.5 com objetiva de 10X. A análise estatística foi obtida por meio dos testes T de Student através do Software Microsoft Excel.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da análise histológica e morfométrica, foi possível verificar diferenças consideráveis entre os membros imobilizados e autocontroles dos animais submetidos ao experimento.

Com 7 e 14 dias de imobilização, pode-se observar redução significativa ($p=0,04$ e $0,0002$, respectivamente) na área das fibras musculares associada a um aumento dos espaços intersticiais ($p=0,02$ e $0,004$, respectivamente), principalmente ao redor dos fascículos musculares (Figuras 1 e 2 e Tabelas 1 e 2, respectivamente). Sugerindo, assim, uma ampliação na densidade do tecido conjuntivo e uma hipotrofia muscular.

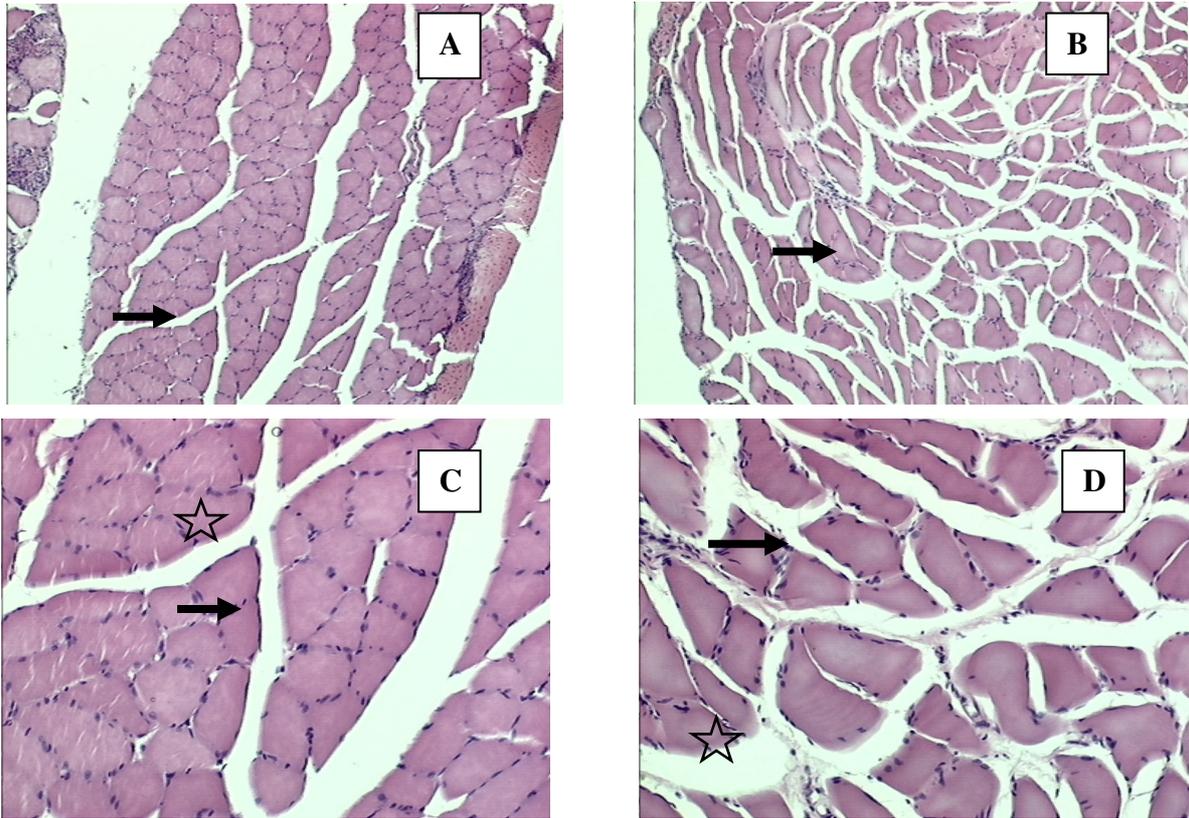


Figura 1 - Fotomicrografia de uma secção transversal de 1 cm² do músculo sóleo. A (controle) e B (experimental): 7 dias. H. E. 4X. C (controle) e D (experimental): 7 dias. H.E. 125X.

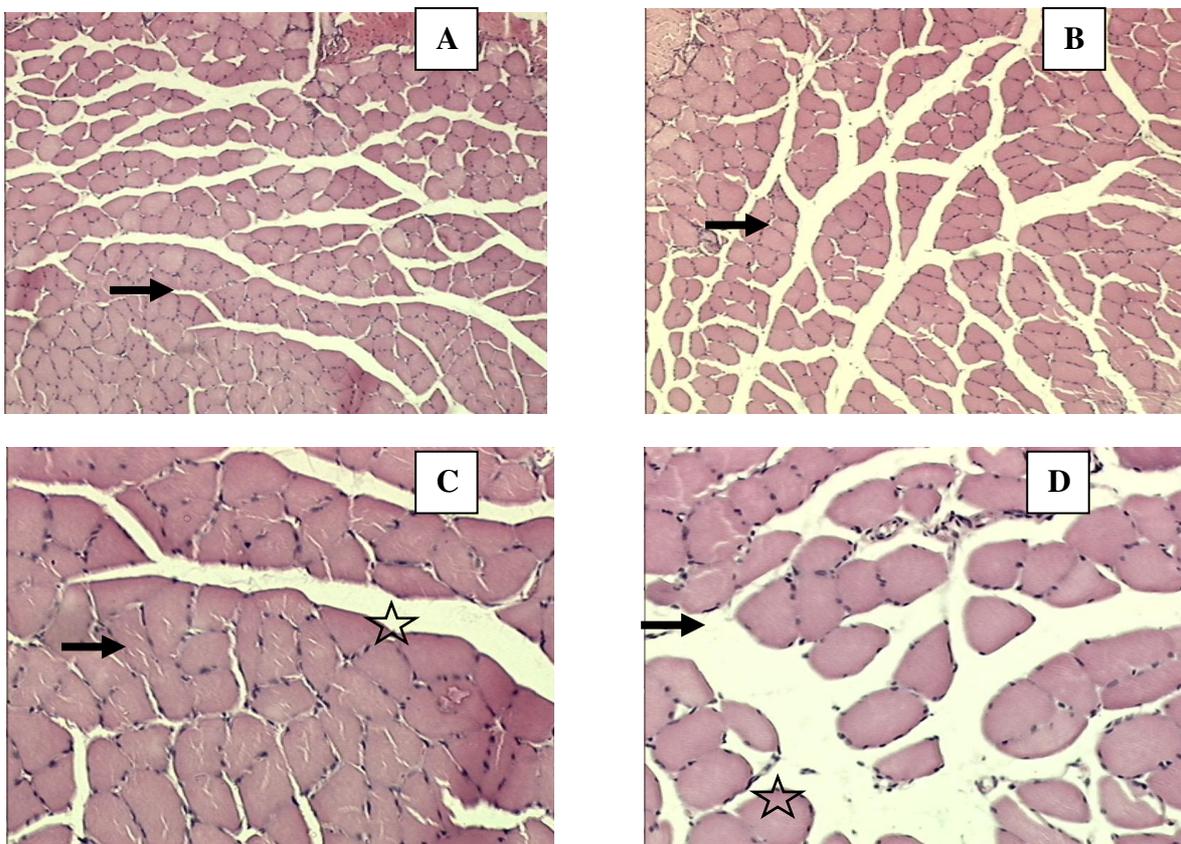


Figura 2 - Fotomicrografia de uma secção transversal de 1 cm² do músculo sóleo. A (controle) e B (experimental): 14 dias. H. E. 4X. C (controle), D (experimental): 14 dias. H.E. 125X.

Tabela 1 - Média, desvio padrão e Coeficiente de variação (CV) da área das fibras (μm^2) do músculo sóleo nos grupos controle e experimental.

Medidas	7 dias		14 dias	
	C	E	C	E
Média	3290,86	2430,453	2.457,4	1.497,6
Desvio Padrão	607,4326	1208,44	727,5934	301,4373
CV (%)	36,7	25,0	29,7	20,1

Tabela 2 - Média, desvio padrão e Coeficiente de variação (CV) da distância entre as fibras (μm) do músculo sóleo nos grupos controle e experimental.

Medidas	7 dias		14 dias	
	C	E	C	E
Média	1.701	3.790	1.401	4.497
Desvio Padrão	1.039	1.393	341	1776,1
CV (%)	61,1	36,8	24,3	39,5

Os resultados obtidos demonstraram que, em ambos os grupos de 7 e 14 dias, houve perda na área das fibras e aumento de espaço entre os feixes musculares. Em nossa pesquisa, as diferenças mais evidentes entre os membros (controle e experimental) foram notadas na segunda semana de imobilização.

Paralelamente, Bodine (2001) descreveu que a atrofia muscular no período de 14 dias mostrou uma redução de 45% do peso muscular nos músculos imobilizados, indicando possível decréscimo na área da fibra muscular. No entanto, as correlações entre os membros experimentais e autocontroles mostraram-se mais discretas, apesar de presentes.

Nesse sentido, a atrofia muscular é o resultado da diminuição da síntese protéica e aumento na degradação de proteínas, com conseqüente restrição do seu conteúdo (WINESKI, 2002). Os resultados obtidos no presente estudo reforçam os achados da literatura, em que o desuso muscular causa progressiva redução da força, associado ao decréscimo na área de secção transversa das fibras musculares (THOMPSON et al., 1994).

4 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a imobilização, mesmo por curto período de tempo pode alterar a integridade da musculatura esquelética com importantes implicações funcionais.

REFERÊNCIAS

- BODINE, S. C. et al. Identification of Ubiquitin Ligases Required for Skeletal Muscle Atrophy. **Science**, v. 23, p. 1704-1708, 2001.
- GLASS, D. J. Signaling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. **Nature cell biology**, v. 5, p. 87-90, 2003.
- KASPER, C. E.; TALBOT, L.A.; GAINES, J.M.; Skeletal muscle damage and recovery. **AACN Clin Issues**, v.13, n.2, p. 237-47, 2002.

LIEBER, R. L. **Skeletal muscle structure, function, and plasticity, the physiological basis of rehabilitation**. 2ed. Philadelphia: Lippincott, 2002, p. 66-71.

LIMA, S. C. et al. Short-term immobilization causes morphometric and mechanical alterations on rat muscles. **Rev. bras. fisioter.**, v.11, n.4, p. 297-302, 2007.

MILLIS, D. L. Responses of musculoskeletal tissues to disuse and remobilization. In: MILLIS, D.L.; LEVINE, D.; TAYLOR, R.A. (Eds). **Ph. therapy**. Missouri: Elsevier, 2004, p.113-159.

SAKAKIMA, H. Effects of immobilization on rat soleous muscle and ankle joint movement. **J Phys Ther Sci.**, v. 16, p. 43-48, 2004.

TANAKA, T.; KARIYA, Y.; HOSHINO, Y. Histochemical study the effects of aging on recovery from muscular atrophy caused by disuse in rats. **J Orthop Sci.** v.9, p.76-85, 2004.

THOMPSON, C. Experimental muscular atrophy. **J Bone Joint Surg Am**, p. 564-571, 1994.

WINESKI, L. E. Et al. Muscle-specific effects of hindlimb suspension and clenbuterol in mature, male rats. **Cells Tissues Organs**, v. 171, 188-198, 2002.