

**ALGUMAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DO MÚSCULO  
GASTROCNÊMIO DE RATAS SUBMETIDAS A UM MODELO DE  
HIPOATIVIDADE E TRATADAS COM EXERCITAÇÃO**

**MARCOS ANTÔNIO PARREIRA LARA**

Dissertação apresentada ao programa de pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia – Escola de Engenharia de São Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Bioengenharia.

**ORIENTADOR: Prof. Dr. José B. Volpon**

Ribeirão Preto

2003

# SUMÁRIO<sup>1</sup>

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>I</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>IV</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>V</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VII</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 O tecido muscular</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Atrofia muscular</b> .....	<b>4</b>
<i>1.2.1 Atrofia induzida por microgravidade</i> .....	<i>6</i>
<b>1.3 Ensaio Mecânico</b> .....	<b>12</b>
<i>1.3.1 Ensaio de tração</i> .....	<i>13</i>
<i>1.3.2 Reabilitação</i> .....	<i>14</i>
<b>1.4 Justificativa do estudo</b> .....	<b>14</b>
<b>1.5 Objetivos</b> .....	<b>16</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	<b>17</b>
<b>2.1 Animais</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2 Agrupamento</b> .....	<b>18</b>
<b>2.3 Características dos grupos</b> .....	<b>19</b>
<i>2.3.1 Grupo controle</i> .....	<i>19</i>
<i>2.3.2 Grupo 7 dias de suspensão</i> .....	<i>19</i>
<i>2.3.3 Grupo 14 dias de suspensão</i> .....	<i>20</i>
<i>2.3.4 Grupo 21 dias de suspensão</i> .....	<i>20</i>
<i>2.3.5 Grupo 7 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação</i> ....	<i>20</i>
<i>2.3.6 Grupo 14 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação</i> ..	<i>20</i>
<i>2.3.7 Grupo 21 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação</i> ..	<i>21</i>
<b>2.4 Técnica de suspensão</b> .....	<b>21</b>

---

<sup>1</sup> Normas de acordo com as diretrizes para elaboração de dissertações e teses na EESC-USP, 2ª ed.

2.5	Técnica de exercitação .....	24
2.6	Coleta de material .....	26
2.7	Ensaio mecânico de tração .....	26
2.7.1	<i>Propriedades mecânicas</i> .....	28
2.7.1.1	<i>Limite de proporcionalidade (LP)</i> .....	29
2.7.1.2	<i>Limite máximo (LM)</i> .....	29
2.7.1.3	<i>Rigidez (R)</i> .....	29
2.8	Análise Estatística .....	29
3	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>31</b>
3.1	<b>ANIMAIS</b> .....	<b>31</b>
3.2	<b>PROPRIEDADES MECÂNICAS</b> .....	<b>34</b>
3.2.1	<i>Ensaio mecânico:</i> .....	<i>34</i>
3.2.2	<i>Limite de proporcionalidade</i> .....	<i>45</i>
3.2.2.1	<i>Carga no limite de proporcionalidade</i> .....	<i>45</i>
3.2.2.2	<i>Deformação no limite de proporcionalidade</i> .....	<i>48</i>
3.2.3	<i>Limite máximo</i> .....	<i>51</i>
3.2.3.1	<i>Carga no limite máximo</i> .....	<i>51</i>
3.2.3.2	<i>Deformação no limite máximo</i> .....	<i>54</i>
3.2.4	<i>Rigidez</i> .....	<i>55</i>
4	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>58</b>
5	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>70</b>
6	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>71</b>
7	<b>ANEXOS</b> .....	<b>82</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Gaiola para suspensão de rato pela cauda, constituída de duas partes. A inferior, em acrílico serve de base para acoplamento da superior, em metal raiado. ....	21
FIGURA 2 – Rato em suspensão pela cauda, mostrando os componentes da gaiola.....	22
FIGURA 3 – Materiais usados para fixação da cauda do rato em suspensão. Tintura de Benjoin (A). Espuma adesiva (B). Codornê (C). Presilha (D). Fita de brim (E). Faixa elástica adesiva (F).....	23
FIGURA 4 – Passos técnicos para a fixação da cauda do animal. Colocação da espuma adesiva envolvendo a cauda do rato (A). Enfaixamento com faixa elástica adesiva sobre uma fita de brim, formando uma alça no final (B). Colocação da presilha para acoplamento no eixo de suspensão após amputação da extremidade distal da cauda (C). ....	24
FIGURA 5 – Esquema ilustrativo do tanque com o aquecedor e o cano de drenagem da água. ....	25
FIGURA 6 – Desenho esquemático mostrando detalhes anatômicos do músculo gastrocnêmio do rato ( <i>in <a href="http://www.nsbri.org/humanphysiologyspace/focus5/references.html">http://www.nsbri.org/humanphysiologyspace/focus5/references.html</a></i> ).....	26
FIGURA 7 – Detalhe do músculo gastrocnêmio sendo submetido ao ensaio de tração em uma fase inicial (I) e final (II), ilustrando o acessório para fixação do fêmur (A) e do acessório para fixação do calcâneo (B). Notar o posicionamento do músculo perpendicularmente às inserções e o alongamento sofrido pelo músculo após o ensaio.	27
FIGURA 8 – Gráfico carga $x$ deformação ilustrando os pontos de obtenção das propriedades mecânicas com o ensaio de tração. $D_{máx}$ = deformação máxima; LM = limite máximo; $D_{prop.}$ = deformação proporcional; LP = limite de proporcionalidade; $C_{prop.}$ = carga proporcional; $C_{máx}$ = carga máxima; $\theta$ = ângulo de inclinação da reta .	28
FIGURA 9 - Valores dos pesos dos animais controle e ao início ( I ) e final ( F ) de 7, 14 e 21 dias de suspensão. ....	32
FIGURA 10 - Valores dos pesos dos animais controle e ao início ( I ) e final ( S ) de 7, 14 e 21 dias de suspensão, seguidos de 30 dias de natação (N). ....	33
FIGURA 11 - Curvas Carga $x$ Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 12 animais-controle.....	34
FIGURA 12 - Médias $\pm$ EP das curvas Carga $x$ Deformação dos músculos gastrocnêmios dos 12 animais controle. ....	35
FIGURA 13 - Curvas Carga $x$ Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 11 animais suspensos por 7 dias ....	36
FIGURA 14 - Médias $\pm$ EP das curvas Carga $x$ Deformação dos músculos gastrocnêmios dos animais suspensos por 7 dias. ....	36
FIGURA 15 - Curvas Carga $x$ Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 14 animais suspensos por 14 dias ....	37
FIGURA 16 - Médias $\pm$ EP das curvas Carga $x$ Deformação dos músculos gastrocnêmios dos animais suspensos por 14 dias. ....	37

---

FIGURA 17 - Curvas Carga $\times$ Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 12 animais suspensos por 21 dias. ....	38
FIGURA 18 - Médias $\pm$ EP das curvas Carga $\times$ Deformação dos músculos gastrocnêmios dos animais suspensos por 21 dias. ....	38
FIGURA 19 - Curvas Carga $\times$ Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 13 animais suspensos por 7 dias, e seguidos de 30 dias de natação. ....	39
FIGURA 20 Médias $\pm$ EP das curvas Carga $\times$ Deformação dos músculos gastrocnêmios dos animais suspensos por 7 dias, e seguidos de 30 dias de natação. ....	39
FIGURA 21 - Curvas Carga $\times$ Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 15 animais suspensos por 14 dias, e seguidos de 30 dias de natação. ....	40
FIGURA 22 - Médias $\pm$ EP das curvas Carga $\times$ Deformação dos músculos gastrocnêmios dos 15 animais suspensos por 14 dias, e seguidos de 30 dias de natação. ....	40
FIGURA 23 Curvas Carga $\times$ Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 14 animais suspensos por 21 dias, e seguidos de 30 dias de natação. ....	41
FIGURA 24 - Médias $\pm$ EP das curvas Carga $\times$ Deformação do músculo gastrocnêmio dos animais suspensos por 21 dias, seguidos de 30 dias de natação. ....	41
FIGURA 25 - Comportamento (média $\pm$ EP) dos músculos gastrocnêmio dos animais controle (C) e dos suspensos pelos períodos de 7 (7d), 14 (14d) e 21 dias (21d).....	42
FIGURA 26 - Comportamento (média $\pm$ EP) dos músculos gastrocnêmio dos animais controle (C) e dos suspensos pelos períodos de 7 (7d), 14 (14d) e 21 dias (21d) seguidos de 30 dias de natação. ....	42
FIGURA 27 - Comparação dos ensaios mecânicos (média+ EP) dos músculos gastrocnêmios de animais controles (C), suspensos por 7 dias (7d) e suspensos por 7 dias seguidos de natação (7d+N). ....	43
FIGURA 28 - Comparação dos ensaios mecânicos (média+ EP) dos músculos gastrocnêmios de animais controles (C), suspensos por 14 dias (S14) e suspensos por 14 dias seguidos de natação (S14+N) .....	43
FIGURA 29 - Comparação dos ensaios mecânicos (média+ EP) dos músculos gastrocnêmios de animais controles (C), suspensos por 21 dias (21d) e suspensos por 21 dias seguidos de natação (21d+N) .....	44
FIGURA 30 - Carga no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e submetidas a 7, 14 e 21 dias de suspensão.....	46
FIGURA 31 - Carga no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e ratas submetidas à suspensão por 7 dias seguidos ou não de natação.....	47
FIGURA 32 - Carga no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e ratas submetidas à suspensão por 14 dias seguidos ou não de natação.....	47
FIGURA 33 - Carga no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e ratas submetidas à suspensão por 21 dias seguidos ou não de natação.....	48
FIGURA 34 - Deformação no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a diferentes períodos de suspensão. (Não há diferença estatística quando cada grupo é comparado com o controle). ....	48
FIGURA 35 - Deformação no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e ratas submetidas à suspensão por 7 dias seguidos ou não de natação. ...	49
FIGURA 36 - Deformação no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e ratas submetidas à suspensão por 14 dias seguidos ou não de natação. .	49

---

FIGURA 37 - Deformação no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e ratas submetidas à suspensão por 21 dias seguidos ou não de natação. .	50
FIGURA 38 Carga no limite máximo de músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a diferentes períodos de suspensão, em relação ao controle.....	52
FIGURA 39 - Carga no limite máximo do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas à suspensão por 7 dias seguidos ou não de natação. ....	52
FIGURA 40 - Carga no limite máximo do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a suspensão por 14 dias seguidos ou não de natação. ....	53
FIGURA 41 - Carga no limite máximo do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a suspensão por 21 dias seguidos ou não de natação. ....	53
FIGURA 42 - Deformação no limite máximo do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a diferentes períodos de suspensão. ....	54
FIGURA 43 - Rigidez do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas à suspensão por 7 dias seguidos ou não de natação.....	56
FIGURA 44 - Rigidez do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas à suspensão por 14 dias seguidos ou não de natação. ....	56
FIGURA 45 - Rigidez do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas à suspensão por 21 dias seguidos ou não de natação. ....	57

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Número de animais e peso (média $\pm$ desvio padrão) antes e após os respectivos tratamentos.....	31
Tabela 2 - Valores médios $\pm$ desvio padrão de carga e deformação no limite de proporcionalidade segundo o agrupamento .....	45
Tabela 3 - Valores médios $\pm$ desvio padrão de carga e deformação no limite máximo segundo o tratamento dos animais .....	51
Tabela 4 - Valores médios $\pm$ desvio padrão de rigidez segundo o tratamento dos animais .	55

## RESUMO

Existe grande necessidade de informações sobre a consequência da diminuição de carga nos músculos esqueléticos, de modo a se definirem programas adequados de prevenção da atrofia decorrente da inatividade, assim como de programas visando à recuperação das lesões já estabelecidas.

No presente estudo avaliamos o impacto de períodos de 7, 14 e 21 dias de retirada de carga do membro posterior por meio da suspensão, nas características mecânicas do músculo gastrocnêmico em ratas e a possibilidade de recuperação desse músculo após 30 dias de natação.

Por meio de ensaio de tração traçou-se a curva de carga  $\times$  deformação do músculo gastrocnêmio, de onde foram obtidos os valores da carga e deformação no limite da proporcionalidade, carga e deformação máximas e rigidez.

A carga no limite da proporcionalidade foi menor nos animais suspensos por 7 e 21 dias e a carga no limite máximo foi menor aos 7 dias quando comparado com o controle. A deformação, em ambas situações, e a rigidez foram semelhantes ao controle.

A carga no limite de proporcionalidade aumentou após a natação para todos os períodos de suspensão, atingindo significância estatística para os grupos de 7 e 21 dias. A deformação no limite da proporcionalidade assim como a carga no limite máximo de deformação, foram significativamente diferentes nos animais submetidos a natação quando comparados com os suspensos pelo mesmo período. A deformação no limite máximo não



apresentou diferença entre os grupos, mas a rigidez foi maior para todos os grupos de animais submetidos à natação.

Como conclusão verificamos que o sistema de suspensão pela cauda foi bem tolerado pelos animais e promoveu enfraquecimento significativo do músculo estudado. O exercício a que as ratas foram submetidas foi capaz de reverter as alterações causadas pela hipoatividade.

## ABSTRACT

Information is needed on the effect of lack of weight on skeletal muscle, and adequate programs should be defined for the prevention of atrophy due to absence of weight, as well as programs aiming at the recovery of lesions already established.

In the present study we evaluated the impact of periods of 7, 14 and 21 days of load removal from the hind limb by means of suspension on the mechanical characteristics of the gastrocnemius muscle of female rats and the possibility of muscle recovery after 30 days of swimming.

A traction assay was used to construct the load  $x$  deformation curve from which load and deformation values at the elastic limit, as well as the ultimate load and deformation and stiffness values were obtained.

Load at the yield limit was lower for animals submitted to limb suspension during 7 and 21 days and load at the ultimate limit was lower at 7 days compared to control. Deformation and rigidity were similar to control in both situations.

Load at the yield limit increased after swimming after all periods of suspension, and reached statistical significance for the 7 and 21 day groups. Deformation at the yield limit and load at the ultimate limit were significantly different in the animals submitted to swimming compared to those submitted to suspension for the same periods of time. Deformation at the ultimate limit did not differ between groups, but stiffness was greater for all groups of animals submitted to swimming.

We concluded that the tail suspension model was well tolerated and promoted significant weakness of the muscle.

The exercise was able to revert the alterations caused by hypoactivity.

## **1 INTRODUÇÃO**

O movimento é uma característica fundamental do ser humano, sendo o músculo esquelético, dentre os tecidos, o mais plástico, portanto, mutável e respondendo a estímulos normais e patológicos. Cerca de 50% do peso do corpo humano é composto de músculos e, em um período de 7 a 14 dias, metade das proteínas das células dos músculos são renovadas (ROSE e ROTHSTEIN, 1982).

A função muscular depende da inervação motora, da mobilidade articular e da carga mecânica que lhe é imposta. Se um desses fatores é modificado para mais ou para menos, o músculo, por sua enorme plasticidade, termina por se adaptar.

### **1.1 O tecido muscular**

O músculo é uma estrutura motora cuja função é baseada na propriedade de encurtar-se e alongar-se produzindo, assim, uma força que pode produzir movimento articular ou estabilização articular. É o elemento motor do corpo humano, acionando voluntária ou involuntariamente os segmentos corpóreos.

O músculo está contido numa bainha de tecido fibroso, conhecida por fáscia ou epimísio. Dela partem septos conjuntivos (perimísio) que, penetrando na substância do músculo, o dividem em pequenos feixes de fibras. Cada feixe consiste em um conjunto de outras fibras que são as unidades funcionais do músculo. A fibra também divide-se em fibrilas.

Cada fibra tem sua própria bainha elástica, que é conhecida por sarcolema, que permite seu alongamento e encurtamento. Dentro do sarcolema encontram-se numerosos núcleos que pertencem à fibra muscular e existem proteínas contrácteis dentro das fibras musculares arranjadas em unidades paralelas, miofibrilas, que são ativadas por um nervo motor. O sarcolema é perfurado por uma fibra nervosa, formando a placa terminal que é dependente do sistema nervoso central, que emite descargas elétricas que provocam as contrações musculares. Entre as fibras há muitos vasos sanguíneos, assegurando uma boa irrigação (ROSE e ROTHESTEIN, 1982).

Uma característica importante das miofibras multinucleadas é que seus núcleos não se dividem. O crescimento do músculo pós-natal ocorre quase que exclusivamente por meio da hipertrofia das miofibras sem sua hiperplasia. No entanto, concomitantemente com a hipertrofia da miofibra ocorre o aumento de seu conteúdo de DNA. Uma população de células satélites mitoticamente ativa situada entre a miofibra e o sarcolema (MAURO, 1961) doa novos mionúcleos para as miofibras aumentadas (MOSS e LEBLOND, 1971). As células satélites não são só importantes por alimentar as miofibras em crescimento com mais núcleos, mas também são muito importantes após a lesão muscular. Imediatamente após a lesão os fragmentos de miofibra são removidos, as células satélites são ativadas e recuperam a seqüência de eventos embrionários para formar miotúbulos que amadurecerão em novas miofibras (ANDERSON, 1998). Dados recentes sugerem que outros tipos de células, como as derivadas da medula óssea, podem contribuir para a regeneração muscular (FERRARI et al., 1998). Mas, ainda é desconhecido se a contribuição desses outros tipos celulares é significativa quantitativamente. No entanto, durante o crescimento das miofibras substituídas, as células satélites continuam doando núcleos. Dessa forma, as células satélites têm uma capacidade proliferativa que não é completamente avaliada durante o

crescimento normal. Cada mionúcleo individual dentro da miofibrila, gerado pela divisão da célula satélite, deve ter papel importante no crescimento muscular, porque eles coordenam a transcrição das proteínas da fibra muscular para o citoplasma.

A unidade de DNA é a quantidade teórica de citoplasma que é suportada em cada um dos núcleos da miofibrila multinucleada (CHEEK, 1985; RALSTON e HALL, 1992; ALLEN; ROY; EDGERTON, 1999). A expressão coordenada de proteínas específicas do músculo dentro da miofibrila deve ser um processo muito complexo, porque milhares de núcleos podem ser encontrados dentro de um segmento de fibra muscular, e nem todos os núcleos estão em transcrição ativa ao mesmo tempo (NEWLANDS et al., 1998). Da mesma forma, a relação entre a agregação de mionúcleo por meio da adição de um novo núcleo e a unidade de tamanho do DNA também deve ser complexa devido aos diversos fatores que regulam a proliferação das células satélite, fusão das células satélite e tamanho da miofibrila. Apesar de uma plethora de fatores de crescimento influenciarem a diferenciação e proliferação das células satélites, é possível que as fibras musculares sejam muito importantes no controle da proliferação das células satélites e na fusão da miofibrila. (BISCHOFF, 1990; MOZDZIAK et al., 1998; YABLONKA-REUVENI; SEGER; RIVERA, 1999). Assim, a inter-relação entre miofibrila e a população de células satélite é importante para determinar o tamanho final do músculo, já que a agregação mionuclear é o principal determinante do tamanho muscular (MOZDZIAK; SCHULTS; CASSENS, 1997).

Durante o crescimento normal dos músculos esqueléticos existe um desenvolvimento programado do aumento do tamanho da unidade de DNA (MOZDZIAK; SCHULTS; CASSENS, 1997; MOZDZIAK; PULVERMACHER; SCHULTS, 2000) . No entanto, durante uma resposta adaptativa em músculo maduro, os núcleos das células satélite são adicionados num ritmo suficiente para manter constante o tamanho da unidade

de DNA (McALL et al., 1998). A manutenção de um tamanho constante da unidade de DNA durante a adaptação da miofibrila em um músculo maduro sugere que a hipertrofia da miofibrila seja dependente da agregação mionuclear. A manutenção de um tamanho da unidade de DNA constante durante a hipertrofia da miofibrila, decorrente de carga mecânica, sugere uma relação direta entre o número de núcleos e a quantidade de proteínas na miofibrila (McALL et al., 1998; MOZDZIAK et al., 2001).

Existem três principais tipos de fibras musculares esqueléticas, cada uma com propriedades bioquímicas e fisiológicas únicas, que podem ser diferenciadas por técnicas histoquímicas:

- a – tipo I: contração lenta e oxidativa.
- b – tipo IIa: contração rápida e glicolítica oxidativa.
- c – tipo IIb: contração rápida e glicolítica.

Músculos de contração rápida ou lenta são desenhados para diferentes funções. Os músculos lentos são responsáveis pelo suporte postural e suporte do peso, enquanto que os músculos rápidos são talhados para a força e movimentação rápida. As fibras de contração lenta são resistentes à fadiga, e as de contração rápida têm tendência a se fadigarem mais rapidamente (CLOSE, 1967; BROOKE e KAISER, 1970).

## **1.2 Atrofia muscular**

A atrofia é manifesta pela perda exponencial de massa do músculo esquelético em relação ao tempo, em função da diminuição do número de miofibrilas em paralelo, assim como o número de fibras por músculo (FAULKNER et al., 1980; KASPER et al., 1993).

A diminuição da massa muscular, diâmetro das células musculares, e número de fibras por músculo foram descritos em músculo esquelético de ratos após perda de peso e restrição de movimentação por meio de engessamento e outros métodos. (BOOTH e KELSO, 1973; HERBISON; JAWEED; DITUNNO, 1978; MUSACCHIA et al 1980; MOREY-HOLTON e WRONSKI, 1981; JASPER e TISCHLER, 1984; KASPER; WHITE; MAXWELL, 1990).

Quando um músculo não é usado por longos períodos de tempo, a quantidade de miofilamentos de actina e miosina diminui, levando à redução no diâmetro individual de cada fibra e à diminuição da força muscular. Estas alterações, por sua vez, levam a modificações importantes nas características de contração dos músculos (BALDWIN, 2001).

Se estas características de contração são drasticamente alteradas a composição de suas fibras também alterará. Assim, pessoas que são confinadas à cama por doença, ou astronautas que, enquanto no espaço, não utilizam os “músculos anti-gravitacionais”, desenvolvem atrofia muscular. Este processo ocorre quando uma pessoa fica em repouso restrito ao leito por mais de duas semanas, ou quando o membro é imobilizado (GUTMANN e HNIK, 1963). A atrofia por desuso pode ser atrasada pela contração intermitente do músculo contra a resistência (HISLOP, 1964).

A propagação de potenciais de ação para as fibras musculares de uma unidade motora é acompanhada pela liberação de substância tróficas que impedem a atrofia (GUTH, 1980). Uma doença ou trauma nos motoneurônios inferiores que inervam um músculo remove a fonte do fornecimento contínuo de substâncias tróficas. As fibras afetadas sofrem uma atrofia de desnervação progressiva, até que sejam reinervadas por brotos dos axônios



motores próximos que sobreviveram, ou pelo crescimento axonal da extremidade proximal do nervo seccionado.

Se a inervação não for realizada dentro de aproximadamente dois anos, todas as miofibrilas contráteis terão sido substituídas por um tecido conjuntivo fibroso, e o músculo não será mais capaz de desenvolver tensão ativa.

Estudos mostraram que as fibras musculares e outros tecidos não neurais produzem substâncias que o neurônio necessita para a sua operação contínua. Tais substâncias são chamadas neuronotrofinas, e parecem penetrar pela extremidade distal do axônio, onde são capturadas e transportadas por toda sua extensão até o corpo celular, processo chamado de fluxo axoplasmático (GRAFSTEIN e FORMAN, 1980). Para que, tanto as fibras musculares, quanto as nervosas permaneçam saudáveis é necessário o fornecimento contínuo de substâncias tróficas. O uso do sistema neuromuscular serve como um estímulo para a síntese das substâncias tróficas, e a falta de uso conduz à deterioração funcional e estrutural.

### ***1.2.1 Atrofia induzida por microgravidade***

Apesar dos cientistas virem desenvolvendo experimentos com a biologia gravitacional há muito tempo, foi só nos últimos 40 anos que se tornou possível o estudo dos sistemas neuromotores, quando submetidos a curtos períodos de pouca gravidade (EDGERTON e ROY, 2000).

O primeiro ser vivo lançado ao espaço foi a cadela soviética Laika, em novembro de 1957, e o primeiro humano foi Yuri Gagarin, em 12 abril de 1961. O desenvolvimento dos projetos de vôos espaciais tripulados permitiu ao homem chegar à lua e permanecer por longos períodos em órbita terrestre (ex. MIR, SKYLAB ). Essa incrível tecnologia levou o

ser humano a ambientes sem gravidade, para o qual não havia sido biologicamente preparado. Foi, então, que começaram a surgir estudos observando alterações orgânicas decorrentes da exposição do organismo humano a esses ambientes (WEST, 2000).

Os estudos desenvolvidos durante a era das estações espaciais russas evidenciaram a capacidade humana de realizar trabalho em ambientes de microgravidade por longos períodos (KOSLOVSKAIA et al., 1981; KOSLOVSKAIA et al., 1990). A presença quase contínua de humanos em ambientes de microgravidade utilizando-se de biosatélites ou estação espacial Mir, desde 1970, ofereceram os fundamentos científicos e o conhecimento básico sobre a tolerância do corpo humano a ambientes de baixa gravidade. Até o momento várias centenas de humanos viajaram para o ambiente espacial. Apesar desse constante acesso e testes de tolerância de humanos ao ambiente espacial, as naves espaciais limitaram os estudos a poucas espécies. Apesar de uma grande gama de animais e plantas terem sido expostos ao ambiente de baixa gravidade, quase todas essas exposições foram por períodos inferiores a três semanas. Além disso, em todas as naves espaciais, ficam muito limitadas as oportunidades de se desenvolver estudos bem controlados. Basicamente, a experiência conseguida no espaço serviu para estimular os estudos da biologia gravitacional e determinou a importância do entendimento dos fundamentos da biologia na Terra (EDGERTON e ROY, 2000).

A gravidade desenvolve um papel fundamental na definição das propriedades biológicas dos organismos, em grande parte baseadas nas propriedades físicas do ambiente.

Isso pode ser claramente demonstrado quando pássaros tentaram voar na estação espacial Mir, mas não conseguiram controlar seu senso de direção de vôo. Entre as espécies animais da Terra, existem diversos exemplos de assimetria dos sistemas musculares com respeito à direção e níveis de força que devem ser acomodadas para manter a mobilidade e

repertórios adequados de movimentos de escape e reprodutivos (EDGERTON e ROY, 2000).

Também é importante entender como os sistemas de suporte energético são concebidos para manter o desempenho no ambiente de gravidade comparados com o ambiente de menor gravidade (CHANG e KRAM, 1999; CHANG et al., 2000). A intrincada regulação e integração do controle neural dos músculos que desenvolvem um trabalho também tem de ser efetivos, de forma que sejam distribuídas quantidades adequadas de substrato e oxigênio para as fibras musculares mais ativas, que necessitam de maior metabolismo oxidativo. A distribuição sanguínea deve ser controlada respeitando a gravidade durante as tarefas motoras e posturais. As fibras musculares que são solicitadas mais freqüentemente e que trabalham contra a gravidade devem possuir grande capacidade de fosforilação oxidativa e, assim, gerar fosfatos de alta energia.

Apesar do conceito básico de que todos organismos terráqueos desenvolvem-se em ambiente de gravidade ser evidente, esse conceito é muito pouco realçado. Em recente revisão Booth et al. (2000) apontam para o fato interessante de que nossa sociedade, atualmente, apresenta doenças em escala epidêmica associadas à falta de atividade. A biologia humana e seu genoma evoluíram em ambiente em que a atividade física sempre foi um componente básico. Esse ambiente foi e continua sendo importante na seleção dos genes que caracterizam os humanos. Em geral, se reconhece ser necessário que se mantenha certo grau de atividade física para a manutenção da homeostase normal do organismo. Associada a essa atividade física está o trabalho muscular, muito do qual se realiza contra as forças gravitacionais.

Por exemplo, grande proporção dos músculos de ação lenta tem grande capacidade de oxidação, como pode ser notado basicamente nos músculos extensores em quase todos

os mamíferos, inclusive o homem. Essas fibras musculares parecem ter sido desenvolvidas especialmente para manter a postura ereta durante o dia causando o mínimo estresse metabólico. Em contraste, os músculos com atividade primariamente flexora têm relativamente maior proporção de fibras rápidas e mais fatigáveis, refletindo a não função antigravitacional desses músculos. É de se supor que se um organismo se desenvolvesse em ambiente de microgravidade não seria necessária essa assimetria nos tipos musculares (EDGERTON e ROY, 2000).

Os organismos submetidos à ausência ou diminuição da gravidade sofrem múltiplos efeitos sendo que a atrofia e diminuição de força muscular são os grandes problemas musculares enfrentados pelos tripulantes em vôos espaciais.

Em vista que o desenvolvimento de estudos tendo como base os vôos espaciais evidentemente são difíceis, foram desenvolvidos sistemas artificiais visando a mimetizar os efeitos da ausência de gravidade. Hoje se pode dizer que, basicamente, existem duas maneiras de simular a ausência de peso em animais. Na versão de suspensão pela cauda, os membros traseiros são desprovidos do suporte do peso, pela tração da cauda ou da coluna, mantendo-se apenas as patas dianteiras em contato com o assoalho da gaiola, para permitir locomoção (MOREY, 1979). Em outra versão, menos usada, o animal é suspenso por meio de uma armadura no corpo (MUSACCHIA et al., 1980).

O sistema de suspensão dos membros posteriores é um excelente modelo de atrofia muscular e de transição das isoformas das cadeias pesadas da miosina semelhante ao que ocorre durante os vôos espaciais (TALMADGE; ROY; EDGERTON, 1996). É ainda um modelo útil de inatividade muscular. É sabido que o sistema de suspensão induz à apoptose (EDGERTON et al., 1997), diminui o número de mionúcleos em ratos (ALLEN et al., 1996; ALLEN et al., 1997; HIKIDA et al., 1997), reduz o tamanho da unidade de DNA

(KASPER e XUN, 1996) e induz a atrofia no músculo esquelético maduro. Ainda, sabe-se que o sistema de suspensão suprime a atividade mitótica das células satélites de músculos jovens e inibe o crescimento do músculo esquelético (DARR e SCHULTZ, 1989; SCHULTZ; DARR; MACIUS, 1994; MOZDZIAK; PULVERMACHER; SCHULTS, 2000). Por último, sabe-se que a retirada da carga de peso dos membros posteriores não inibe a formação de miofibras após lesão muscular, mas reduz o crescimento das fibras recém formadas em substituição às lesionadas (MOZDZIAK et al., 1998).

Ilyna – Kakueva; Portugalov; Krivenkova (1976) relataram que, em músculos de ratos examinados histologicamente e morfológicamente após 22 dias de vôo, o músculo solear sofreu considerável perda de peso, e pelo 27º dia após o vôo, comparando com um grupo controle, apresentou recuperação altamente efetiva. Os mesmos autores relataram, também, que a exposição dos ratos à ausência de peso por 20 dias resultou em significativa perda de massa no músculo solear e gastrocnêmio.

Chui e Castleman (1980) relataram que em ratos expostos a hipogravidade por 18 dias, houve redução no diâmetro médio das fibras do extensor longo dos dedos, juntamente com uma redução de toda área de fibra muscular e porcentagem de fibras de contração lenta. Eles postularam que a hipogravidade resulta em ambas: hipocinesia e hipodinamia.

Oganov et al. (1980) demonstraram que a ausência de peso resulta em propriedades contráteis alteradas e tensão isométrica reduzida. Musacchia; Steffan; Deavers (1981) relataram perdas de 35% de massa muscular nas fibras de contração lenta do músculo solear (tipo I) de ratos, na primeira semana de suspensão dos membros posteriores e 45% na segunda semana. No músculo plantar, onde predominam as fibras de contração rápida (tipo II), a suspensão induziu a apenas 22% de perda da massa muscular após sete dias de suspensão.

Thomason e Booth (1990) demonstraram que a porcentagem de fibras de contração lenta diminui no músculo solear sob ausência de peso, e que a combinação de fibras atrofiadas e a diminuição na porcentagem de fibras de contração lenta, necessariamente, muda as propriedades contráteis do músculo solear sob ausência de peso. Assim, o músculo sóleo (contração lenta) adquire propriedades contráteis mais rápidas durante sua exposição à ausência de peso.

Uma secção transversal do gastrocnêmio foi corada com miosina ATPase para distinguir fibras do tipo I das do tipo II. Dos seis músculos gastrocnêmios de ratos suspensos por uma semana, um mostrou maior perda de fibras tipo II, quando comparadas com tipo I. Dos 10 músculos gastrocnêmios examinados de ratos suspensos por duas semanas, quatro apresentaram atrofia uniforme das fibras tipo I e tipo II. Dos 12 músculos examinados de ratos suspensos por quatro semanas, quatro demonstraram atrofia, três apresentaram maior perda de fibras tipo I e um apresentou atrofia uniforme de fibras tipo I e II (TEMPLETON et al., 1984-a).

A maior influência nos músculos com fibras lentas causados tanto pelos vôos espaciais como pelo sistema de Morey fica evidente, quando se comparam os dados dos vôos espaciais e dos ratos hipocinéticos. A marcante perda de peso do sóleo em comparação com a pequena ou nenhuma perda do músculo predominantemente rápido gastrocnêmio é um exemplo. A perda de peso do sóleo foi de 22% e 25% nos vôos de 21 dias da COSMOS-605 e 20 dias da COSMOS 690, respectivamente (TEMPLETON et al., 1984-b). Ratos suspensos por duas e quatro semanas pelo método de Morey tiveram perda de peso do sóleo que eram de 40% e 50% do controle, respectivamente (TEMPLETON et al., 1984-b). Em contraste, as perdas de peso do gastrocnêmio dos animais submetidos ao mesmo vôo foram insignificantes, da mesma forma que nos ratos suspensos por períodos

curtos de 14 dias. As semelhanças de resposta tanto do sóleo como do gastrocnêmio decorrente de vôo espacial e do sistema de suspensão de Morey indicam que este último sistema é um modelo válido para avaliar as alterações surgidas na gravidade baixa. Uma vantagem oferecida pelo sistema de Morey sobre o vôo espacial é que o ele permite maior controle e flexibilidade dos experimentos.

### **1.3 Ensaio Mecânico**

Inicialmente, os ensaios mecânicos eram usados quase que exclusivamente no campo da Engenharia. Com o aparecimento dos implantes não orgânicos e com a necessidade de se determinar as propriedades mecânicas dos materiais e tecidos orgânicos, surgiu uma nova área de pesquisa que beneficia a Medicina e a Reabilitação: a Bioengenharia.

O conhecimento das características de resistência de alguns materiais é importante na medicina ortopédica e esportiva. Materiais biológicos tais como músculos, ossos, ligamentos, tendões e cartilagens muitas vezes necessitam de otimização de sua resistência para evitar a ruptura (GOULD III, 1993; CARVALHO, 2001). A Engenharia colabora com a avaliação das propriedades mecânicas dos tecidos componentes do corpo humano ou dos materiais que são utilizados para substituir ou reparar alguma parte dele. Para estudar o comportamento dos materiais ou tecidos, quando submetidos a esforços, utilizam-se os chamados ensaios mecânicos.

Nesses estão incluídos os ensaios de tração, compressão, torção e outros. Estes tipos compreendem a maioria dos ensaios realizados em tecidos biológicos. O tipo de ensaio a

ser empregado depende do tipo de material a ser utilizado, bem como sua finalidade, tipo de esforço e propriedades mecânicas. Existem dois tipos básicos de ensaios mecânicos feitos em materiais biológicos: os destrutivos, que chegam a causar ruptura total ou parcial do tecido e os não destrutivos. Nos ensaios não destrutivos as alterações não são permanentes e correspondem aos ensaios com utilização de ultra-som, raios-x etc. (SOUZA, 1977).

### ***1.3.1 Ensaio de tração***

O ensaio de tração é considerado o mais importante, pela facilidade de execução e reprodução dos resultados e há muito tem sido utilizado (MACMASTER 1933).

Ele consiste em submeter um material a um esforço que tende a esticá-lo promovendo deformação (SOUZA, 1977). O ensaio de tração permite medir a resistência do material. Para mais fidedignidade de um ensaio, é necessária uma precisão dos aparelhos de medida que estão dispostos para tal procedimento.

O corpo de prova é fixado em uma máquina que aplica esforços padronizados e crescentes na direção axial longitudinal, sendo medidas as deformações por meio de um extensômetro. O corpo de prova deve estar bem alinhado para que o esforço ocorra em direção do eixo longitudinal. Neste ensaio as deformações são distribuídas uniformemente para todo o corpo, pelo menos até ser atingida a carga máxima. O ensaio de tração permite medir satisfatoriamente a resistência do material já que é capaz de fazer com que a carga cresça lentamente durante o teste (SOUZA, 1977). Para que os resultados obtidos sejam confiáveis é preciso que o ensaio seja realizado seguindo as normas e padronizações (CHIAVERINI, 1977).



### **1.3.2 Reabilitação**

Vários métodos foram avaliados na sua habilidade de melhorar ou prevenir atrofia do músculo esquelético durante a microgravidade (NORMAN et al., 2000) . De-Doncker; Picquet; Falempin, (2000) mostraram que a estimulação dos receptores mecânicos da planta do pé do rato poderia prevenir, parcialmente, a atrofia do músculo sóleo desenvolvida depois de 14 dias de suspensão.

A contra-medida mais freqüentemente avaliada é o exercício (GUTH e SAMAHA, 1969; HERBERT; ROY; EDGERTON, 1988; THOMASON e BOOTH, 1990). Nenhum exercício até o momento preveniu completamente a atrofia muscular durante períodos de falta de peso (KAVOUNOUDIAS; ROLL; ROLL, 1998).

Grindeland et al. (1994) relataram que a administração diária de hormônio de crescimento humano acompanhado de subir escada preveniu a atrofia do sóleo em ratos após 10 dias de suspensão. O uso combinado de exercícios com hormônio, foi mais eficaz que qualquer um dos tratamentos isoladamente. De uma forma geral, sugere-se que os programas para evitar os efeitos da microgravidade vão ter que ser compostos não só de exercícios constantes, mas também de componentes de exercício de alta resistência. Quanto e qual exercício de alta resistência ainda deve ser estudado.

## **1.4 Justificativa do estudo**

Como se constata na literatura, é muito grande o interesse e necessidade de informações sobre o impacto da falta ou diminuição da solicitação do peso nos músculos esqueléticos, o que significa menor demanda mecânica. Existe grande necessidade de se

definirem programas adequados de prevenção da atrofia decorrente da ausência de solicitação do peso, assim como programas visando à recuperação das lesões já estabelecidas.

No presente estudo se avaliou o impacto do modelo de suspensão nas características mecânicas do músculo gastrocnêmio e a possibilidade de recuperação desse músculo por meio de um programa de treinamento ulterior ao período de ausência de peso.

## **1.5 Objetivos**

O presente estudo teve os seguintes objetivos;

1. Avaliar o comportamento mecânico, em ensaio de tração, do músculo gastrocnêmio de ratas, quando submetidos a modelo de hipoatividade durante diferentes períodos de tempo.
2. Avaliar o comportamento mecânico, em ensaio de tração, do músculo gastrocnêmio de ratas, quando submetidos a modelo de hipoatividade durante diferentes períodos de tempo, seguidos por um período de exercitação pela natação.

## 2 MATERIAL E MÉTODO

Anteriormente aos experimentos, foram realizados ensaios piloto para definir e padronizar os ensaios mecânicos, a velocidade da tração exercida, a fixação do músculo estudado à máquina de ensaios, a carga e a pré-carga utilizadas, as medidas das gaiolas, o modelo de suspensão e a fixação da cauda do animal.

### 2.1 Animais

Foram utilizadas 105 ratas adultas jovens (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem *Wistar*, com peso corporal mínimo de 200g e máximo de 295g, com média de 247,5g, no início do experimento. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo e pelo Biotério da Universidade de Franca, São Paulo.

As ratas foram mantidas no biotério do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e ocuparam gaiolas coletivas, com dois ou três animais por gaiola, até que fosse atingido o peso mínimo estabelecido, para o início da fase de suspensão. Após essa etapa, elas foram colocadas em gaiolas individuais especiais para serem suspensas pela cauda.

Foram utilizadas cinco gaiolas com as mesmas características, contendo um animal por gaiola com acesso livre à água e à alimentação. Os animais foram identificados por números em suas gaiolas, variando de 1 a 5 e pesados no início do experimento, no início da fase de natação e no dia do sacrifício.

## 2.2 Agrupamento

Nesse trabalho foram investigadas as variações de algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético, após o membro posterior ter sido submetido à retirada de carga por meio da suspensão dos animais pela cauda, seguido ou não de um período de exercitação na água.

Houve um grupo controle e seis grupos tratados, distribuídos conforme o tempo de suspensão isoladamente, ou a suspensão seguida de exercitação.

GRUPO CONTROLE –sem tratamento

GRUPO 7 dias de suspensão

GRUPO 14 dias de suspensão

GRUPO 21 dias de suspensão

GRUPO 7 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação

GRUPO 14 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação

GRUPO 21 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação

## 2.3 Características dos grupos

A distribuição dos animais está apresentada no Quadro I.

**Quadro I - Distribuição dos animais nos grupos experimentais**

<i>Grupos experimentais</i>	<i>Número de animais</i>
Controle	12
7 dias de suspensão	11
14 dias de suspensão	14
21 dias de suspensão	12
7 dias de suspensão com 30 dias de natação	13
14 dias de suspensão com 30 dias de natação	15
21 dias de suspensão com 30 dias de natação	14
<b>TOTAL</b>	<b>91</b>

### 2.3.1 Grupo controle

Composto por 12 animais que foram mantidos em gaiolas comuns, sem restrição de ração e água e sem intervenções específicas, sacrificados quando atingiram o peso entre 225g e 285g, com média de 264g. .

### 2.3.2 Grupo 7 dias de suspensão

Composto por 11 animais com as características físicas semelhantes ao do grupo controle, e com peso no início da suspensão entre 215g e 270g, com média de 246g. Essas ratas ficaram suspensas pela cauda por um período de 7 dias e, depois, sacrificadas.

### **2.3.3 Grupo 14 dias de suspensão**

Composto por 14 animais com características físicas semelhantes ao do grupo anterior, com peso inicial entre 235g e 255g e média de 248g. Foram suspensos pela cauda por um período de 14 dias e, depois, sacrificados.

### **2.3.4 Grupo 21 dias de suspensão**

Composto por 12 animais com as mesmas características físicas dos grupos anteriores. Os animais apresentaram peso inicial médio de 262g, com variação entre 230g e 295g, e foram suspensos pela cauda por um período de 21 dias, sendo sacrificados em seguida.

### **2.3.5 Grupo 7 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação**

Composto por 13 animais com as mesmas características dos grupos anteriores. Foram suspensos pela cauda por um período de 7 dias. Os animais apresentaram peso inicial médio de 234g, com variação entre 200g e 245g. Após o período de suspensão foram submetidos a exercícios de natação, com duração de uma hora diária durante 30 dias, e, depois sacrificados.

### **2.3.6 Grupo 14 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação**

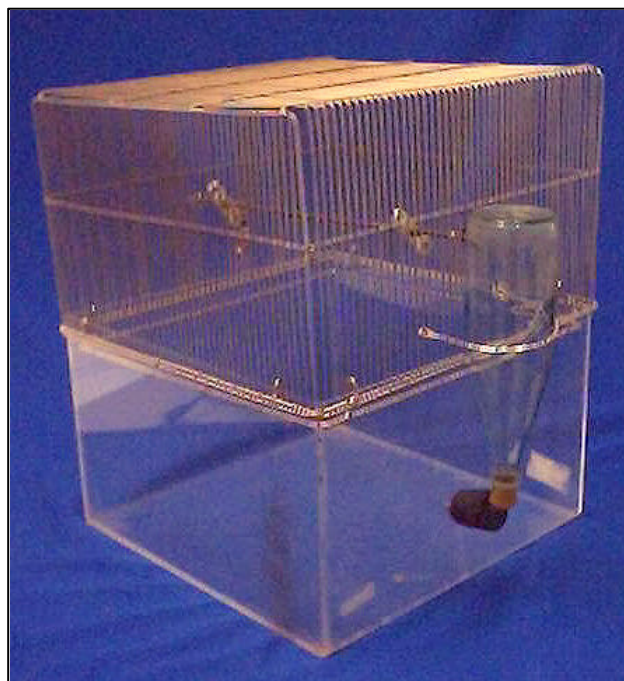
Composto por 15 animais com as mesmas características dos grupos anteriores que ficaram suspensos pela cauda por um período de 14 dias. Os animais apresentaram variação de peso no início da suspensão entre 225g e 260g, com peso médio de 244g. Após a suspensão, os animais foram submetidos à natação por um período de 30 dias, uma hora ao dia, e, depois, sacrificados

### 2.3.7 Grupo 21 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação

Composto por 14 animais com as características semelhantes aos grupos anteriores. Os animais apresentaram uma variação de peso no início da suspensão entre 230g e 280g, com média de 256g. Após a suspensão foram submetidos à natação de uma hora por dia, durante 30 dias.

## 2.4 Técnica de suspensão

Os animais foram suspensos pela cauda utilizando-se um modelo simulador de microgravidade proposto por Kasper et al., (1993) e modificado por Silva (2003). Previamente, foram construídas gaiolas especiais (Figura 1) compostas por duas partes separadas que se acoplavam. A parte inferior foi feita em acrílico transparente e incolor, com medidas de 35cm x 35cm x 21,5cm e com um orifício em um dos lados para colocar o bico de água. A parte superior foi fabricada em metal raiado com medidas de 36cm x 36cm x 21cm.

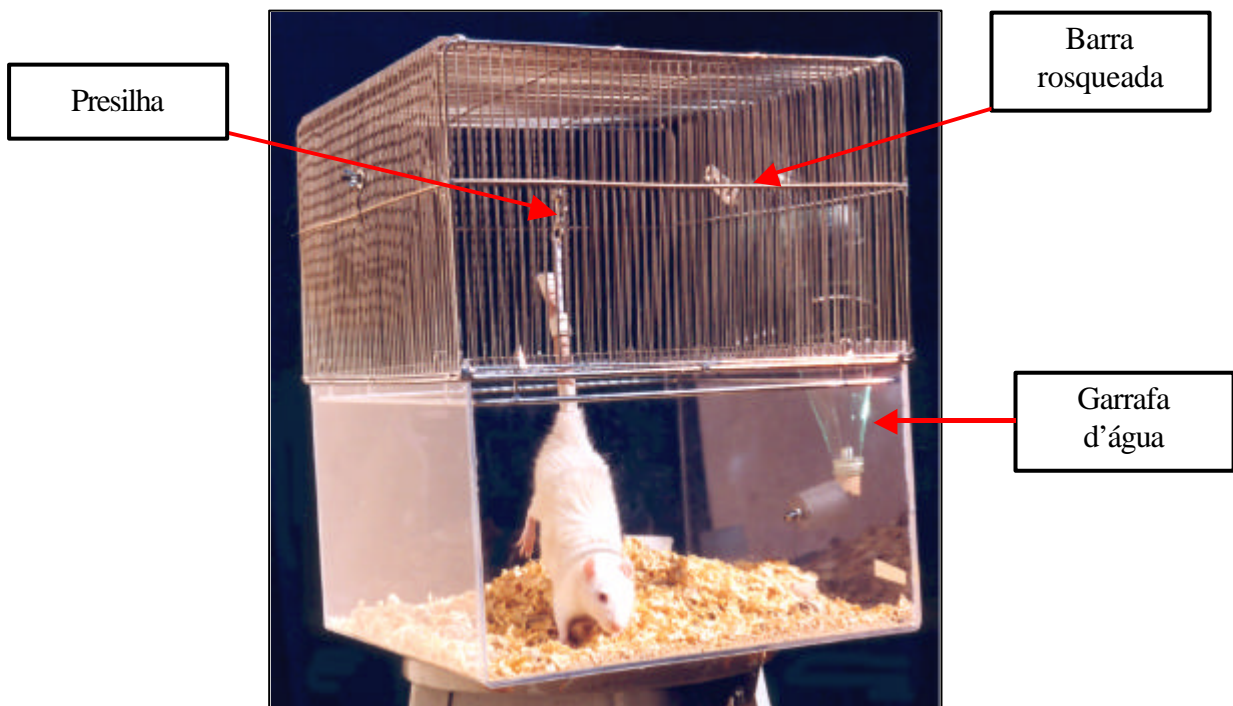


**FIGURA 1 – Gaiola para suspensão de rato pela cauda, constituída de duas partes. A inferior, em acrílico serve de base para acoplamento da superior, em metal raiado.**



De um lado a outro da parte superior e central da gaiola metálica foi colocada uma barra cilíndrica e de ferro com superfície rosqueada, que serviu para posicionar e sustentar os animais nas gaiolas. Nesta barra foi inserida uma presilha que permitia o deslizamento ao longo do eixo, onde foram dependurados os animais (Figura 2).

A água foi colocada em uma garrafa presa na lateral, com um bico que atravessava a parede da gaiola, em uma altura que permitia ao animal utilizá-la quando houvesse necessidade. A ração foi simplesmente colocada dentro da gaiola, que teve seu piso forrado com serragem.

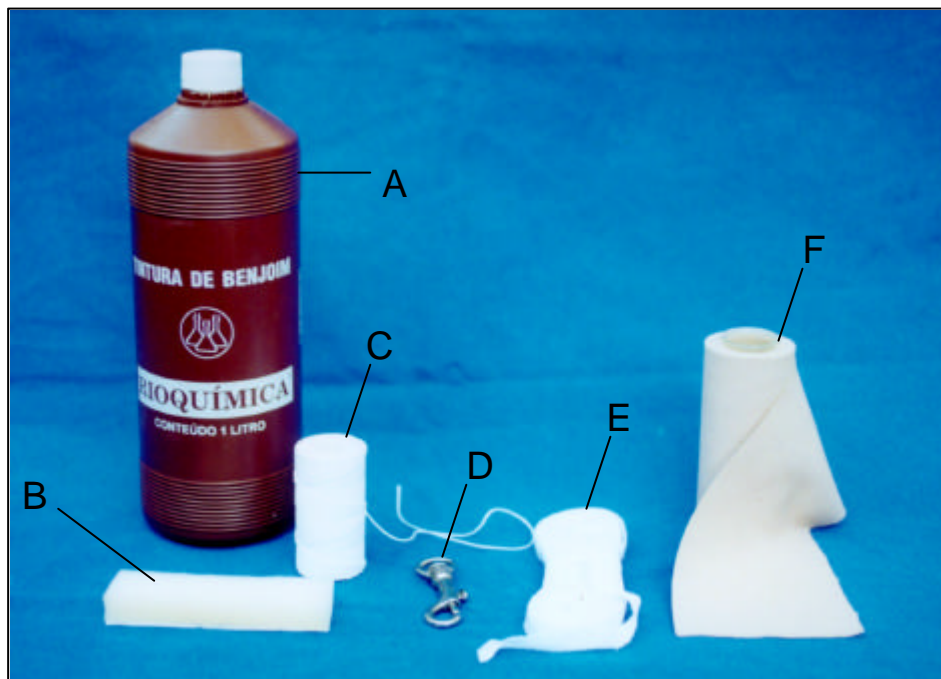


**FIGURA 2 – Rato em suspensão pela cauda, mostrando os componentes da gaiola.**

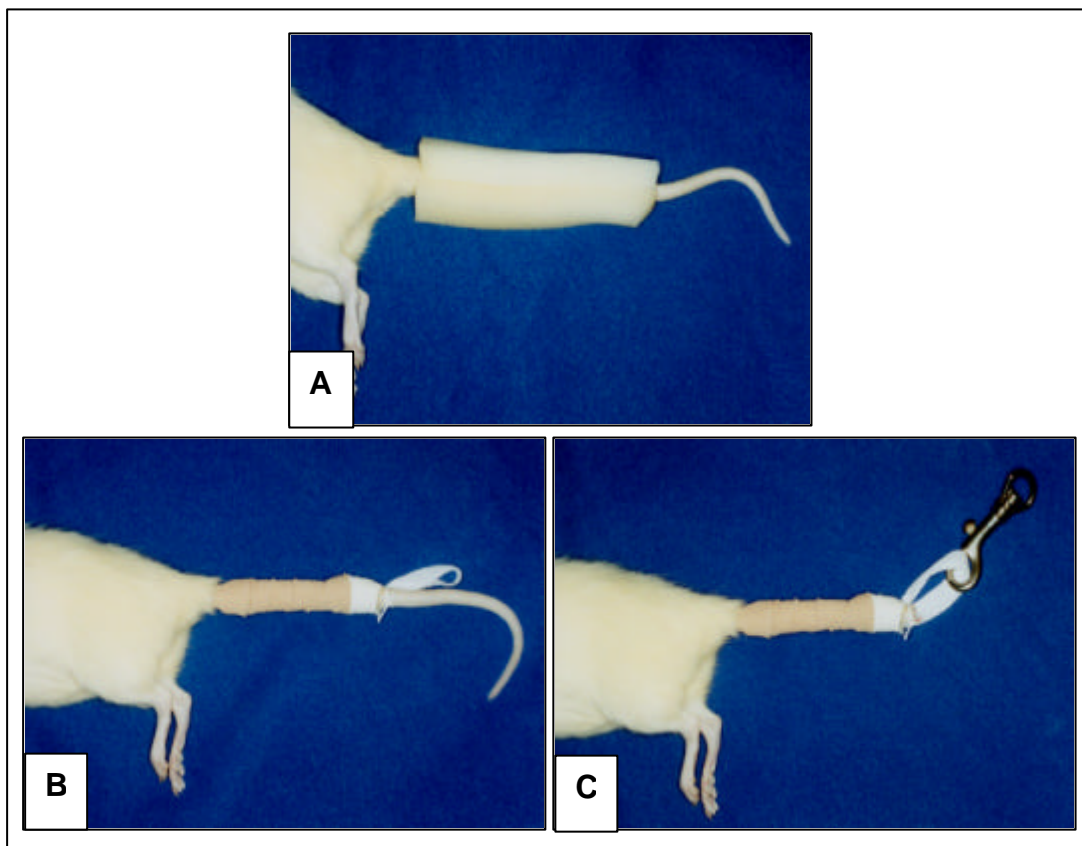
Para a instalação do sistema de suspensão as ratas foram anestesiadas com inalação de éter etílico, para a limpeza de suas caudas com detergente, aplicação de tintura de Benjoin para melhorar a aderência. Duas tiras de espuma adesiva (Reston®) foram aplicadas envolvendo os dois terços proximais da cauda, para proteção cutânea. Sobre a espuma foi

enrolada uma fita de brim formando uma alça, que foi envolvida por uma bandagem elástica compressiva (Elastoplast®) e presa com cordonê. (Figuras 3 e 4).

Esta alça de brim foi acoplada à presilha que deslizava pela barra rosqueada e que estava fixada às laterais da gaiola, presas por parafusos de rosca que permitiam o ajuste na altura da suspensão, de modo que o animal apoiasse os membros anteriores apenas o suficiente para a locomoção e não apoiasse ou tocasse os membros posteriores nas paredes da caixa acrílica.



**FIGURA 3 – Materiais usados para fixação da cauda do rato em suspensão. Tintura de Benjoin (A). Espuma adesiva (B). Codornê (C). Presilha (D). Fita de brim (E). Faixa elástica adesiva (F).**

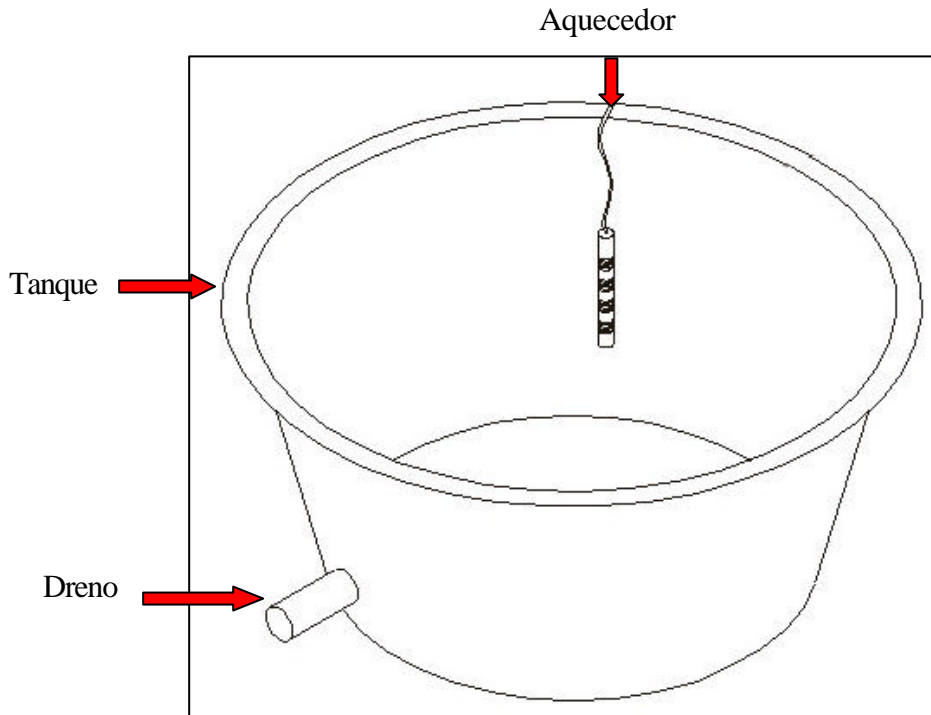


**FIGURA 4** – Passos técnicos para a fixação da cauda do animal. Colocação da espuma adesiva envolvendo a cauda do rato (A). Enfaixamento com faixa elástica adesiva sobre uma fita de brim, formando uma alça no final (B). Colocação da presilha para acoplamento no eixo de suspensão após amputação da extremidade distal da cauda (C).

Após o término do enfaixamento o terço final da cauda que ficara livre foi amputado para evitar necrose, ainda com o animal anestesiado.

## 2.5 Técnica de exercitação

O exercício utilizado foi a natação, e foi realizado em um reservatório de 500 litros de água, circular, fabricado em fibra de vidro e com profundidade de 60cm (Figura 5)



**FIGURA 5 – Esquema ilustrativo do tanque com o aquecedor e o cano de drenagem da água.**

A temperatura da água foi mantida entre 32°C e 34°C por meio de um aquecedor de aquário, ligado a um termostato, e o nível da água mantido de tal forma que o animal não conseguisse se apoiar no fundo nem se agarrar à beirada do tanque.

O treinamento foi realizado por um período de 30 dias, uma hora ao dia, utilizando-se apenas do peso do animal. O exercício foi realizado entre 10 horas e 15 horas, 5 dias por semana, com descanso nos finais de semana.

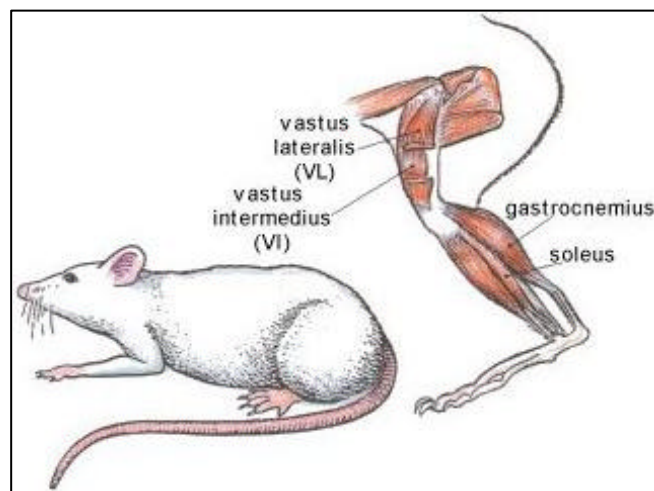
Para a exercitação, as ratas foram simplesmente colocadas na água e vigiadas para evitar que usassem artifícios para descansar, como manterem-se imóveis ou apoiarem-se na borda do tanque.

Após cada sessão o animal era secado com jato de ar quente por um período de 30 minutos e colocado em gaiola de comum, com serragem no fundo e livre acesso à água e à ração, onde ficava até o próximo período de natação.

Após o término do período de cada grupo os animais eram sacrificados com inalação excessiva de éter sulfúrico.

## 2.6 Coleta de material

Após o sacrifício o membro posterior direito foi usado para avaliação. Previamente, a pele da coxa foi retirada, o músculo tensor da fáscia lata removido e realizada abordagem do músculo gastrocnêmio (Figura 6), que foi isolado, mas preservando suas origens ósseas no terço distal do fêmur e na inserção no calcâneo. O segmento distal do fêmur e a pata foram mantidos para serem usados como fixação nos acessórios da máquina de ensaio. Em seguida, as peças foram colocadas em solução de lactato de Ringer, em temperatura ambiente, até o momento do ensaio que ocorreu, no máximo, até 60 minutos pós-morte.



**FIGURA 6** – Desenho esquemático mostrando detalhes anatômicos do músculo gastrocnêmio do rato (in <http://www.nsbri.org/humanphysiologyspace/focus5/references.html>).

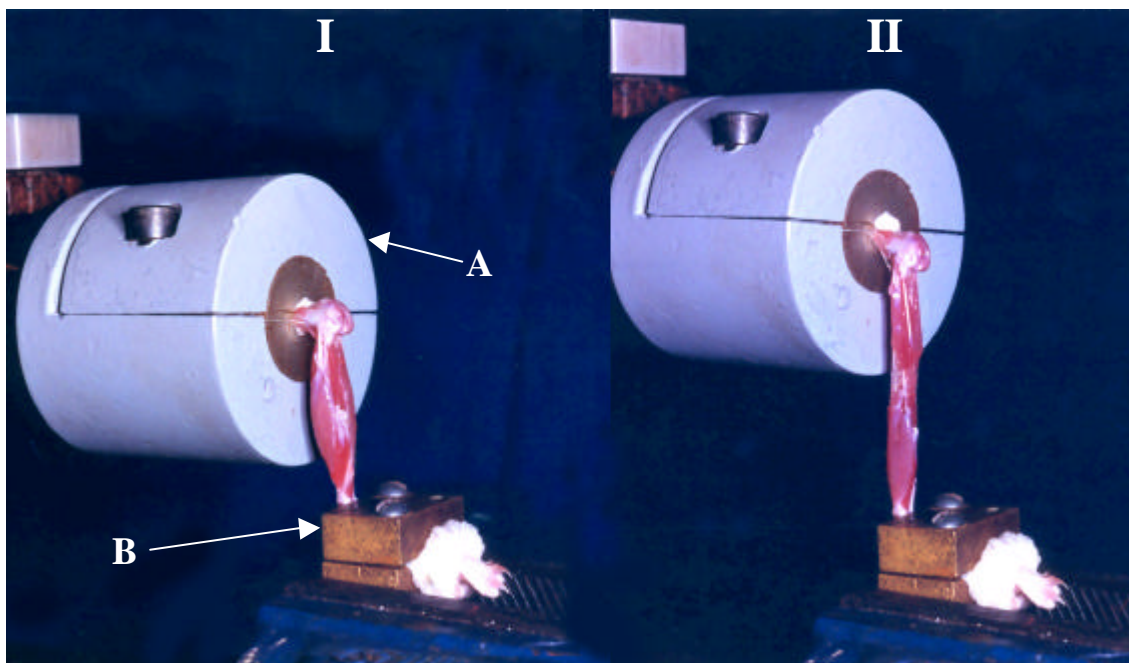
## 2.7 Ensaio mecânico de tração

Para o ensaio de tração do músculo gastrocnêmio foi utilizada a máquina universal de ensaio mecânico do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão

Preto - USP, equipada com célula de carga de 200 kgf (Kratos<sup>®</sup>), ligada a uma ponte de extensometria (Sodmex<sup>®</sup>).

As deformações foram fornecidas por um relógio comparador (Mitutoyo<sup>®</sup>), com precisão de 0,01mm.

Para a fixação do músculo foram utilizados dois acessórios metálicos confeccionados na Oficina Mecânica de Precisão do Campus da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto, sendo um para o fêmur e, outro, para o calcâneo, de modo a manter o músculo gastrocnêmio formando um ângulo de 90° com o fêmur e com o calcâneo (Figura 7).



**FIGURA 7 – Detalhe do músculo gastrocnêmio sendo submetido ao ensaio de tração em uma fase inicial (I) e final (II), ilustrando o acessório para fixação do fêmur (A) e do acessório para fixação do calcâneo (B). Notar o posicionamento do músculo perpendicularmente às inserções e o alongamento sofrido pelo músculo após o ensaio.**

Os músculos foram ensaiados logo após serem isolados, sendo fixados aos acessórios e submetidos à tração axial. Durante o ensaio a peça anatômica foi borrifada com solução de lactato de Ringer para evitar dessecação.

Foi aplicada uma pré-carga de 200g, durante 60 segundos, para acomodação do sistema. A velocidade estabelecida foi de 5mm/min, e a carga aplicada foi registrada a cada

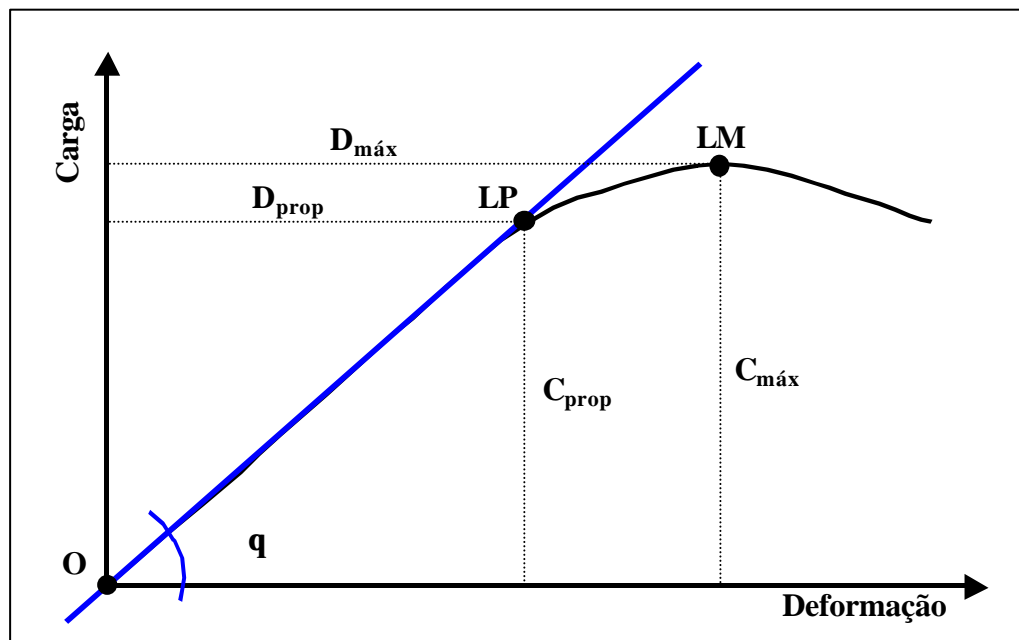
0,5mm de deformação, até a ruptura do músculo, sendo examinados e observados os locais das rupturas quanto à localização. Só foram considerados os ensaios onde a ruptura ocorreu no ventre muscular.

### 2.7.1 Propriedades mecânicas

Com a obtenção dos valores de carga  $\times$  deformação em cada ensaio, foram confeccionados os gráficos (carga aplicada  $\times$  deformação), com auxílio do programa de computador EXCEL 7<sup>®</sup>.

Com esses gráficos foram obtidas as seguintes propriedades mecânicas: carga e deformação no limite da proporcionalidade [LP], carga e deformação máximas [LM] e rigidez [R].

Um gráfico teórico da obtenção dos parâmetros está ilustrado na Figura 8.



**FIGURA 8** – Gráfico carga  $\times$  deformação ilustrando os pontos de obtenção das propriedades mecânicas com o ensaio de tração.  $D_{m\acute{a}x}$  = deformação máxima; LM = limite máximo;  $D_{prop.}$  = deformação proporcional; LP = limite de proporcionalidade;  $C_{prop}$  = carga proporcional;  $C_{m\acute{a}x}$  = carga máxima;  $q$  = ângulo de inclinação da reta



### 2.7.1.1 Limite de proporcionalidade (LP)

O limite de proporcionalidade foi considerado como sendo o ponto da extremidade distal do segmento linear do gráfico carga  $\times$  deformação que foi obtido por uma curva de regressão, seguindo a inclinação e identificando, a extremidade da reta. As coordenadas desse ponto representam a carga e a deformação no limite de proporcionalidade.

### 2.7.1.2 Limite máximo (LM)

O limite máximo é o maior valor da carga e deformação observados a cada ensaio, até o rompimento do músculo.

### 2.7.1.3 Rigidez (R)

A rigidez é obtida na fase elástica do material, determinada pela inclinação da curva carga  $\times$  deformação, calculada pela tangente do ângulo  $\theta$  formado pela reta que representa a inclinação da curva na fase elástica em relação ao eixo das abscissas.

$$R = \text{Tg}\theta = \frac{C_{\text{Prop}}}{D_{\text{Prop}}}$$

## 2.8 Análise Estatística

A normalidade da distribuição dos valores intra-grupos foi avaliada pelo teste de Kolmogorov e Smirnov. A comparação entre os grupos com distribuição normal foi feita pelo teste ANOVA (“One-way Analysis of Variance”) e a verificação dos grupos que apresentaram diferença, pelo teste de múltiplas comparações de Tukey-Kramer. As comparações entre dois grupos foram feitas por intermédio do teste não pareado “t” de



Student. Os cálculos foram realizados utilizando-se do pacote estatístico SPSS-10 for Windows<sup>®</sup>. Foi considerado o nível de 5% como de significância estatística.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 ANIMAIS

Os grupos, inicialmente, foram planejados para conter 15 animais em cada um deles. Entretanto, houve algumas mortes durante o experimento ou perdas de peças por falhas técnicas durante o ensaio.

A Tabela 1 apresenta o número de animais que foram incluídos no estudo e os valores médios  $\pm$  desvio padrão de peso ao início e final dos experimentos. Os Anexos de 1 a 7 apresentam os valores individuais.

**Tabela 1 - Número de animais e peso (média  $\pm$  desvio padrão) antes e após os respectivos tratamentos.**

Grupo de Estudo	N	Peso inicial (g)	Peso ao final da suspensão(g)	Peso ao final da natação (g)
Controle	12	263,7 $\pm$ 14,8		
Suspensão				
7 dias	11	246,4 $\pm$ 16,7 <sup>a</sup>	234,5 $\pm$ 19,7	
14 dias	14	247,9 $\pm$ 13,1 <sup>a</sup>	238,9 $\pm$ 15,8	
21 dias	12	262,1 $\pm$ 22,4	258,8 $\pm$ 29,3	
Suspensão seguida de 30 dias de natação				
7 dias	13	234,2 $\pm$ 8,6 <sup>a,c</sup>	226,5 $\pm$ 12,5 <sup>b</sup>	255,8 $\pm$ 23,7
14 dias	15	244,0 $\pm$ 12,3 <sup>a,c</sup>	224,7 $\pm$ 13,2 <sup>b</sup>	259,0 $\pm$ 22,5
21 dias	14	256,1 $\pm$ 16,1	248,9 $\pm$ 23,1 <sup>b</sup>	264,3 $\pm$ 25,6

<sup>a</sup> Diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os pesos iniciais e ao fim do período de suspensão.

<sup>b</sup> Diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os pesos ao fim do período de suspensão e após 30 dias de natação.

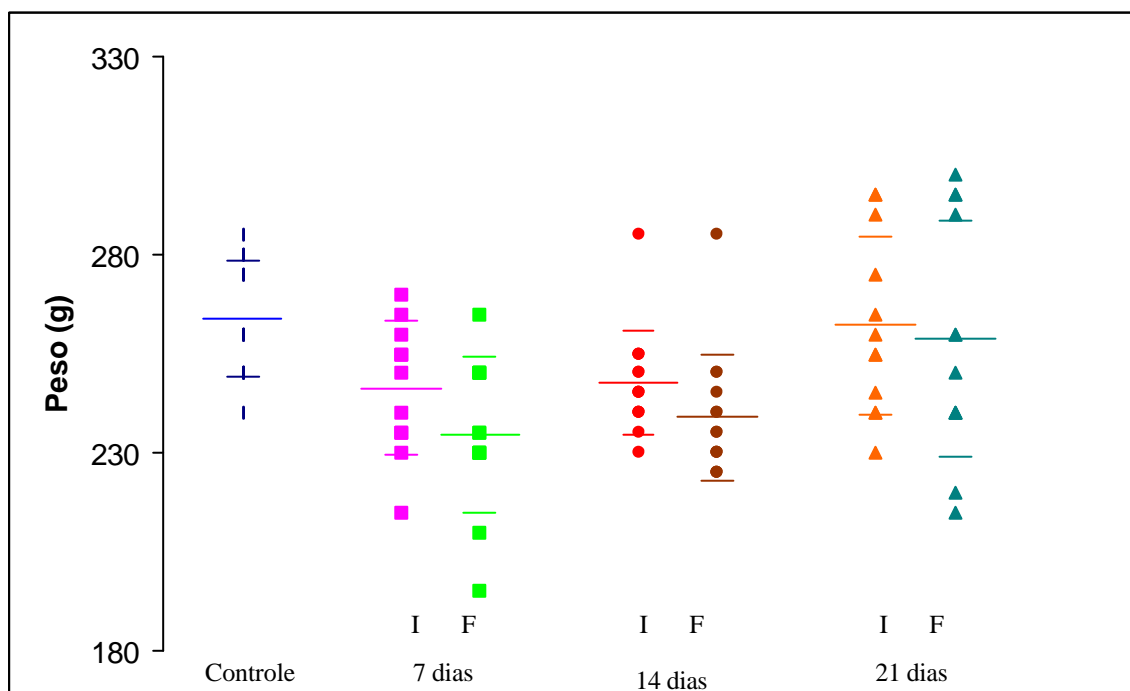
<sup>c</sup> Diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os pesos iniciais e após 30 dias de natação.

Quanto ao peso inicial dos animais, o menor animal incluído pesou 210g e o maior 295 g. Apesar de estar dentro do critério de inclusão, o grupo de animais suspensos por 7 dias

seguidos de natação apresentou peso estatisticamente menor que as ratas do grupo controle e das suspensas por 21 dias (seguido ou não de natação). No Anexo I encontram-se listados os pesos individuais dos animais estudados.

Após a suspensão dos animais por sete ou 14 dias houve diminuição significativa dos seus pesos. No entanto, a perda de peso dos animais submetidos 21 dias de suspensão só atingiu significância estatística ( $p=0,047$ ) quando, para efeito de análise, foram juntadas os dois grupos que foram submetidos a esse tratamento.

A Figura 9 apresenta os valores dos pesos dos animais controle ao início e final dos diversos períodos de suspensão.

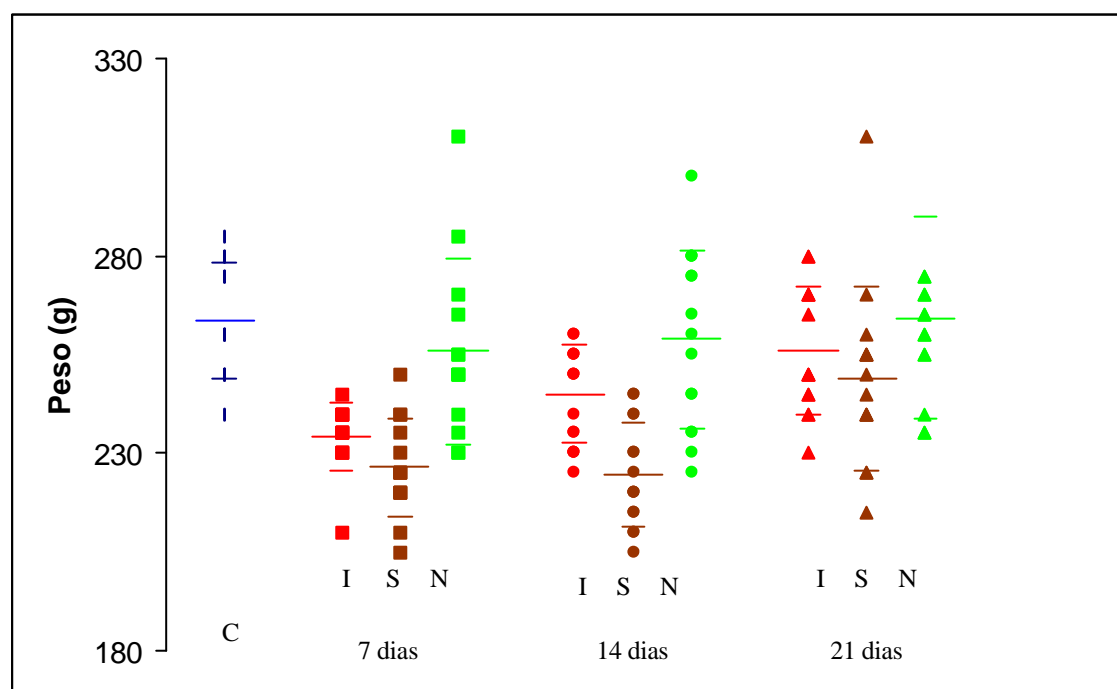


**FIGURA 9 - Valores dos pesos dos animais controle e ao início (I) e final (F) de 7, 14 e 21 dias de suspensão.**

Quanto aos animais submetidos à natação por 30 dias, os três grupos apresentaram aumento estatisticamente significativo de peso ( $p<0,001$ ) quando se comparam os pesos no término do período de suspensão e no término do período de natação. Quando se compara o

peso inicial (antes da suspensão) e final (após a natação) encontra-se que nos grupos de animais suspensos por sete ou 14 dias ocorreu aumento de peso ( $p= 0,004$  para sete dias e  $p= 0,003$  para 14 dias), porém, para os animais suspensos por 21 dias o aumento de peso ocorrido após a natação não atingiu significância estatística.

A Figura 10 apresenta os valores dos pesos dos animais controle, no início e final dos diversos períodos de suspensão, seguidos de 30 dias de natação.

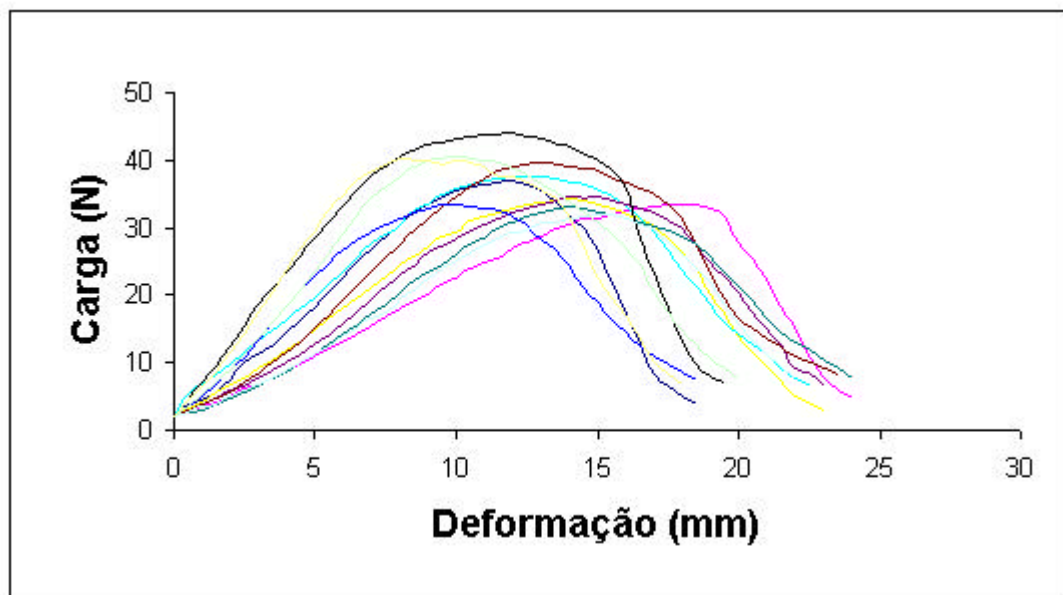


**FIGURA 10 - Valores dos pesos dos animais controle e ao início (I) e final (S) de 7, 14 e 21 dias de suspensão, seguidos de 30 dias de natação (N).**

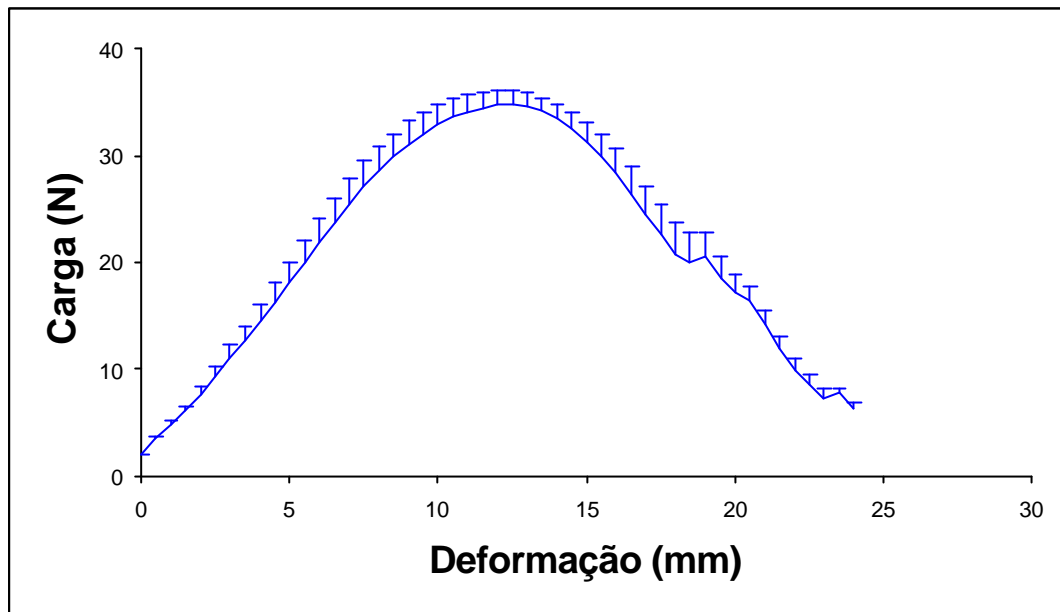
## 3.2 PROPRIEDADES MECÂNICAS

### 3.2.1 Ensaios mecânicos:

Os valores individuais obtidos durante os ensaios mecânicos podem ser encontrados nos Anexos de oito a catorze. As curvas dos ensaios mecânicos realizados com o músculo gastrocnêmio dos animais do grupo controle encontram-se na Figura 11. Para tornar mais homogênea a visualização das curvas foi calculada a média e erro padrão da média (EP) das diversas curvas conseguidas com os ensaios dos músculos dos animais controle, e o resultado encontra-se na Figura 12.

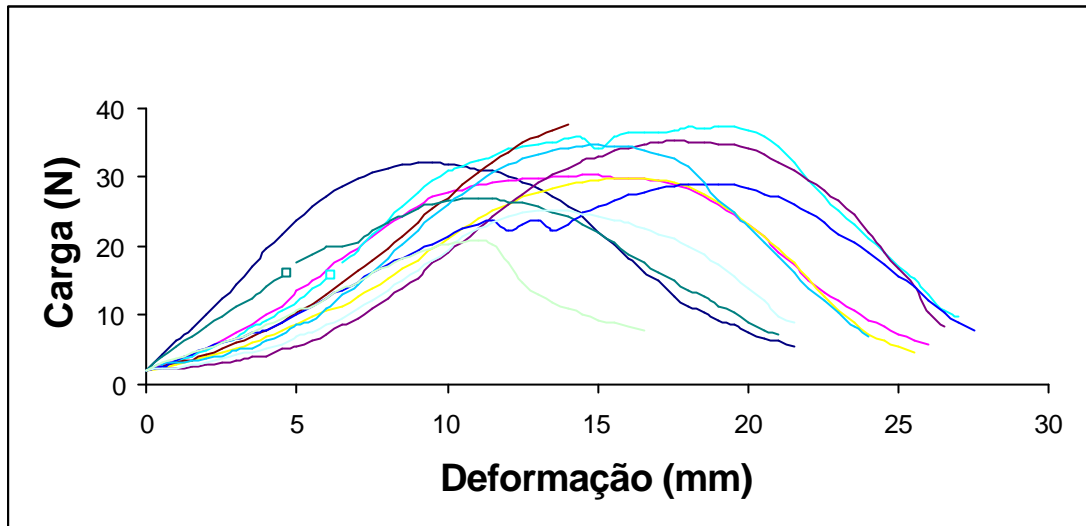


**FIGURA 11 - Curvas Carga x Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 12 animais-controle**

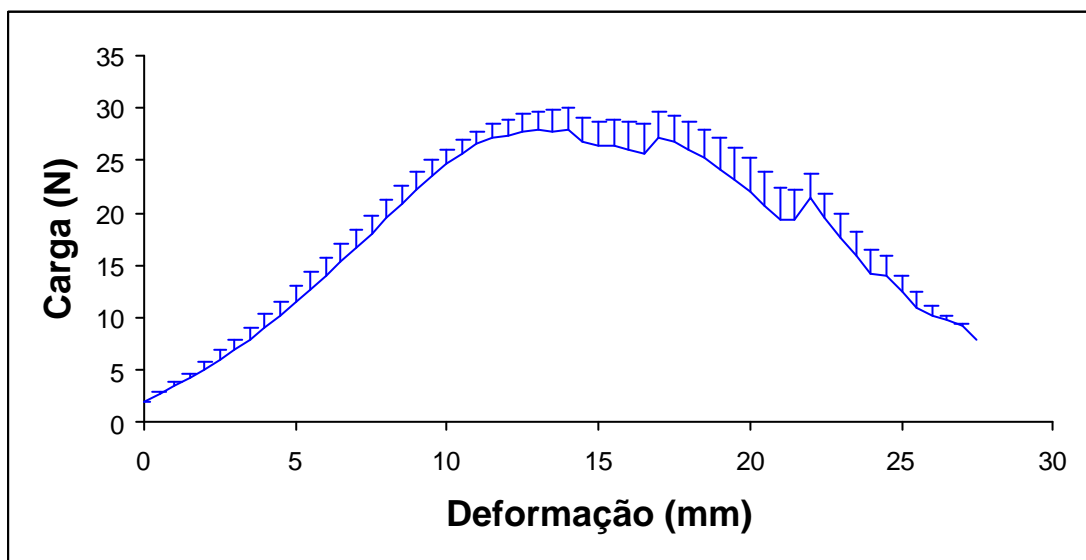


**FIGURA 12 - Médias  $\pm$  EP das curvas Carga  $\times$  Deformação dos músculos gastrocnêmios dos 12 animais controle.**

Os ensaios mecânicos realizados com o músculo gastrocnêmio dos animais suspensos por 7 dias encontram-se na Figura 13. A média e o erro padrão da média (EP) das diversas curvas encontram-se na Figura 14.

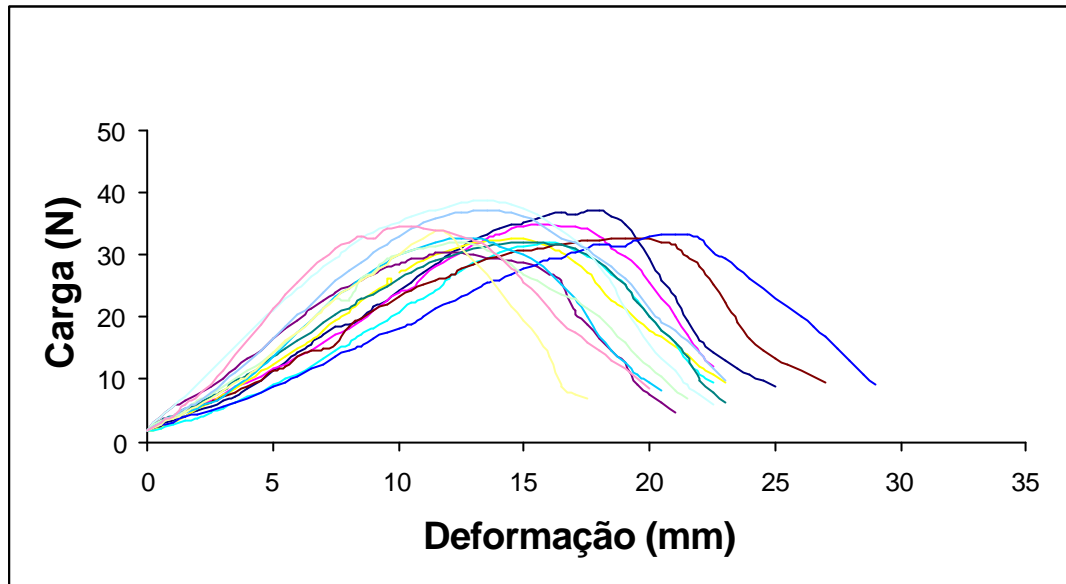


**FIGURA 13 - Curvas Carga x Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 11 animais suspensos por 7 dias**

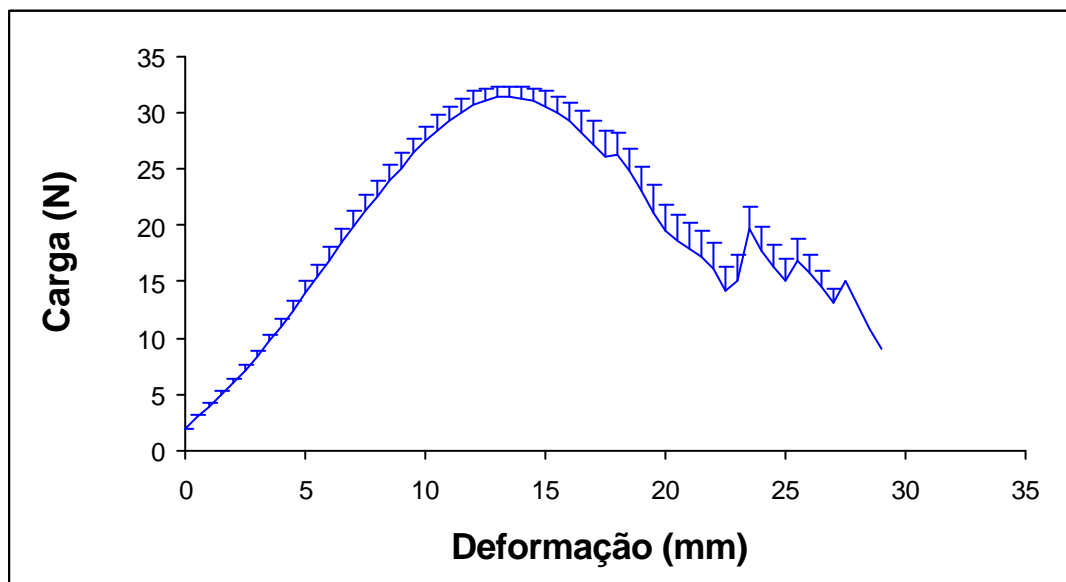


**FIGURA 14 - Médias  $\pm$  EP das curvas Carga x Deformação dos músculos gastrocnêmios dos animais suspensos por 7 dias.**

Os ensaios mecânicos realizados com o músculo gastrocnêmio das ratas suspensas por 14 dias encontram-se na Figura 15. A média e o erro padrão da média (EP) das diversas curvas encontram-se na Figura 16.



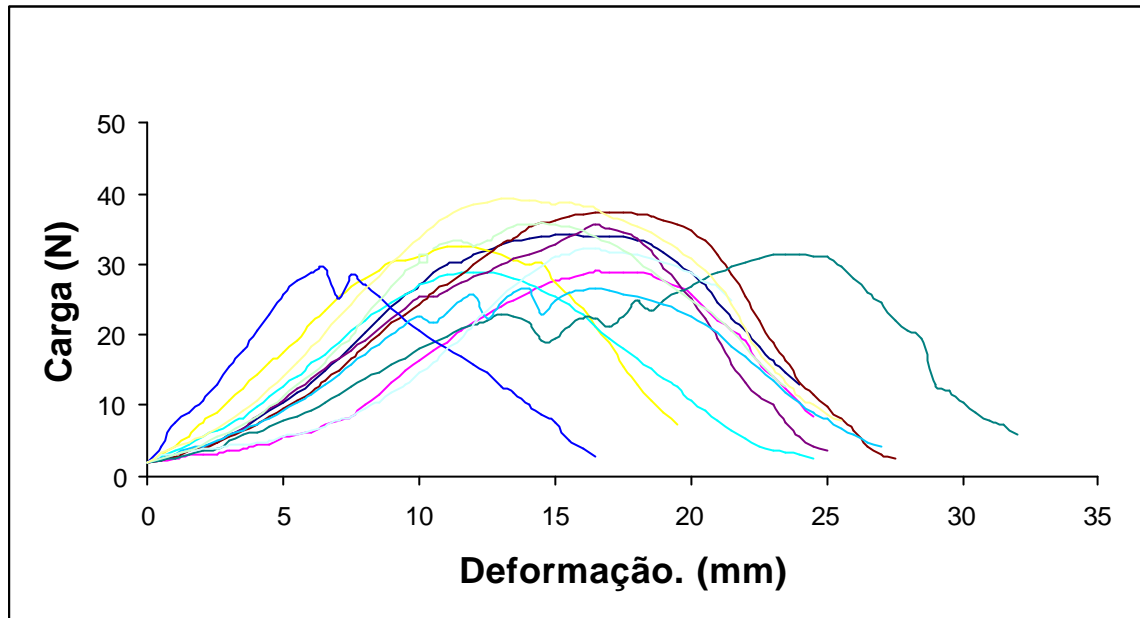
**FIGURA 15 -** Curvas Carga x Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 14 animais suspensos por 14 dias



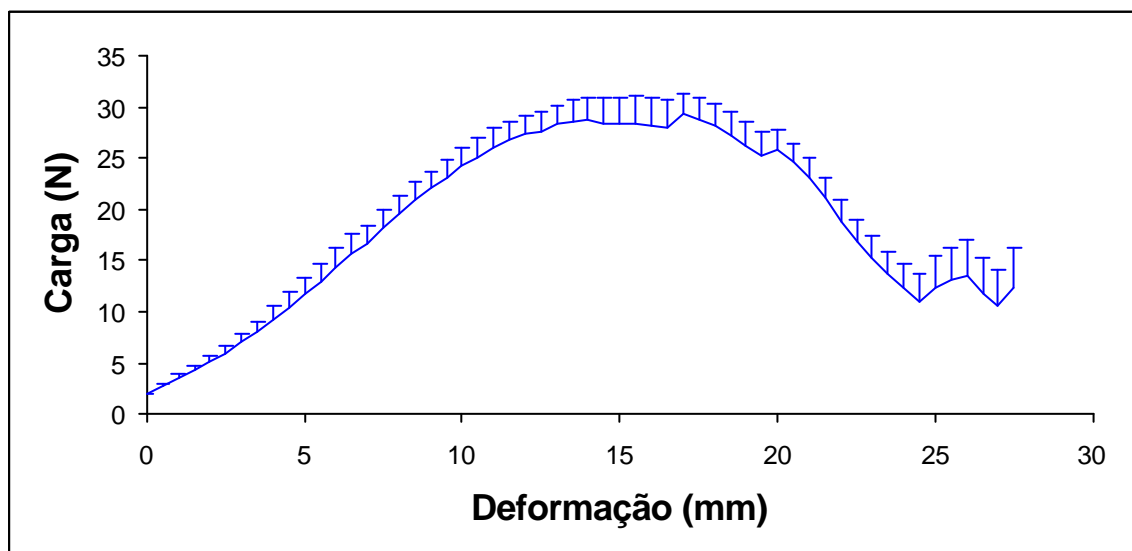
**FIGURA 16 -** Médias  $\pm$  EP das curvas Carga x Deformação dos músculos gastrocnêmios dos animais suspensos por 14 dias.



Os ensaios mecânicos realizados com o músculo gastrocnêmio dos 12 animais suspensos por 21 dias encontram-se na Figura 17. A média e o erro padrão da média (EP) das diversas curvas encontram-se na Figura 18.

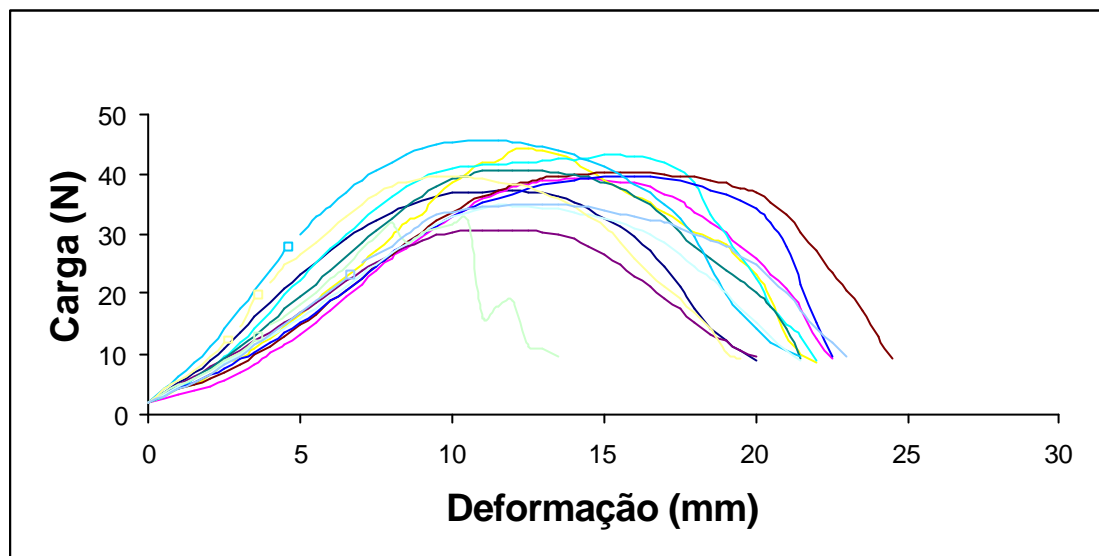


**FIGURA 17 -** Curvas Carga x Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 12 animais suspensos por 21 dias.

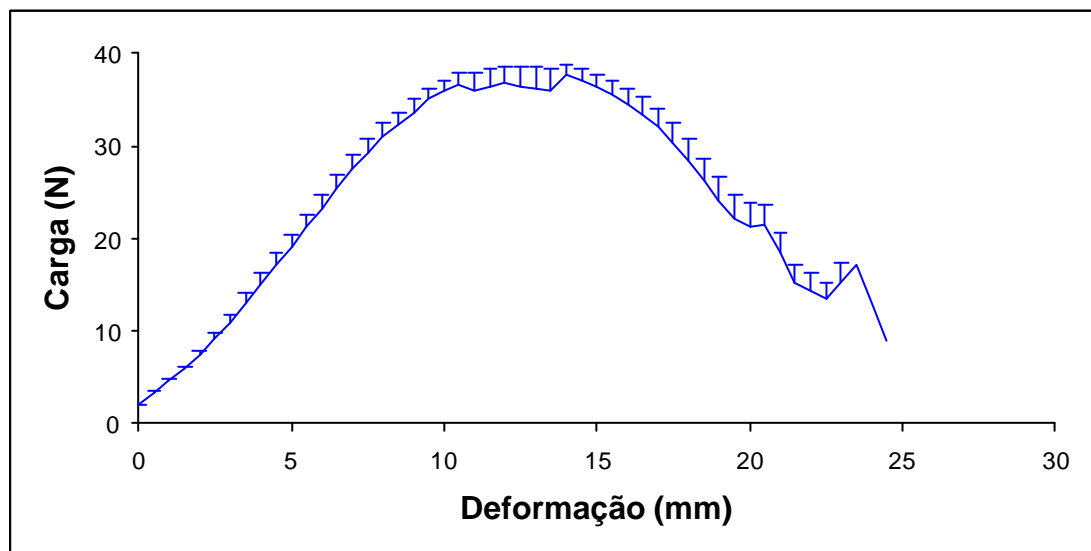


**FIGURA 18 -** Médias  $\pm$  EP das curvas Carga x Deformação dos músculos gastrocnêmios dos animais suspensos por 21 dias.

Os ensaios mecânicos realizados com o músculo gastrocnêmio das 13 ratas suspensas por 7 dias, seguidos de 30 dias de natação encontram-se na Figura 19. A média e o erro padrão da média (EP) das diversas curvas encontram-se na Figura 20.

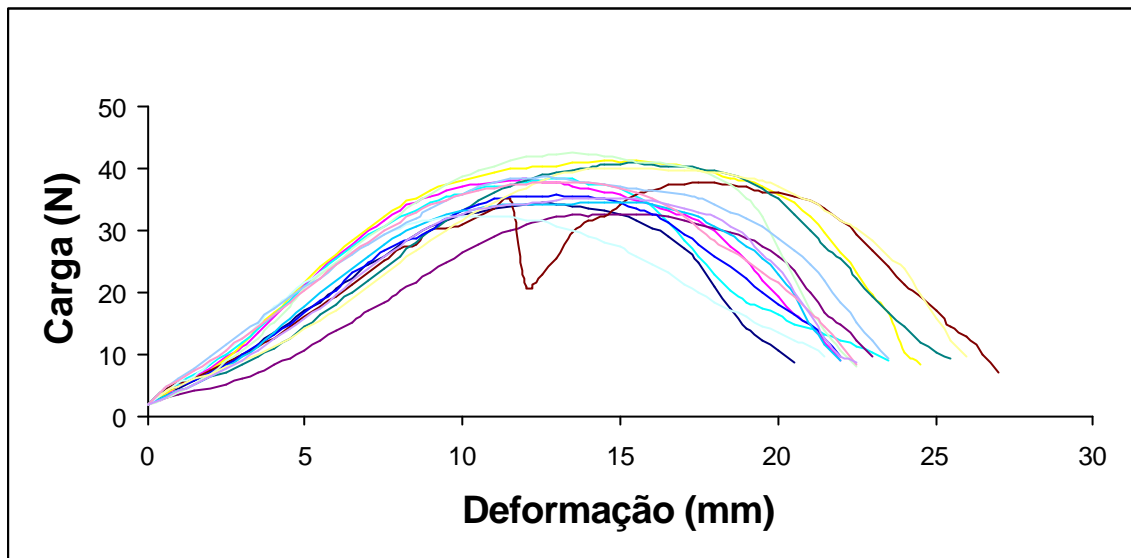


**FIGURA 19 - Curvas Carga x Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 13 animais suspensos por 7 dias, e seguidos de 30 dias de natação.**

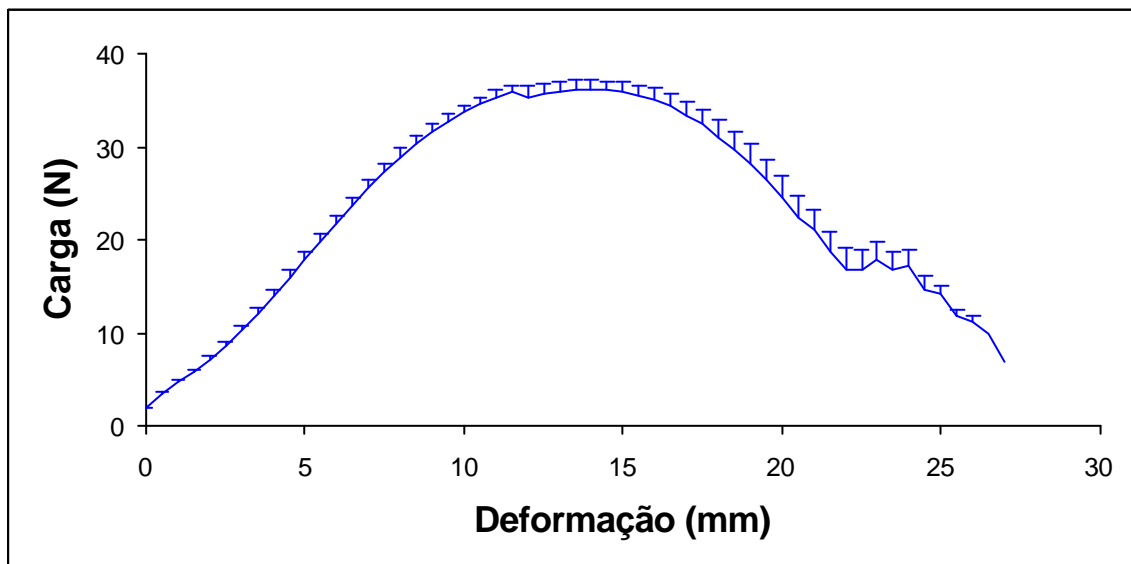


**FIGURA 20 Médias  $\pm$  EP das curvas Carga x Deformação dos músculos gastrocnêmios dos animais suspensos por 7 dias, e seguidos de 30 dias de natação.**

Os ensaios mecânicos realizados com o músculo gastrocnêmio dos 15 animais suspensos por 14 dias, seguidos de 30 dias de natação encontram-se na Figura 21. A média e o erro padrão da média (EP) das diversas curvas encontram-se na Figura 22.

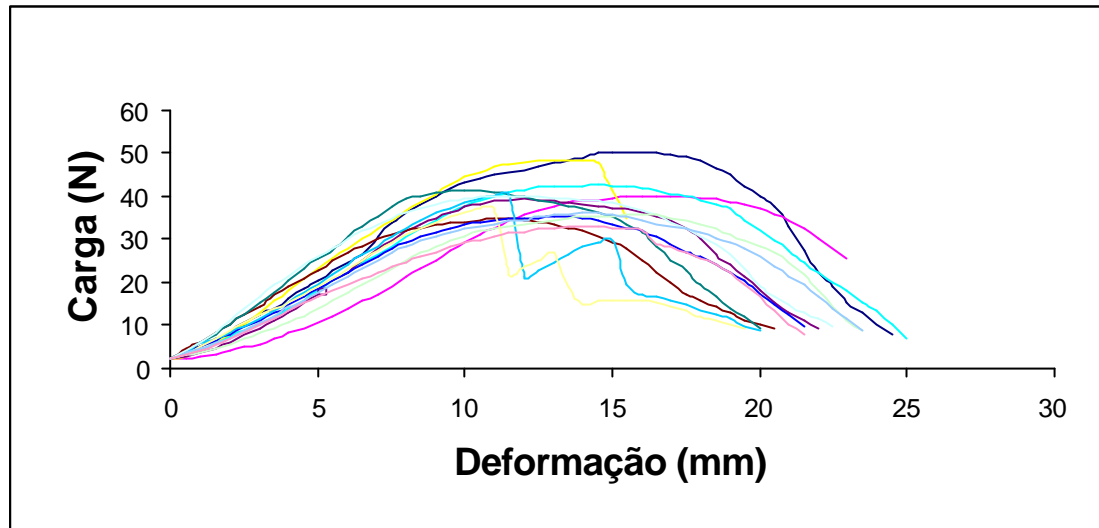


**FIGURA 21 - Curvas Carga x Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 15 animais suspensos por 14 dias, e seguidos de 30 dias de natação.**

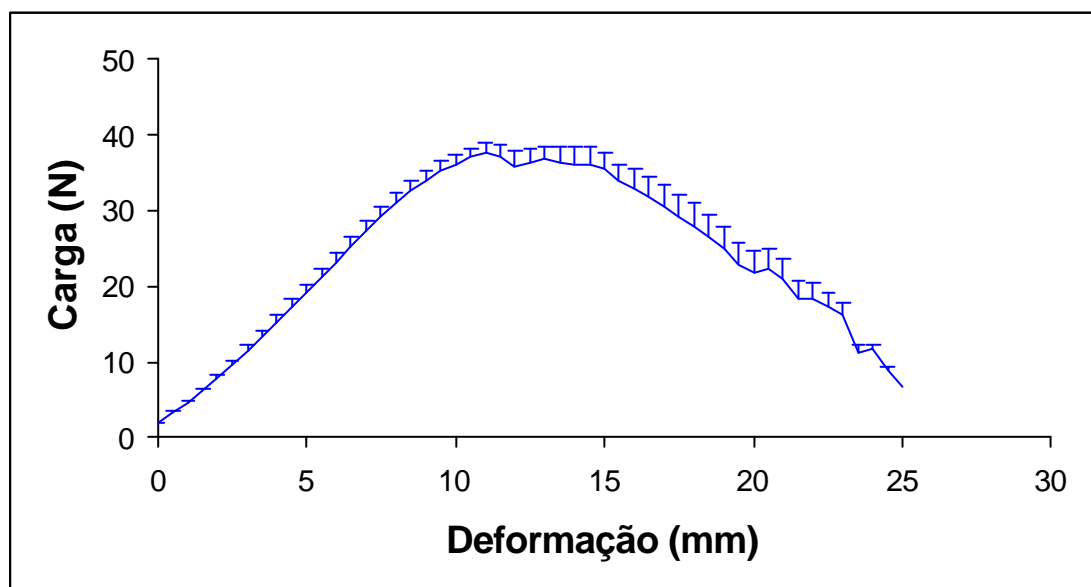


**FIGURA 22 - Médias  $\pm$  EP das curvas Carga x Deformação dos músculos gastrocnêmios dos 15 animais suspensos por 14 dias, e seguidos de 30 dias de natação.**

Os ensaios mecânicos realizados com os músculos gastrocnêmios dos 14 animais suspensos por 21 dias, e seguidos de 30 dias de natação encontram-se na Figura 23. A média e o erro padrão da média (EP) das diversas curvas encontram-se na Figura 24.

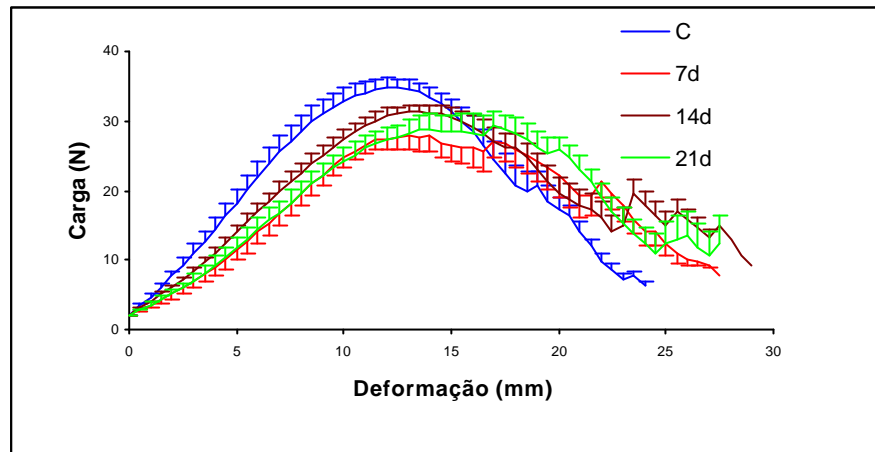


**FIGURA 23** Curvas Carga  $\times$  Deformação individuais dos músculos gastrocnêmios dos 14 animais suspensos por 21 dias, e seguidos de 30 dias de natação.



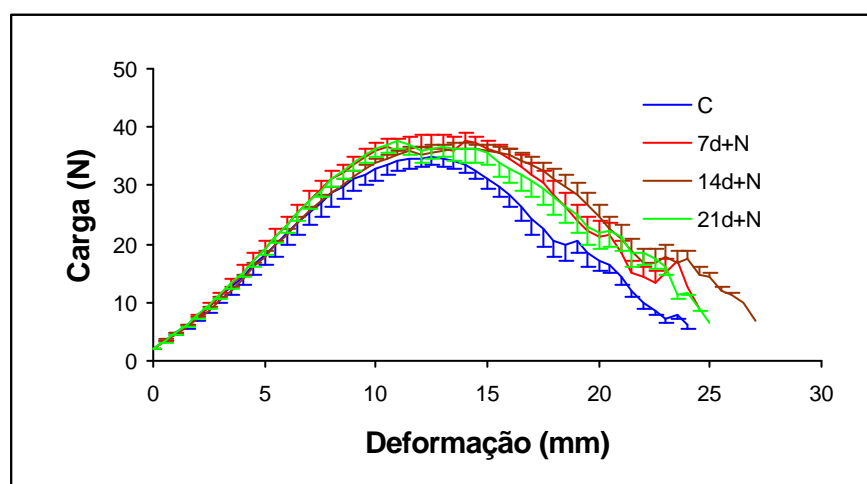
**FIGURA 24** - Médias  $\pm$  EP das curvas Carga  $\times$  Deformação do músculo gastrocnêmio dos animais suspensos por 21 dias, seguidos de 30 dias de natação.

A Figura 25 apresenta o comportamento dos músculos gastrocnêmio (média±EP) dos animais controle acompanhados dos suspensos pelos períodos de 7, 14 e 21 dias. Pode-se constatar que a curva do grupo controle destaca-se dos demais grupos.



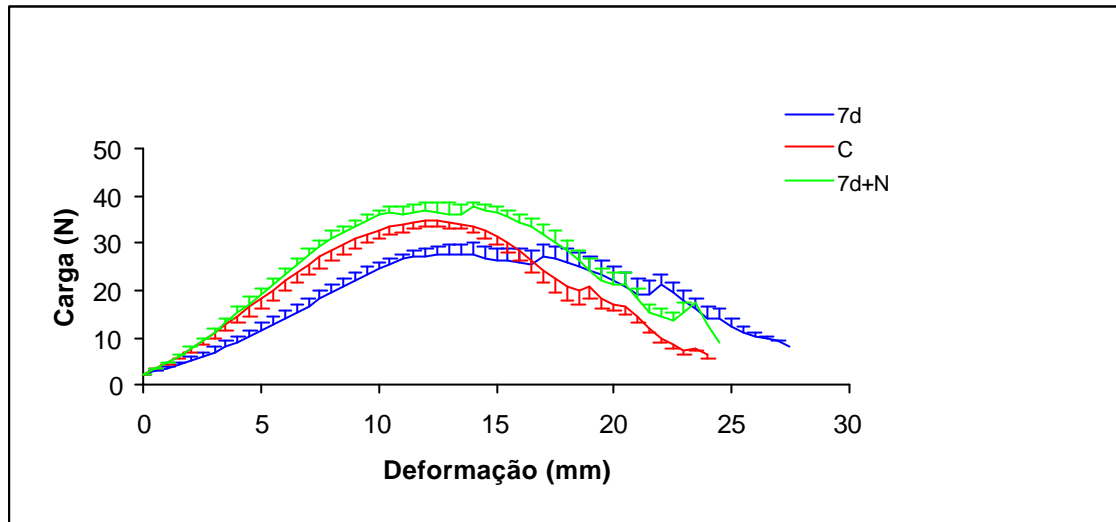
**FIGURA 25 - Comportamento (média ± EP) dos músculos gastrocnêmio dos animais controle (C) e dos suspensos pelos períodos de 7 (7d), 14 (14d) e 21 dias (21d).**

A Figura 26 apresenta o comportamento dos músculos gastrocnêmio (média±EP) dos animais controle acompanhados dos suspensos pelos períodos de 7, 14 e 21 dias seguidos de 30 dias de natação. Pode-se constatar que as curvas dos animais tratados tendem a se aproximar do controle.

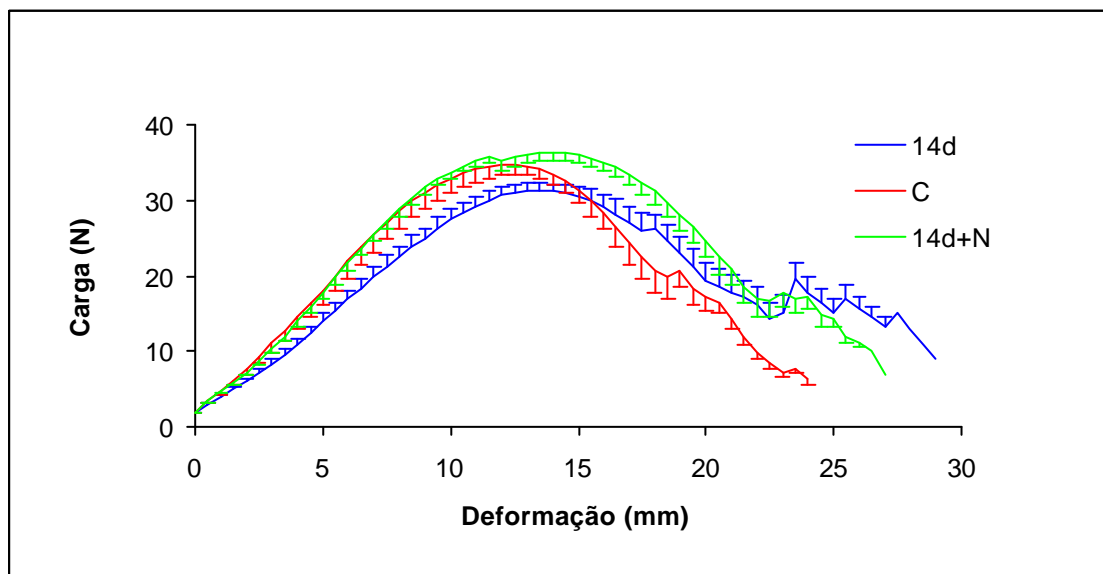


**FIGURA 26 - Comportamento (média ± EP) dos músculos gastrocnêmio dos animais controle (C) e dos suspensos pelos períodos de 7 (7d), 14 (14d) e 21 dias (21d) seguidos de 30 dias de natação.**

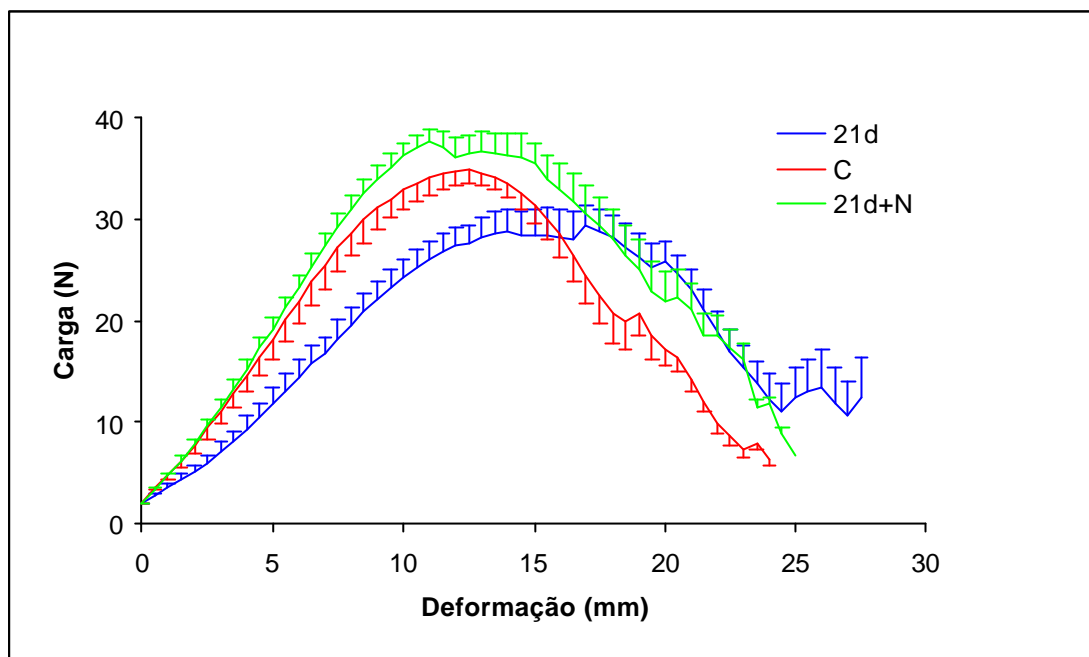
As Figuras 27, 28 e 29 apresentam a comparação do comportamento dos músculos gastrocnêmio dos animais controle acompanhados dos suspensos pelo mesmo período de tempo, respectivamente 7, 14 e 21 dias, submetidos ou não à natação.



**FIGURA 27 - Comparação dos ensaios mecânicos (média+ EP) dos músculos gastrocnêmios de animais controles (C), suspensos por 7 dias (7d) e suspensos por 7 dias seguidos de natação (7d+N).**



**FIGURA 28 - Comparação dos ensaios mecânicos (média+ EP) dos músculos gastrocnêmios de animais controles (C), suspensos por 14 dias (S14) e suspensos por 14 dias seguidos de natação (S14+N)**



**FIGURA 29 - Comparação dos ensaios mecânicos (média+ EP) dos músculos gastrocnêmios de animais controles (C), suspensos por 21 dias (21d) e suspensos por 21 dias seguidos de natação (21d+N)**

### 3.2.2 Limite de proporcionalidade

A Tabela 2 apresenta os valores médios  $\pm$  desvio padrão da carga e deformação no limite de proporcionalidade dos animais submetidos aos diversos tratamentos. Os valores individuais encontram-se nos Anexos de 15 a 21.

**Tabela 2 - Valores médios  $\pm$  desvio padrão de carga e deformação no limite de proporcionalidade segundo o agrupamento**

Grupo de Estudo	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}m$ )
Controle	31,6 $\pm$ 3,7	9,14 $\pm$ 2,2
Suspensão		
7 dias	25,5 $\pm$ 4,2 <sup>a</sup>	9,71 $\pm$ 2,3
14 dias	28,5 $\pm$ 2,9	10,3 $\pm$ 2,6
21 dias	27,2 $\pm$ 4,6 <sup>a</sup>	10,2 $\pm$ 2,3
Suspensão seguida de 30 dias de natação		
7 dias	31,4 $\pm$ 4,3 <sup>b</sup>	8,05 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>
14 dias	29,5 $\pm$ 2,3	8,09 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>
21 dias	32,5 $\pm$ 5,2 <sup>b</sup>	8,28 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>

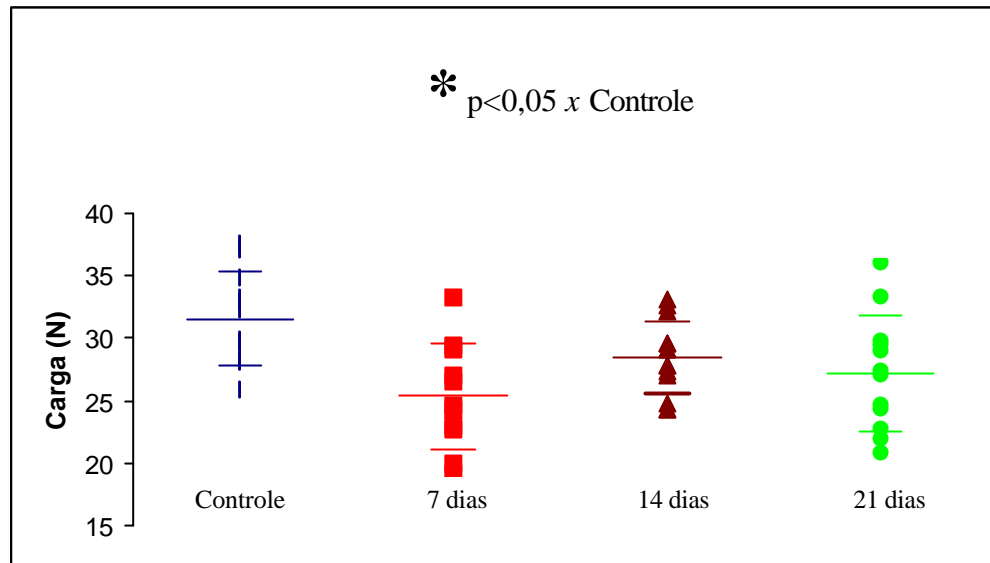
<sup>a</sup> Significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) em relação ao controle

<sup>b</sup> Significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) em relação ao não submetido à natação

#### 3.2.2.1 Carga no limite de proporcionalidade

Na análise dos valores de carga no limite de proporcionalidade foi encontrado que, nos animais submetidos à suspensão, houve significativa redução da carga quando comparada pelo teste de ANOVA com o valor controle ( $p = 0,003$ ). Aplicando-se o teste de múltiplas comparações de Tukey-Kramer pôde-se verificar que os animais suspensos por 7 e 21 dias foram os que se diferenciaram do controle. A Figura 30 apresenta os valores da carga no limite da proporcionalidade encontrados nos músculos dos animais controles e nos suspensos por 7, 14 e 21 dias.





**FIGURA 30 - Carga no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e submetidas a 7, 14 e 21 dias de suspensão**

A carga no limite de proporcionalidade nos animais submetidos à suspensão seguida de natação não diferiu do grupo controle.

Comparando-se os animais submetidos ou não à natação, porém com mesmo tempo de suspensão, a carga foi maior de maneira significativa nos animais suspensos por 7 e 21 dias e posteriormente submetidos à natação, quando comparados com os que não nadaram. Os animais suspensos por 14 dias não diferiram entre si. As Figuras 31, 32 e 33 apresentam essas comparações .

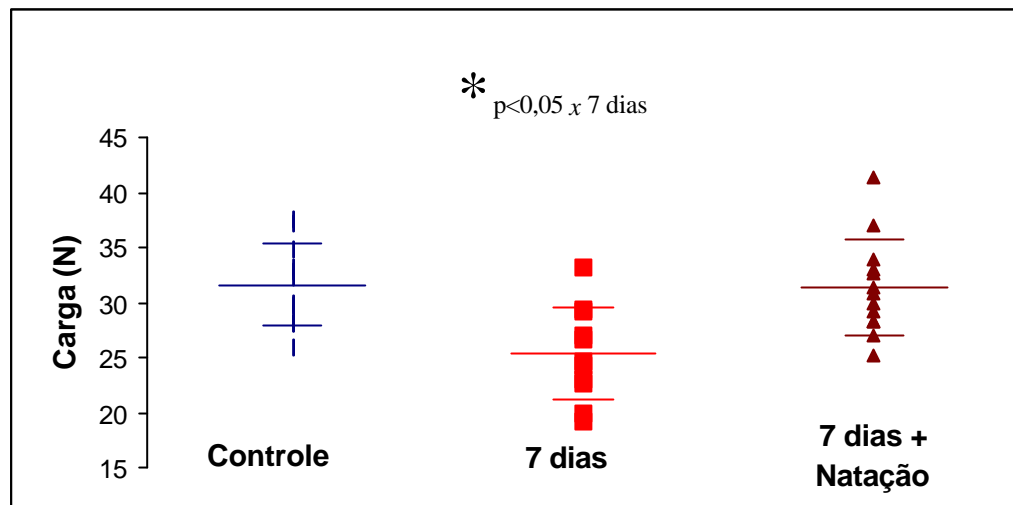


FIGURA 31 - Carga no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratos controle e ratos submetidas à suspensão por 7 dias seguidos ou não de natação.

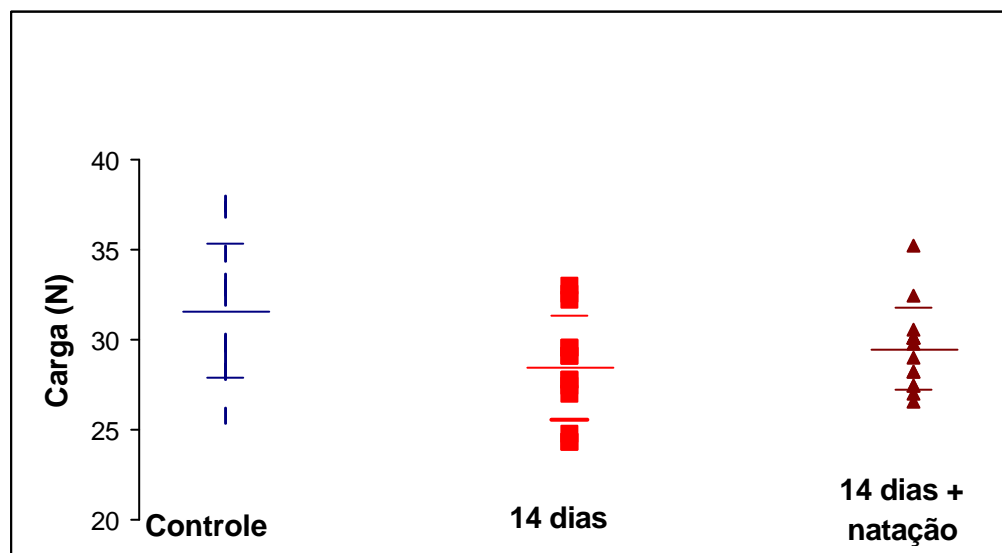
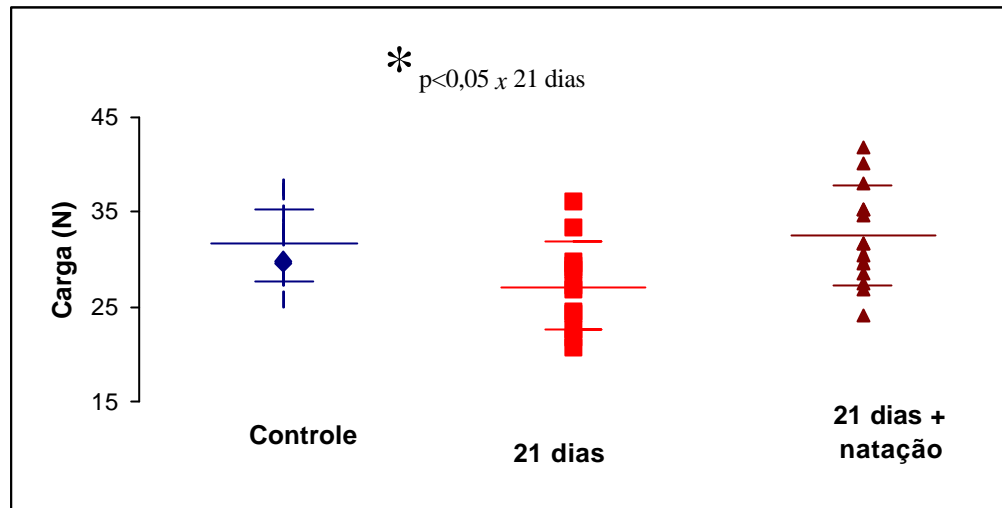


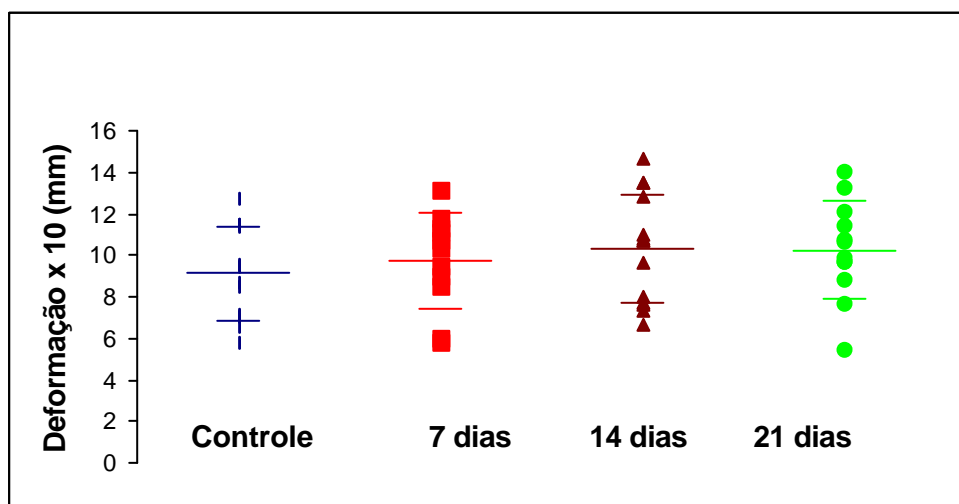
FIGURA 32 - Carga no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratos controle e ratos submetidas à suspensão por 14 dias seguidos ou não de natação.



**FIGURA 33 - Carga no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e ratas submetidas à suspensão por 21 dias seguidos ou não de natação.**

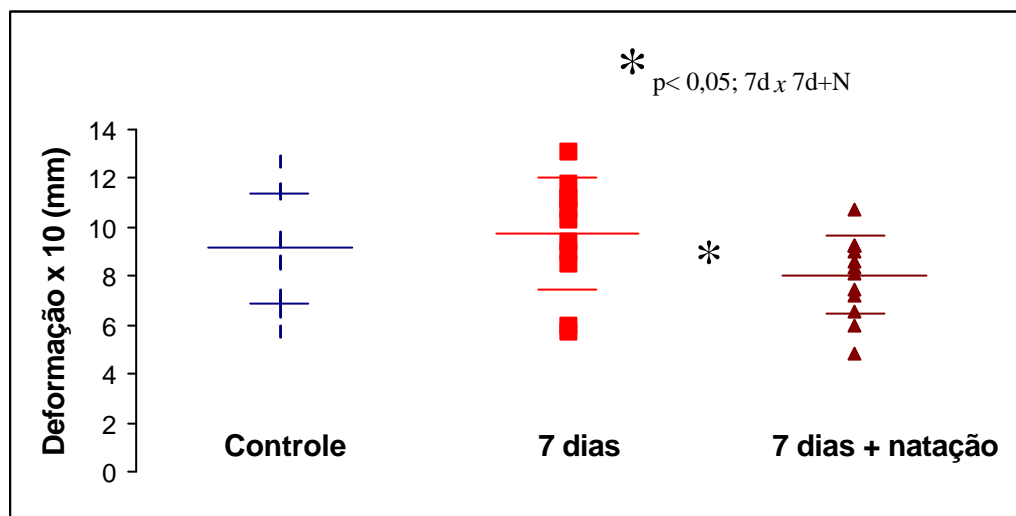
### 3.2.2.2 Deformação no limite de proporcionalidade

Os valores da deformação no limite de proporcionalidade dos animais submetidos ou não a natação, quando comparados com o grupo controle, não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

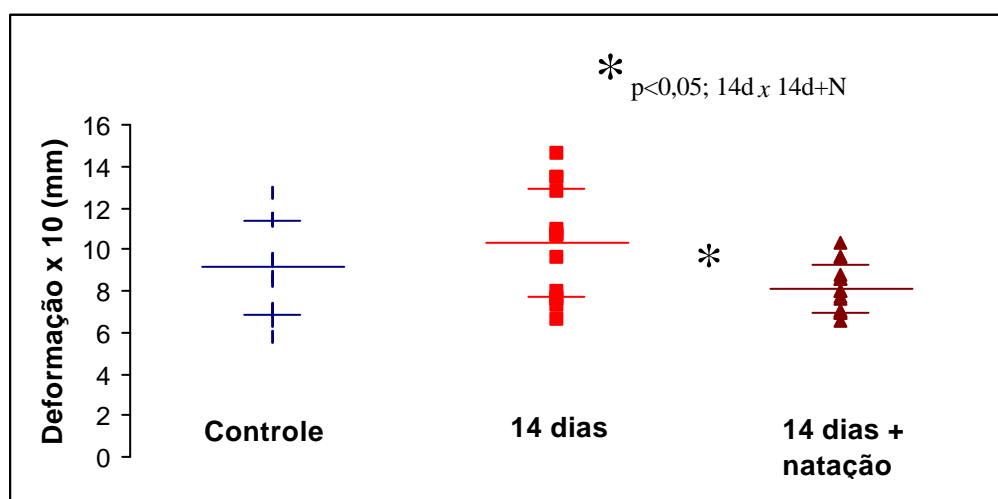


**FIGURA 34 - Deformação no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a diferentes períodos de suspensão. (Não há diferença estatística quando cada grupo é comparado com o controle).**

Comparando-se os grupos suspensos pelo mesmo tempo e submetidos ou não à natação, registrou-se menor deformação no limite de proporcionalidade nos animais submetidos à natação. Para os animais suspensos por 7 dias a significância estatística foi limítrofe com  $p=0,049$ , por 14 dias  $p=0,006$  e por 21 dias  $p=0,015$ . As Figuras 35, 36 e 37 apresentam essas relações.



**FIGURA 35 - Deformação no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e ratas submetidas à suspensão por 7 dias seguidos ou não de natação.**



**FIGURA 36 - Deformação no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e ratas submetidas à suspensão por 14 dias seguidos ou não de natação.**

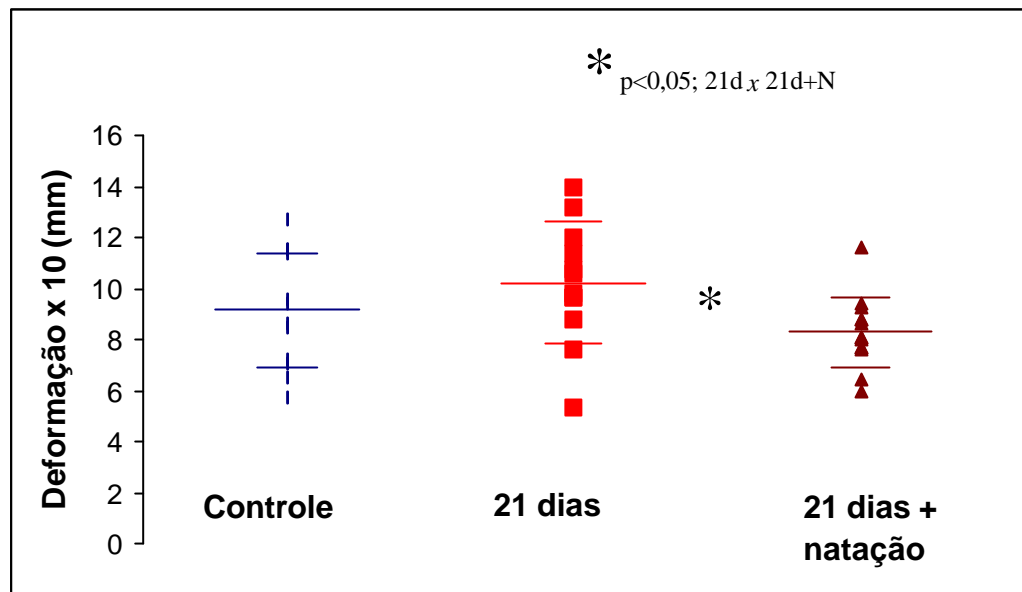


FIGURA 37 - Deformação no limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio de ratas controle e ratas submetidas à suspensão por 21 dias seguidos ou não de natação.

### 3.2.3 Limite máximo

A Tabela 3 apresenta os valores médios  $\pm$  desvio padrão da carga e deformação no limite máximo das ratas submetidas aos diferentes tratamentos.

**Tabela 3 - Valores médios  $\pm$  desvio padrão de carga e deformação no limite máximo segundo o tratamento dos animais**

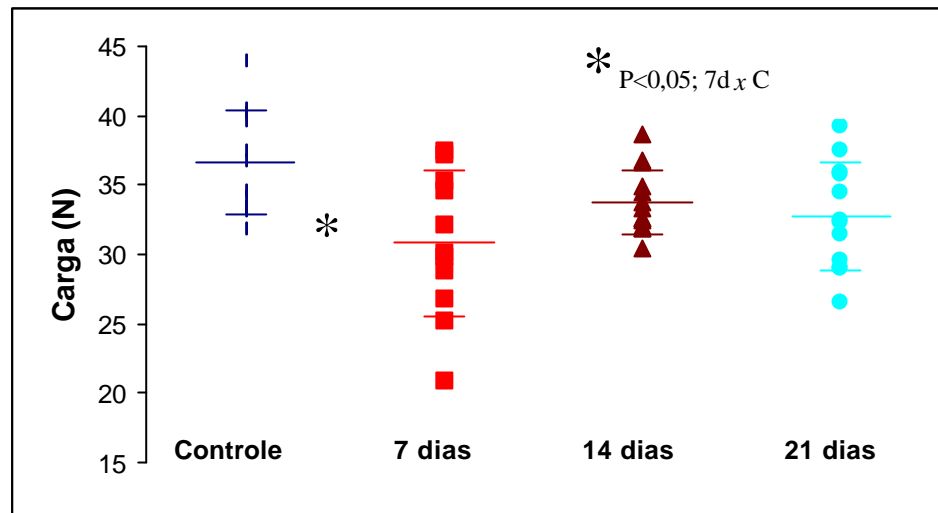
<b>Grupo de Estudo</b>	<b>Carga (N)</b>	<b>Deformação (<math>\times 10^{-3}</math>m)</b>
Controle	36,6 $\pm$ 3,8	12,7 $\pm$ 2,6
Suspensão		
7 dias	30,8 $\pm$ 5,2 <sup>a</sup>	14,6 $\pm$ 3,6
14 dias	33,7 $\pm$ 2,3	14,8 $\pm$ 3,1
21 dias	32,7 $\pm$ 3,9	14,8 $\pm$ 4,1
Suspensão seguida de 30 dias de natação		
7 dias	38,6 $\pm$ 4,4 <sup>b</sup>	12,7 $\pm$ 2,1
14 dias	37,1 $\pm$ 3,2 <sup>b</sup>	13,5 $\pm$ 1,5
21 dias	39,3 $\pm$ 5,3 <sup>b</sup>	13,2 $\pm$ 1,9

<sup>a</sup> Significativamente menor ( $p < 0,05$ ) quando comparado com controle.

<sup>b</sup> Significativamente maior ( $p < 0,05$ ) quando comparado ao não submetido à natação .

#### 3.2.3.1 Carga no limite máximo

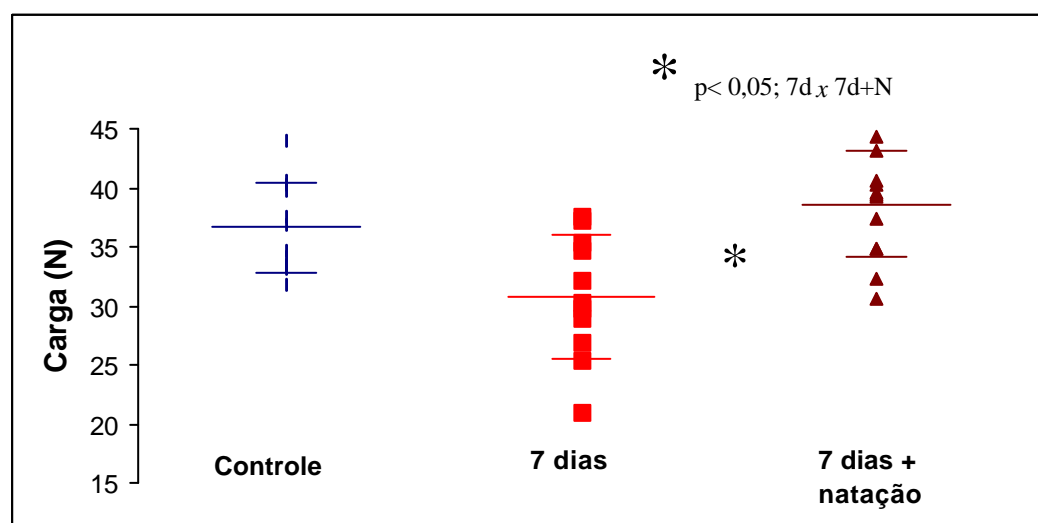
Comparando-se os animais que foram suspensos e não submetidos à natação com os controle, pode-se verificar que os grupos são diferentes (ANOVA,  $p = 0,007$ ). Pelo teste de múltiplas comparações de Tukey-Kramer verifica-se que os animais suspensos por 7 dias apresentam carga no limite máximo inferior ao controle ( $p < 0,001$ ). Esses valores estão representados na Figura 38.



**FIGURA 38** Carga no limite máximo de músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a diferentes períodos de suspensão, em relação ao controle.

Quanto aos ratos submetidos à natação não se detectou diferença, quando comparados com o grupo controle.

Comparando-se os animais que nadaram ou não e suspensos pelo mesmo período nota-se que os animais submetidos a 30 dias de natação apresentaram valores de carga no limite máximo significativamente maiores que os animais que não nadaram. A significância estatística foi  $p < 0,001$  para 7 dias,  $p = 0,003$  para 14 dias e  $p = 0,002$  para 21 dias. As Figuras 39, 40 e 41, respectivamente, apresentam esses valores.



**FIGURA 39** - Carga no limite máximo do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas à suspensão por 7 dias seguidos ou não de natação.

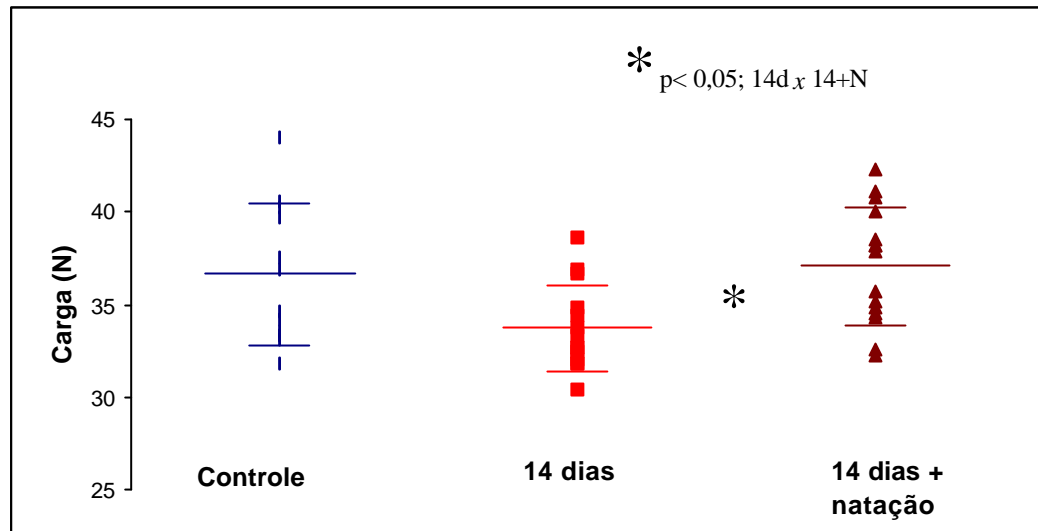


FIGURA 40 - Carga no limite máximo do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a suspensão por 14 dias seguidos ou não de natação.

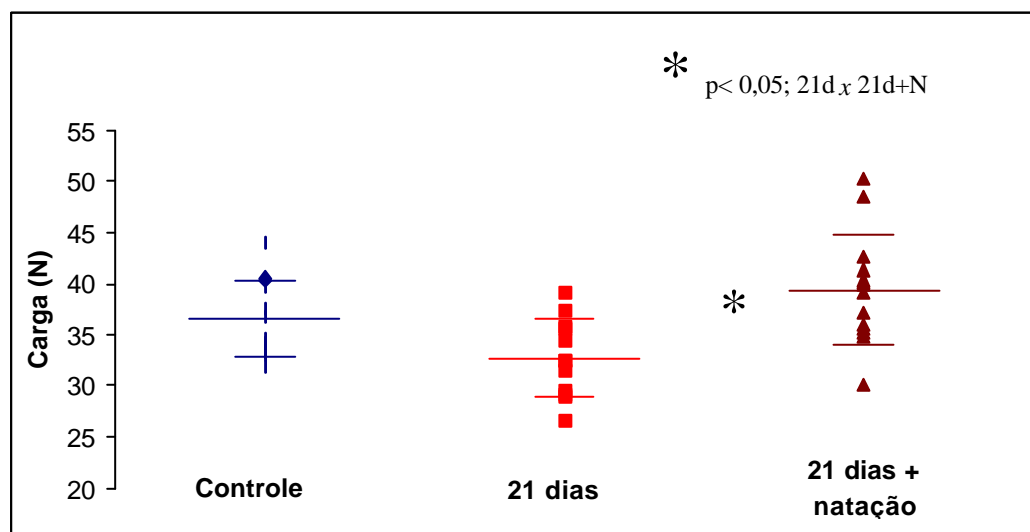


FIGURA 41 - Carga no limite máximo do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a suspensão por 21 dias seguidas ou não de natação.

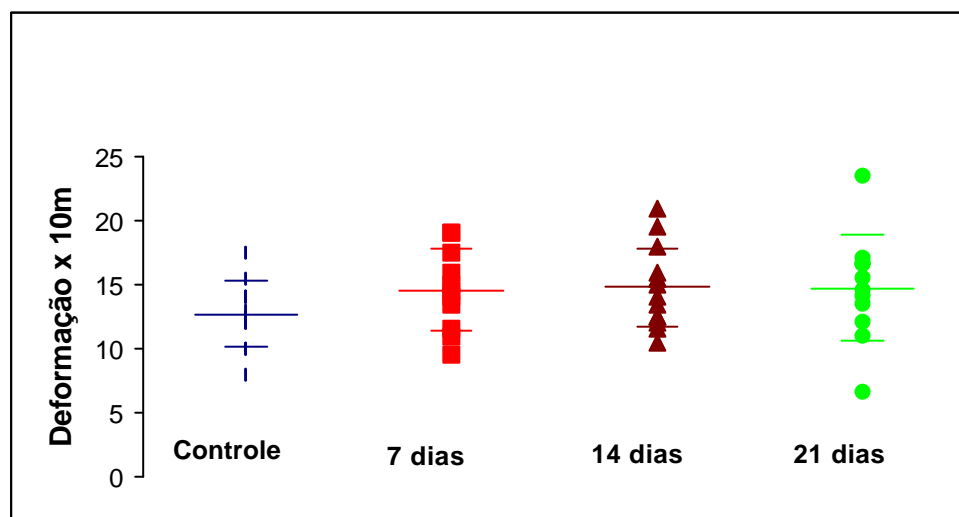


### 3.2.3.2 Deformação no limite máximo

Comparando-se os animais suspensos e submetidos ou não à natação com o grupo controle não se pôde verificar diferenças significantes entre os grupos.

Na comparação dos animais suspensos pelo mesmo período e submetidos ou não à natação pode-se verificar que as diferenças entre os grupos não atingiram significância estatística.

A Figura 42 apresenta os valores individuais obtidos com os músculos dos animais controles e suspensos por 7, 14 e 21 dias.



**FIGURA 42 - Deformação no limite máximo do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas a diferentes períodos de suspensão.**

### 3.2.4 Rigidez

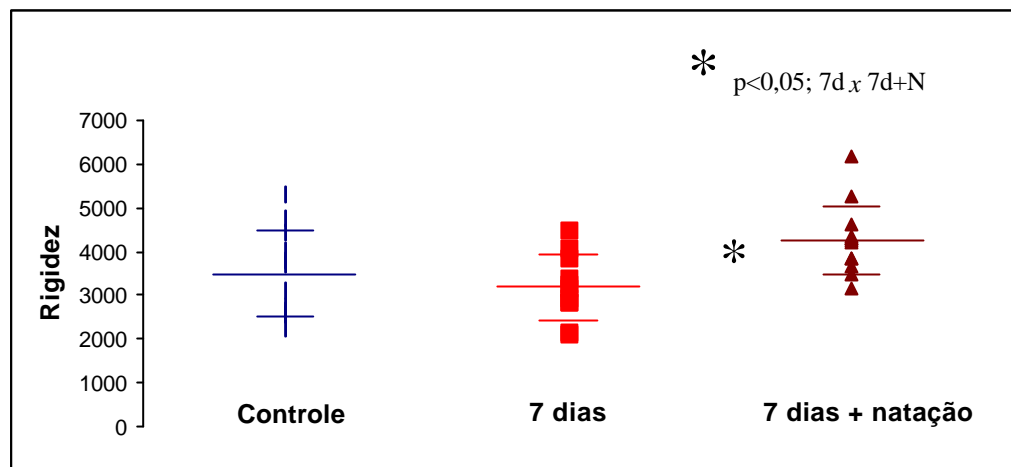
Como verificado na Tabela 4, a rigidez do músculo gastrocnêmio dos animais controle foi semelhante a dos suspensos não submetidos à natação. No entanto, a comparação dos animais controle com os submetidos à natação mostrou que a diferença entre os grupos atingiu o limite da significância estatística ( $p=0,054$ ).

**Tabela 4 - Valores médios  $\pm$  desvio padrão de rigidez segundo o tratamento dos animais**

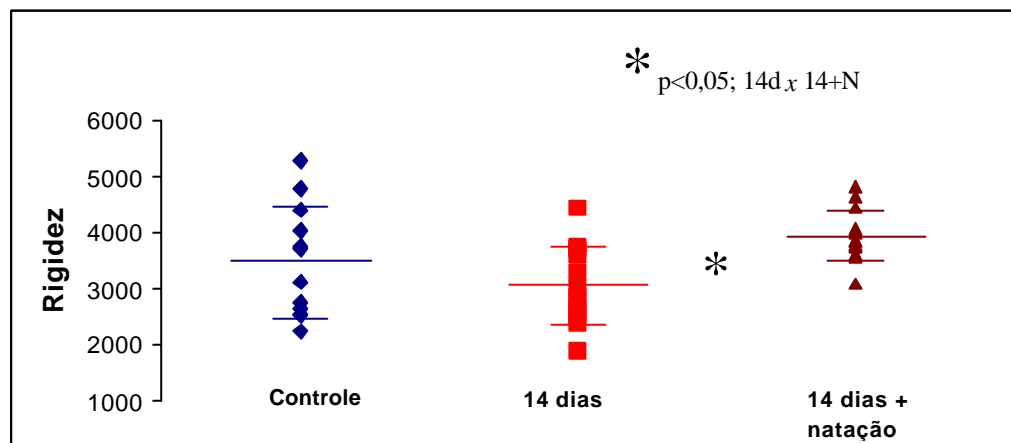
<b>Grupo de Estudo</b>	<b>Rigidez (<math>10^3</math> N/m)</b>
Controle	3490 $\pm$ 993
Suspensão	
7 dias	3186 $\pm$ 740
14 dias	3093 $\pm$ 694
21 dias	3343 $\pm$ 785
Suspensão seguida de 30 dias de natação	
7 dias	4266 $\pm$ 787 <sup>a</sup>
14 dias	3929 $\pm$ 439 <sup>a</sup>
21 dias	4085 $\pm$ 563 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Significativamente maior ( $p=0,05$ ) que os animais não submetidos à natação.

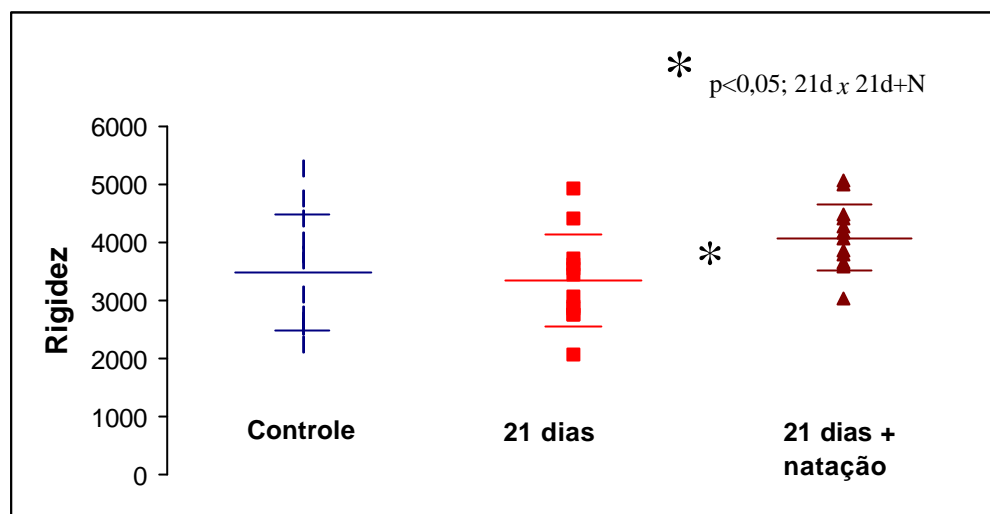
Comparando-se os animais suspensos pelo mesmo período e submetidos ou não à natação observa-se que, para todos os períodos de suspensão, os gastrocnêmios dos animais submetidos à natação apresentaram rigidez estatisticamente maior que os não exercitados. A significância estatística foi respectivamente  $p=0,002$  para os suspensos por 7 dias,  $p < 0,001$  para 14 dias e  $p=0,01$  para 21 dias de suspensão. As Figuras 43, 44 e 45 apresentam esses valores.



**FIGURA 43 - Rigidez do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas à suspensão por 7 dias seguidos ou não de natação.**



**FIGURA 44 - Rigidez do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas à suspensão por 14 dias seguidos ou não de natação.**



**FIGURA 45 - Rigidez do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas à suspensão por 21 dias seguidos ou não de natação.**

## **4 DISCUSSÃO**

O grande interesse despertado pelos efeitos da hipoatividade no corpo humano refletiu-se na maior quantidade de conhecimento produzido visando a melhor compreender como os vôos espaciais afetam o organismo. Esses resultados, gerados a partir de dados obtidos durante os vôos e em modelos experimentais, principalmente a partir de estudos animais, estão provendo informações que trarão melhor entendimento da função muscular, no espaço e na terra. Além disso, os estudos poderão oferecer evidências importantes de como programar procedimentos corretivos apropriados, seja em termos de dietas, seja em termos de exercícios, visando a garantir a manutenção da saúde do astronauta.

Muitos investigadores, para produzirem atrofia por desuso ou não neurogênica, utilizam como modelo experimental a imobilidade por meio do engessamento bilateral dos membros posteriores de animais (HOLLOSZY e BOOTH, 1976; BOOTH e SEIDER, 1979; CARVALHO, 2001; FRATESCHI, 2002) ou por sistema de fixação rígida das articulações por pinos (FISHBACK e ROBBINS, 1969, MAX, 1972). Esses métodos são apropriados para a investigação inicial das bases fisiológicas da profunda adaptação muscular que ocorre no paciente ortopédico imobilizado. No entanto, eles não fornecem informações que possam descrever os mecanismos da adaptação fisiológica dos pacientes cujo nível de mobilidade ou de aplicação do peso foram menos comprometidos.

Modelos animais de hipoatividade como suspensão dos membros posteriores são importantes nos estudos das atrofias por desuso, já que permitem movimentos, porém sem a ação do peso ou impulsos contra resistência. Um grande número de sistemas de suspensão foi desenvolvido visando a simular um ambiente de decréscimo de gravidade (MUSACCHIA et al., 1980; MOREY-HOLTON e WRONSKI, 1981; KASPER; WHITE; MAXWELL, 1990).

Existem dois sistemas mais comumente utilizados; a) O sistema de suspensão do corpo com o emprego de arreios e b) o sistema de suspensão pelo cauda. O sistema de suspensão com arreio eleva o animal apoiando-o num suporte de tecido que envolve o corpo e permite a saída da cabeça e membros por orifícios. (MUSACCHIA et al. 1980; KASPER; WHITE; MAXWELL, 1990). Este sistema é preso a uma placa de alumínio que permanece no dorso do animal. Esta unidade é conectada a um sistema de roldanas que permite que o animal use seus membros anteriores para se mover pela gaiola. No entanto, o dorso e a amplitude de movimentação dos membros ficam restritos.

Um sistema ideal de impedimento da mobilidade física deveria mimetizar a restrição ao leito, diminuir a pressão do peso e permitir a movimentação relativamente irrestrita do dorso e dos membros. Para atingir esses objetivos, Kasper et al.(1993) modificaram o sistema de suspensão dos membros posteriores desenvolvido por Morey para promover atrofia muscular. Esse método foi escolhido para realizar o presente estudo devido a sua capacidade em simular as principais características da imobilização física que são: a) falta de apoio, porém com movimentos livres dos membros posteriores; b) capacidade de manter hábitos como comer, beber e c) capacidade de se movimentar por todo o ambiente.

Modelos de suspensão como o utilizado no presente estudo são importantes para o estudo da atrofia de desuso, já que eles se aproximam da limitação de movimentos que sofrem pessoas restritas à cama ou com as atividades limitadas (MUSACCHIA et al. 1980; MOREY-HOLTON e WRONSKI, 1981; FITTS et al. 1986). Mais importante, ainda, foi utilizar um modelo que, apesar de desenvolver atrofia, manteve os animais em condições sadias, o que permitiu a realização de exercícios para a recuperação. Outros métodos de imobilização ou suspensão dos membros traseiros causam lesões secundárias como as decorrentes da retirada cirúrgica dos pinos (JASPER e TISCHLER, 1984), anéis (MOREY-HOLTON e WRONSKI,

1981), úlceras de decúbito nas áreas de engessamento ou em outras regiões, (MUSACCHIA; STEFFAN; DEEVERS, 1981) .

No presente estudo, a fim de que se pudesse fazer as avaliações propostas, foram constituídos 7 grupos de animais; o grupo controle, 3 grupos submetidos à suspensão por 7, 14 e 21 dias e outros 3 grupos de ratas, também submetidos à suspensão por 7, 14 e 21 dias, porém seguidos de período de natação de 30 dias.

O primeiro problema prático na constituição desses grupos foi garantir certa uniformidade do tamanho dos ratos, já que houve variação no período de observação dos animais, que variou de 1 dia no grupo controle a 51 dias no grupo suspenso por 21 dias seguidos de 30 dias de natação. Para minimizar a diferença de tamanho decorrente do período de observação cuidou-se para que os animais avaliados fossem adulto-jovens. Desta forma, foi planejado que os 91 animais estudados possuíssem peso inicial dentro do previsto, ou seja, entre 200 e 300g como pode ser verificado na Tabela 1.

A evolução do peso dos animais durante a suspensão teve um comportamento peculiar. Após 7 e 14 dias de suspensão os animais apresentaram perda de peso estatisticamente significativa. No entanto, após 21 dias de suspensão a queda do peso não foi relevante.

Pode-se aventar algumas possibilidades para explicar a perda de peso dos animais, uma delas seria que a perda de peso foi decorrente de atrofia muscular (FITTS; RILLEY; WIDRICK, 2000). Está bem demonstrado que a suspensão dos animais retirando o peso dos membros causa atrofia, diminuição da capacidade funcional, e aumento da fadiga dos músculos dos membros, com a maior alteração observada nos músculos antigravitacionais como o sóleo (RILEY et al., 1987; CAIOZZO et al.,1994; WIDRICK et al., 1999). Atrofia suficiente para causar perda de peso só é verificada depois de semanas. O engessamento do tornozelo em flexão dorsal causou o alongamento transitório do gastrocnêmio, porém sem

diferença no peso comparado ao controle após 8 dias; subseqüentemente o peso diminuiu de forma exponencial. Engessamento do tornozelo em flexão plantar causou atrofia após 3 dias. Outros estudos usando pinos nos tornozelos ou nos joelhos para imobilizar as patas posteriores em posição perto daquela de repouso causaram atrofia no gastrocnêmio de cobaias após 4 semanas (MAIER et al., 1976) e após 6 meses em primatas (EDGERTON et al., 1975). No entanto, esses estudos referem-se à perda de peso do músculo avaliado e não do animal como um todo. Em nosso modelo não pesamos o músculo porque ele não ficava isolado, mas sim preso aos cêndilos femorais e a pata.

Outra possibilidade a se ponderar é que a perda de peso apresentada foi decorrente de adaptação das ratas ao sistema de suspensão. O sistema utilizado permite ampla movimentação do animal pela gaiola, mantendo seus hábitos básicos de alimentação e exploração noturnos. Ao se retirar a suspensão não houve evidência de lesão da pele, que poderia trazer desconforto aos animais. Kasper et al., (1993) relataram que, após 28 dias de suspensão em sistema semelhante ao empregado no presente estudo, os animais estavam 16% menos pesados que os controles. Os autores justificam a perda de peso como adaptação dos animais. A perda apresentada pelos animais do presente estudo, apesar de significativa, foi de apenas 5% aos 7 dias e 4% aos 14 dias. O que se depreende da literatura é que a perda de peso detectada nos animais do presente estudo, provavelmente, foi devida à adaptação ao sistema de suspensão utilizado.

Para se avaliar o grau de comprometimento muscular foi utilizado o ensaio de tração, em que foram obtidas cinco propriedades mecânicas: carga e deformação no limite da proporcionalidade, carga e deformação máxima, e rigidez, que foram comparadas entre os diferentes grupos submetidos à suspensão e um grupo controle.

Um dado metodológico que merece destaque é que, no presente estudo, optamos por avaliar somente os músculos cuja ruptura se deu no ventre muscular. Järvinen (1976) relatou,



em estudo de tração do gastrocnêmio, que a ruptura ocorreu no ventre muscular em 94% dos seus casos. Da mesma forma, no presente estudo, houve poucas rupturas nos pontos de inserção óssea. Pela eventualidade do ocorrido e possibilidade de que a ruptura fora do ventre muscular possa estar ocorrendo por problemas técnicos, optamos por não analisar esses casos. Essa é uma explicação para o número variável de animais entre os grupos estudados.

A carga necessária para atingir o limite da proporcionalidade do músculo gastrocnêmio foi menor nos animais suspensos por 7 e 21 dias, quando comparados com os controles. No entanto, após 14 dias de suspensão não se detectou diferença alguma. A deformação apresentada pelo músculo com a aplicação dessa carga não diferiu do grupo controle. A carga necessária para atingir o limite máximo foi menor aos 7 dias quando comparado com o controle, porém aos 14 e 21 dias não se encontrou diferença. A deformação detectada à aplicação da carga máxima foi semelhante no músculo dos animais submetidos à suspensão e dos controles. A rigidez calculada para os gastrocnêmios dos animais controle foi semelhante a dos animais suspensos. Esses dados nos oferecem indicação de que a alteração apresentada pelo músculo gastrocnêmio após a suspensão não foi muito grande, já que não apresentou um padrão de piora gradual do desempenho muscular diretamente proporcional ao tempo de suspensão.

Esses resultados podem ser justificados pelas informações disponíveis na literatura.

O impedimento da mobilidade pode alterar de maneira diferente os diversos tipos musculares. A maioria dos músculos dos mamíferos pode ser caracterizada como músculos de ação rápida ou lenta. A diferença entre as velocidades de contração é função da especificidade da população de fibras que o músculo é composto. Cada fibra muscular esquelética (tipo I, tipo IIa e tipo IIb) tem propriedades bioquímicas e fisiológicas peculiares e, portanto, reagem diferentemente às agressões (CLOSE, 1967; BROOKE e KAISER, 1970).

Músculos de contração rápida ou lenta são desenhados para diferentes funções. Os músculos lentos são para o suporte postural e suporte do peso, enquanto que os músculos rápidos são para a movimentação rápida e mais precisa. Músculos com predominância de fibras de contratilidade lenta (tipo I), como o sóleo atrofiam mais intensamente que os músculos com fibras de contração rápida (tipo II), quando submetidos à ausência da ação do peso (KASPER et al.,1993).

O músculo utilizado neste estudo foi o gastrocnêmio, em face de sua localização e função, além de apresentar a vantagem de poder ser avaliado por testes de tração, pois preservando-se as origens e inserção ósseas, fica facilitada a fixação à máquina para a realização do ensaio.

Geralmente, em muitos esportes, esse músculo trabalha sob condições de atividade física extrema, tendo risco aumentado para lesões e rupturas e o tratamento requer períodos variáveis de imobilização (JÄRVINEN;VIRTANEN; EINOLA, 1992). No músculo gastrocnêmio cerca de metade de suas fibras são de características rápidas (JOHNSON et al.,1973). Dessa forma, a composição muscular mista do gastrocnêmio o torna peculiar e muito interessante de ser analisada e, provavelmente, o torna menos susceptível à atrofia causada por redução do suporte de peso. O mesmo não ocorre quando o músculo é totalmente imobilizado. Após imobilização por gesso, houve grande atrofia de todos os músculos, independente do tipo de fibras. A perda foi similar no sóleo, gastrocnêmio e plantar, com maior perda de proteína da miofibrila que do sarcoplasma (HERBISON; JAWEED; DITUNNO, 1978; CARVALHO, 2001).

Stevens; Mounier; Holly, (1993) estudaram humanos adultos antes e após 14 dias de vôo espacial e Gardetto; Schluter; Fitts, (1989) avaliaram ratos em suspensão pelos membros posteriores pelo mesmo período. Encontraram que a atrofia e perda do pico de força ativada pelo  $Ca^{+2}$  eram maiores nas fibras lentas tipo I do sóleo que nas fibras rápidas tipo II do

gastrocnêmio. O vôo espacial não causou efeito no músculo extensor longo dos dedos do pé. Dados semelhantes foram encontrados por Widrick et al., (2001), cujo estudo teve o propósito de avaliar os efeitos de vôo espacial de 17 dias nas propriedades contráteis de fibras individuais rápidas e lentas isoladas do gastrocnêmio de quatro astronautas. Fibras isoladas quimicamente foram estudadas durante a contração máxima ativada pelo  $Ca^{+2}$  com a expressão da isoforma da cadeia pesada da miosina da fibra determinada por eletroforese em gel. Os resultados mostraram que 1) as fibras rápidas e lentas do gastrocnêmio apresentaram pequena atrofia e perda de força, mas aumento de velocidade depois dos 17 dias de exposição à microgravidade 2) houve grande variação entre os quatro astronautas, que por sua vez, apresentaram grande variabilidade de atividades durante o vôo 3) a atrofia do gastrocnêmio foi muito menor que a do sóleo (WIDRICK et al., 2001).

As propriedades funcionais das fibras tipo I do gastrocnêmio foram menos afetadas durante o vôo espacial que as fibras tipo I do sóleo do mesmo astronauta (WIDRICK et al., 1999). Isto indica que a localização anatômica das células musculares e não somente a expressão da isoforma da cadeia pesada de miosina da fibra possa ser determinante importante da resposta celular durante uma viagem espacial. Consistente com os resultados desses estudos prévios, TEMPLETON et al., (1984), utilizando o sistema de Morey para a simulação anti-gravitacional, não encontraram perda significativa do peso seco do gastrocnêmio após duas semanas de suspensão, porém ficou evidente a diminuição do diâmetro das fibras do gastrocnêmio no exame histoquímico em alguns ratos suspensos por duas a quatro semanas (TEMPLETON et al., a, 1984)

Hoje sabe-se que a resposta atrófica ocorre de forma rápida em ambiente de microgravidade, com redução na massa do sóleo de rato em até 37% em 4 a 7 dias (MARTIN; EDGERTON; GRINDELAND, 1988; DESPLANCHES et al., 1990; JIANG et al., 1993). Em ratos tem sido sistematicamente observado que os músculos lentos antigravitacionais

como o sóleo e abdutor longo atrofiam mais que os músculos primariamente rápidos e os extensores são mais afetados que os flexores. Por exemplo, a fibra lenta tipo I apresenta mais atrofia induzida por vôo espacial que a fibra rápida tipo II e fibras dos músculos extensores são mais afetadas que as dos flexores, em animais. Diversos autores avaliaram, em animais, o tamanho das fibras do sóleo, gastrocnêmio medial e tibial anterior depois de 14 dias em viagem espacial (Cosmos 2044) (JIANG et al., 1992; OHIRA et al., 1992). As fibras lentas tipo I dos músculos extensores apresentaram o maior grau de atrofia, com o sóleo apresentando mais atrofia que o gastrocnêmio.

Depois de um vôo espacial de 4,5 dias (“Space Transport System-48”) o peso dos músculos sóleo, plantar e gastrocnêmio diminuíram de 38, 24 e 16%, respectivamente, enquanto que o tibial anterior e extensor comum dos dedos não apresentaram alterações. Nesse mesmo estudo em ratos demonstrou-se que a atrofia muscular foi associada a um aumento do volume de fluido intersticial (HENRIKSEN et al., 1993).

Dessa forma, na investigação, o fato do gastrocnêmio não ter sido muito afetado durante a suspensão está perfeitamente de acordo com as informações encontradas na literatura e com o fato do sistema de suspensão permitir a movimentação constante dos músculos flexores.

## RECUPERAÇÃO

Além de estudar o músculo gastrocnêmio dos animais submetidos à suspensão, avaliou-se a resposta muscular após um programa de recuperação. Após o período de suspensão os animais foram submetidos a períodos de natação por uma hora, sem resistência extra, durante 30 dias.

Diversos autores ofereceram evidências convincentes que, em ratos, períodos curtos de exercícios distribuídos durante o dia são mais eficazes que um longo treino diário. Por

exemplo, um programa de suspensão de 7 dias, intervalos de 10 minutos, 4 vezes ao dia, em que o animal ficou apoiado nos membros e andou lentamente numa esteira foi capaz de manter a massa do sóleo próxima do normal (D'AUNNO et al., 1992; WIDRICK et al., 1996; HERBERT et al., 1988). Os dados de WIDRICK et al (1996) indicam que isso é especialmente válido para pequenos períodos de suspensão de até 7 dias. Quando a suspensão foi prolongada por 14 dias, o mesmo regime de treino foi capaz de reduzir a perda muscular do sóleo em 22%, e atenuou as alterações no diâmetro das fibras tipo I e a força máxima, respectivamente, em 36% e 29%. Claramente, o protocolo simples e intermitente foi menos efetivo na recuperação de 14 dias que 7 dias de suspensão. Em ratos, a atrofia muscular nos primeiros 7 dias de suspensão é primordialmente causada por diminuição de síntese protéica, enquanto que a degeneração das miofibrilas não atinge seu máximo até 9 a 15 dias (THOMASON et al., 1989). Talvez o protocolo de ficar em pé intermitentemente seja mais efetivo em prevenir o declínio da síntese protéica do que em reduzir a degradação.

NORMAN et al. (2000) aplicaram, em ratos, exercícios de 60 min na esteira por 3 dias com um dia de descanso, durante o período de suspensão. Essa abordagem fez com que a massa muscular dos animais fosse significativamente maior que a dos suspensos sem treino, mas não chegou a igualar a dos controles. Esses achados são muito parecidos com outros relatos (BALDWIN et al., 1977; KLITGAARD et al., 1988; WONG e BOOTH, 1988)

O único exercício padrão que se sabe ser capaz de induzir hipertrofia das fibras musculares é o treino com resistência de peso (FITTS; RILEY; WIDRICK, 2000). Permanecer de pé por 10 minutos com exercício de resistência intermitente (dez degraus de 15 cm com peso de 500g, a um degrau /min) 4 vezes ao dia, foi mais efetivo em prevenir atrofia das fibras do que somente ficar de pé (WIDRICK e FITTS, 1997).

Para proteger tanto os músculos de ação lenta como rápida, as medidas preventivas devem conter exercícios de alta resistência que utilizem contrações isométricas e isotônicas.

Além disso, as contrações excêntricas também se mostraram úteis para prevenir a atrofia muscular, porém aumentam a possibilidade de lesão das fibras. Assim, qualquer programa que utilize contrações excêntricas deve ser programado cuidadosamente para maximizar os efeitos anabólicos, enquanto previne a lesão das fibras (FITTS; RILEY; WIDRICK, 2000). Dessa forma, sugere-se que o “programa ideal” deva incluir contrações isométricas assim como exercícios isotônicos (concêntricos e excêntricos) e dados, tanto em ratos como em humanos, indicam os exercícios de alta intensidade como a modalidade de escolha para a proteção da estrutura muscular e função dos membros (FITTS; RILEY; WIDRICK, 2000)

Todos esses estudos apresentados visavam a desenvolver programas que prevenissem a atrofia muscular. A questão avaliada no presente estudo foi se um programa de exercícios intensos aeróbicos, quando aplicado após a ocorrência da atrofia, seria capaz de recuperar o músculo gastrocnêmio. O programa empregado nesse estudo levou a resultados bastante satisfatórios. No período de 30 dias de treinamento os animais apresentaram ganho de peso em relação ao término da suspensão. Esse fato sugere que o esforço desempenhado pelos animais não foi exagerado, pois não comprometeu seu estado geral.

Em termos da recuperação muscular, desde que não fossem grandes as alterações decorrentes da suspensão, evidentemente não era de se esperar ganhos muito significativos no desempenho muscular.

No entanto, ainda assim foram notadas diferenças significativas. A carga necessária para atingir o limite de proporcionalidade aumentou após o período de natação para todos os períodos de suspensão, atingindo significância estatística para o período de 7 e 21 dias. Deve-se ressaltar que foram exatamente os gastrocnêmios desses dois grupos de animais que apresentaram pior desempenho após a suspensão quando não passaram pelo período de natação. A natação tornou os músculos menos deformáveis com a carga no limite da proporcionalidade para todos períodos de suspensão. Em termos da carga necessária para

atingir o limite máximo de deformação, os animais submetidos ao programa de natação apresentaram significativo aumento, quando comparados aos suspensos pelo mesmo período. A deformação no limite máximo não apresentou diferença entre os grupos, mas a rigidez foi maior para todos os grupos de animais submetidos à natação.

Como o desempenho aos testes de tração dos músculos gastrocnêmios dos animais submetidos ao programa de recuperação não diferiram dos animais controle, entende-se que as diferenças encontradas quando esses animais foram comparados com os animais não submetidos a treinamento são decorrentes da recuperação muscular e não de hipertrofia muscular.

A literatura apresenta alguns dados sobre a capacidade de recuperação muscular após atrofia, porém decorrentes de imobilização total que, como já demonstrado, acarreta comprometimentos muito maiores que os observados no presente estudo.

Witzman; Kim; Fitts (1982), após imobilização por 6 semanas com engessamento dos membros posteriores demonstram que, tanto os músculos de contração rápida, como os lentos conseguiram recuperar suas características contráteis. A recuperação ocorreu em períodos variáveis. Booth e Seider (1979), em seu estudo, indicam que, após a atrofia muscular obtida por 90 dias de imobilização dos membros, vários índices bioquímicos e fisiológicos podem ser recuperados. O tempo de recuperação, no entanto, varia de acordo com o índice. Assim, as concentrações de ATP, glicogênio e proteína se recuperaram em 60 dias após imobilização, enquanto que o peso e conteúdo protéico do solear já se recuperavam em 14 dias e em contraste a tensão isométrica máxima levou 120 dias para se recuperar.

A franca recuperação demonstrada em nossos animais em 30 dias, sugere, que o comprometimento muscular decorrente da suspensão seja muito menor que o devido à imobilização total por gesso.

Finalmente, ressaltamos que a avaliação na presente investigação limita-se aos aspectos de resistência de material e estrutura. Seria interessante também estudar o músculo do ponto de vista fisiológico avaliando-o, por exemplo, com o registro da contratilidade, por estimulação direta no corpo muscular ou pelo nervo.



## 5 CONCLUSÕES

- 1- O sistema de suspensão utilizado não causou comprometimento físico geral importante dos animais, já que eles apresentaram discreta perda de peso e foram capazes de cumprir o programa de recuperação ulterior.
- 2- O sistema de suspensão utilizado foi adequado para promover a atrofia do gastrocnêmio e diminuir sua resistência mecânica.
- 3- O programa de recuperação por natação foi capaz de reverter as alterações mecânicas encontradas no gastrocnêmio dos animais suspensos.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN,D.L.; LINDERMAN,J.K.; ROY,R.R.; GRINDELAND, R.E.; MUKKU,V.; EDGERTON,V.R.; Growth hormone/IGF-I and/or resistive exercise maintains myonuclear number in hindlimb- unweighted muscles.; **J. Appl. Physiol.**, v. 83, p. 1857-1861, 1997.

ALENN,D.L.; ROY,R.R.; EDGERTON,V.R.; Myonuclear domains in muscle adaptation and disease. **Muscle Nerve**, v. 22, p. 1350-1360, 1999.

ALLEN,D.L.;YASSUI,W.; TANAKA,T.; OHIRA,Y.; NAGAOKA,S.; SEKIGUCHI,C.; HINDS,W.E.; ROY,R.R.; EDGERTON,V.R.; Myonuclear number and myosin heavy chain expression in rat soleus single muscle fibers after spaceflight. **J. Appl. Physiol.**, v. 81, p. 145-151, 1996.

ANDERSON,J.E.; Studies of the dynamics of skeletal muscle regeneration: the mouse came back! **Biochem. Cell Biol.**, v. 76, p. 13-26, 1998.

BALDWIN, K.M., Examining the effects of space flight on the muscles. 2001. Disponível em: <http://www.nsbri.org/humanphysiologyospace>. Acesso em: 20/05/2001.

BALDWIN,K.M.; CHEADLE,W.G.; MARTINEZ,O.M.; COOKED,A., Effect of functional overload on enzyme levels in different types of skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 42, p. 312-317, 1977.

BISCHOFF; Interaction between satellite cells and skeletal muscle fibers. **Development.**, v. 109, p. 943-952, 1990.

BOOTH, F.W.; Time course of muscular atrophy during immobilization of hindlimb in rats. **J. Appl. Physiol.**, v. 43, p. 656- 661, 1977.

BOOTH,F.W.; GORDON,S.E.; CARLSON,C.J.; HAMILTON,M.T.; Waging war on modern chronic diseases: primary prevention through exercise biology. **J. Appl. Physiol.**, v. 88, p. 774-787, 2000.

BOOTH,F.W.; KELSO,J.R.; Effect of hindlimb immobilization on contractile and histochemical properties of skeletal muscle. **Plügers Arch.**, v. 342, p. 231- 238, 1973.

BOOTH,F.W.; SEIDER,M.J.; recovery of skeletal muscle after 3 months of hindlimb immobilization in rats. **J. Appl. Physiol.**, v. 47, p. 435-439, 1979.

BROOKE, M.H.; KAYSER,K.K.; Muscle fiber types: How many and what kind?. **Arch. Neurol.**, v. 23, p. 369-379, 1970

CAIOZZO,V.J.; BAKER,M.J.; HERRICK, R.E.; TAO,M.; BALDWIN,K.M.; Effect of spaceflight on skeletal muscle: mechanical properties and myosin isoform content of a slow muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 76, p. 1764-1773, 1994.

CARVALHO, C.M.M.; **Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético.** Dissertação de mestrado em Bioengenharia., Interunidades- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Escola de Engenharia de São Carlos/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2001.

CHANG,Y.H.; HUANG,C.M.; HAMERSKI,H.W.; KRAM,R.; The independent effects of gravity and inertia on running mechanics. **J. Exp. Biol.**, v. 203, p. 229-238, 2000

CHANG,Y.H.;KRAM,R.; Metabolic cost of generating horizontal forces during human running. **J. Appl. Physiol.**, v. 86 p. 1657-1662, 1999.

CHEEK,D.B.; The control of cell mass and replication. DNA unit a personal 20-year study. **Early Hum. Dev.**, v. 12 p. 211-239, 1985.

CHIAVERINI,V.; Tecnologia mecânica. vol. 1 . São Paulo, Mcgraw-Hill do Brasil, p. 67-88, 1977.

CHUI, L.A.; CASTLEMAN, K.R.; Morphometric analysis of rat muscle fibers following space flight and hypogravity. **Physiologist**, v. 23, p. S76-78, 1980. Supplement.

CLOSE, R.; Properties of motor units in fast and slow skeletal muscle of the rat. **J. Physiol.**, v. 193, p. 45-55, 1967.

DARR, K.C.; SCHULTZ, E.; Hindlimb suspension suppresses muscle growth and satellite cell proliferation. **J. Appl. Physiol.**, v. 67, p. 1827-1834, 1989

D'AUNNO, D.S.; ROBINSON, R.R.; SMITH, G.S.; THOMASON, D.S.; BOOTH, F.W.; Intermittent acceleration as a countermeasure to soleus muscle atrophy. **J. Appl. Physiol.**, v. 72, p. 428-433, 1992.

DE-DONCKER, L.; PICQUET, F.; FALEMPIN, M.; Effects of cutaneous receptor stimulation on muscular atrophy developed in hindlimb unloading condition. **J. Appl. Physiol.**, v. 89, p. 2344-2351, 2000.

DESPLANCHES, D.; MAYET, M.H.; ILYINA-KAKUEVA, E.I.; SEMPORE, B.; FLANDROIS, R.; Skeletal muscle adaptation in rats flown on Cosmos 1667. **J. Appl. Physiol.**, v. 68, p. 48-52, 1990.

EDGERTON, V.R.; ALLEN, D.L.; LINDERMAN, J.K.; ROY, R.R.; BIGBEE, A.J.; GRINDELAND, R.E.; MUKKU, VENKAT.; Apoptosis: a mechanism contributing to remodeling of skeletal muscle in response to hindlimb unweighting. **Am. J. Physiol.** v. 273, p. C 579-C587, 1997.

EDGERTON, V.R.; BARNARD, R.J.; PETER, J.B.; MAIER, A.; SIMPSON, D.R.; Properties of immobilized hind-limb muscles of the Galago senegalensis. **Exp. Neurol.**, v. 46, p. 115-131, 1975.

EDGERTON, V.R.; ROY, R.R.; Physiology of a microgravity environment. Invited review: Gravitational biology of the neuromotor systems: a perspective to the next era. **J. Appl. Physiol.**, v. 89, p. 1224-1231, 2000

FAULKNER,J.A.; NIEMEYER,J.H.; MAXWELL,L.C.; WHITE,T.P.; Contractile properties of transplanted extensor digitorum longus muscle of the cat. **J. Appl. Physiol.**, v. 238, p. C120-C126, 1980.

FERRARI,G.; CUSELLA-DE ANGELIS,G.; COLETTA,M.; PAOLUCCI E.; STORNAIUOLO,A; COSSU,G; MAVILIO,F.; Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. **Science**, v. 279, p. 1528-1530, 1998.

FISHBACK,G.D.; ROBBINS,N.; Changes in contractile properties of disused soleus muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 201, p. 305-320, 1969.

FITTS,R.H.; METZGER,J.M.; RILEY,D.A.; UNSWORTH,B.R.; Models of disuse: a comparison of hindlimb suspension and immobilization. **J. Appl. Physiol.**, v. 60, p. 1946-1953, 1986.

FITTS,R.H.; RILEY,D.R.; WIDRICK,J.J.; Physiology of a microgravity environment invited review: microgravity and skeletal muscle. **J Appl. Physiol.**, v. 89, p. 823-839, 2000.

FRATESCHI,M.E.B.J.M.; **Efeitos da imobilização e remobilização em algumas propriedades mecânicas do osso.** Dissertação de mestrado em Bioengenharia, inter-unidades. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Escola de Engenharia de São Carlos/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2002.

GARDETTO,P.R.; SCHLUTER,J.M.;FITTS,R.H.; Contractile function of single muscle fiber after hindlimb suspension. **J. Appl. Physiol.**, v. 66, p. 2739-2749, 1989.

GOULD III,J.; A. Biomecânica básica na terapia esportiva e ortopédica. In: **Fisioterapia na ortopedia e na medicina do esporte.** São Paulo: Manole, p. 65-63. 1993.

GRAFSTEIN,B.; FORMAN,D.S.; Intracellular transport in neurons. **Physiol. Rev.**, v. 60, p. 1167, 1980.

GRINDELAND,R.E.; ROY,R.R.; EDGERTON,V.R.;GROSSMAN,E.J.; MUKKU,V.R.; JIANG,B.;PIEROTTI,D.J.; RUDOLPH,I; Interactive effects of growth hormone and exercise on muscles mass in suspended rats. **Am. J. Physiol.**, v. 267, p. R316-R322, 1994.

GUTH,L.; Trophic influences of nerve on muscle. **Physiol. Rev.**, v. 48. p. 645, 1980.

GUTH,L; SAMAHA, F.J.; Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. **Exp. Neurol.**, v. 25, p. 138-152, 1969.

GUTMAN,E.; HNIK,P.; The effect of use and disuse on neuromuscular functions. Elsevier, New York, 1963.

HENRIKSEN,E.J.;TISCHLER,M.E.;WOODMAN,C.R.;MUNOZ,K.A;

STUMP,C.S.;KIRBY,C.R.; Elevated interstitial fluid volume in soleus muscles unweight by spaceflight or suspension. **J. Appl. Physiol.**, v. 75, p. 1650-1653, 1993.

HERBERT,M.E.; ROY,R.R.; EDGERTON,V.R.; Influence of one week hindlimb suspension and intermittent high load exercise on rat muscles. **Exp. Neurol.**, v. 102, p. 190-198, 1988.

HERBISON,G.J.; JAWEED,M.M.; DITUNNO,J.F.; Muscle fiber atrophy after cast immobilization in the rat. **Arch. Phys. Med. Rehabil.**, v. 59, p. 301-305, 1978.

HISLOP,P.J.; Responses of immobilized muscle to isometric exercise. **J. Am. Phys. Ther. Assoc.**, v. 44, p. 339, 1964.

HIKIDA,R.S.; VAN NOSTRAN,S.;MURRAY,J.D.; STARON,R.S.; GORDON,S.E.; KRAEMER,W.J.; Myonuclear loss in atrophied soleus muscle fibers. **Anat. Rec.**, v. 247, p. 350-354, 1997.

HOLLOSZY,J.O.; BOOTH,F.W.; Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 38, p. 273-291, 1976.

ILYNA-KAKUEVA,E.I.; PORTUGALOV,V.V.;KRIVENKOVA,N.P.; Space flight effects on the skeletal muscles of rats. **Aviat. Space Environ. Med.**, v. 47, p. 700-703, 1976.

JÄRVINEN,M.; Healing of a crush injury in rat striated muscle. **Acta Chir. Scand.**, v. 142, p. 47-56,1976

JÄRVINEN,M.; EINOLA,S.A.; VIRTANEN,E.O.; Effect of the position of immobilization upon the tensile properties of the rat gastrocnemius muscle. **Arch. Phys. Med. Rehabil.**, v.73, p. 253-257, 1992.

JASPERS,S.R.; TISCHLER,M.E.; Atrophy and growth failure of rat hindlimb muscles in tail cast suspension. **J. Appl. Physiol.**, v. 57, p. 1472-1479, 1984.

JIANG,B; ROY,R.R.; NAVARRO,C.;EDGERTON,V.R.; Atrophic response of rat soleus fibers subjected to a 4-day spaceflight. **J. Appl. Physiol.**, v. 74, p. 527-531, 1993.

JIANG,B.; OHIRA,Y.; ROY,R.R.; NGUYEN,Q.; ILYINA-KAKUEVA,E.I.; OGANOV,V.; EDGERTON,V.R.; Adaptation of fibers in fast-twitch muscles of rats to spaceflight and hindlimb suspension. **J. Appl. Physiol.**, v. 73, p. 58S-65S, 1992.

JOHNSON,M.A.; POLGAR,J.; WEIGHTMAN,D.; APPLETON,D.; Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. An autopsy study. **J. Neurol. Sci.**, v. 18, p. 111-129, 1973.

KASPER,C.E.; WHITE,T.P.; MAXWELL,L.C.; Running during recovery from hindlimb suspension induces muscular injury. **J. Appl. Physiol.**, v. 68, p. 533-539, 1990.

KASPER,C.E.; MCNULTY,A.L.; OTTO,A.J.; THOMAS,D.P.; Alterations in skeletal muscle. Related to impaired physical mobility: An empirical model. **Res. Nurs. Health**, v. 16, p. 265-273, 1993.

KASPER,C.E.; XUN,L.; Cytoplasm-to-myonucleus ratios in plantaris and soleus muscle fibers following hindlimb suspension. **J. Muscle Res. Cell Motil.**, v. 17, p. 603-610, 1996.

KAVOUNOUDIAS,A.; ROLL,R.; ROLL, J.P.; The plantar sole is a “dynamometric map” for human balance control. **Neuroreport**, v. 9, p. 3247-3252, 1998.

KLITGAARD,H.A.; A model for quantitative strength training of hindlimb muscles of the rat. **J. Appl. Physiol.**, v. 64, p. 1740-1745, 1988.

KOSLOVSKAIA,I.B.; BARMIN,V.A.; STEPANTSOV,V.I.; KHARITONOV,N.M.; Results of studies of motor functions in long-term space flights. **Physiologist**, v. 33, p. S1-S3, 1990.

KOSLOVSKAIA,I.B.; KREIDICH, Y.V.; OGANOV, V.S.;KOSERENKO, O.P.; Pathophysiology of motor functions in prolonged space flights. **Acta Astronaut.**, v. 8, p. 1059-1072, 1981.

MACMASTER,P.E.; Tendon and muscle ruptures. **J. Bone Joint Surg.**, v. 15, p. 705-722, 1933.

McALL,G.E.; ALLEN,D.L.; LINDERMAN,J.K.; GRINDELAND,R.E.; ROY,R.R.; MUKKU,V.R.; EDGERTON,V.R.; Maintenance of myonuclear domain size in rat soleus after overload and growth hormone/IGF-I treatment. **J. Appl. Physiol.**, v. 84, p.1407-1412, 1998.

MAIER,A.; CROCKETT,J.L.; SIMPSON,D.R.; SAUBERT IV,C.W.; EDGERTON,V.R.; Properties of immobilized guinea pig hindlimb muscles. **Am. J. Physiol.**, v. 231, p. 1520-1526, 1976.

MARTIN,T.P.;EDGERTON,V.R.; GRINDELAND,R.E.; Influence of spaceflight on rat skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 65, p. 2318-2325, 1988.

MAURO,A.; Satellite cell of skeletal muscle fibers. **J. Biophys. Biochem. Cytol.**, v. 9, p. 493-498, 1961.

MAX,S.R.; Disuse atrophy of skeletal muscle loss of functional activity of mitochondria. **Biochem. Bioph. Res. Comm.**, v. 46, p.1394-1398, 1972.

MOREY,E.R.; Space flight and bone turnover, correlation with a new rat model of weightlessness. **Bioscience**, v. 29, p. 168-172, 1979.

MOREY-HOLTON,E.; WRONSKI,J.; Animal models for simulating weightlessness. **Physiologist**, v. 24, p. S45- S48, 1981.



MOSS,F.P.; LEBLOND C.P.; Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats. **Anat. Rec.**, v. 170, p. 421-436, 1971

MOZDZIAK,P.E.; PULVERMACHER,P.M.; SCHULTZ,E.; Unloading of juvenile muscle results in a reduce muscle size 9 wk after reloading. **J. Appl. Physiol.**, v. 88, p.158-167, 2000.

MOZDZIAK,P.E.; PULVERMACHER,P.M.; SCHULTZ,E.; Muscle regeration during hindlimb unloading results in a reduction in muscle size after reloading. **J. Appl.Physiol.**, v. 91, p. 183-190, 2001.

MOZDZIAK,P.E.; SCHULTZ,E.; CASSENS,R.G.; Myonuclear accretion is a major determinant of avian skeletal muscle growth. **Am. Physiol. Cell Physiol.**, v. 272, p. C565-C571, 1997.

MOZDZIAK,P.E.; TRUONG,Q.; MACIUS,A.; SCHULTS,E.; Hindlimb suspension reduces muscles regeneration. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v. 78, p. 136-140, 1998.

MUSACCHIA,X.J.; DEAVERS,D.R.; MEININGER,G.A.; DAVIS,T.P.A model for hypokinesia: effects on muscle atrophy in the rat. **J. Appl. Physiol.**, v. 48, p. 479-486, 1980.

MUSACCHIA,X.J.; STEFFAN,J.M.; DEAVERS,D.R.; Suspension restraint: Induced hipokinesia and antiorthostasis as a simulation of weightlessness. **Physiologist.**, v. 24, p. S21-S22, 1981.

NEWLANDS,S.; LEVITT,L.K.; ROBINSON,C.S.; KARPF,A.B.; HODGSON,V.R.; WADE,R.P.; HARDEMAN,E.C.; Transcription occurs in pulses fibers. **Genes Dev.**, v.12, p. 2748-2758, 1998.

NORMAN,T.L.; BRADLEY-POPOVICH,G.; CLOVIS,N.; CUTLIP,R.G.; BRYNER, R.W.; Aerobic exercise as a countermeasure for microgravity-induced bone loss and muscle atrophy in a rat hindlimb suspension model. **Aviat. Space Environ. Med.**, v. 71, p. 593-598, 2000.

OGANOV,V.S.; SKURATOVA,S.A.; POTAPOV,A.N.; SHIRVINSKAYA,M.A.; Physiological mechanisms of adaptation of rat skeletal muscles to weightlessness an similar functional requiraments. **Physiologist**, v. 23, p. 516-521, 1980.

OHIRA,Y.; JIANG,B.; ROY,R.R.; OGANOV,V.; ILYNA-KAKUEVA,E.; MARINI,J.F.; EDGERTON,V.R.; Rat soleus muscle fiber responses to 14 days of spaceflight and hindlimb suspension. **J. Appl. Physiol.**, v. 73, p. 51S-57S, 1992.

RALSTON,E.; HALL,Z.V.; Restricted distribution of mRNA produced from a single nucleus in hybrid myotubes. **J. Cell Biol.**, v. 119, p. 1063-1068, 1992.

RILEY,D.A.; ELLIS,S.; SLOCUM,G.R.; SATYANARAYANA,T.;BAIN,J.L.W.; SEDLAK,F.R.; Hipogravity-induced atrophy of rat soleus and extensor digitorum longus muscles. **Muscle Nerve**, v. 10, p. 560-568, 1987.

ROSE,S.J.; ROTHSTEIN,J.M.; Muscle biology and physical therapy. **Phys. Ther.**, v. 62, p. 1754-1756, 1982

SCHULTZ,E.; DARR,K.C.; MACIUS,A.; Acute effects of hindlimb unweighting on satellite cells of growing skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 76, p. 266-270, 1994.

SILVA, A.V.; **Modelo de suspensão pela cauda e seu efeito em algumas propriedades mecânicas do osso do rato.** Dissertação de mestrado em Bioengenharia., Interunidades-Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Escola de Engenharia de São Carlos/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

SOUZA,S.A.; Ensaio mecânicos de materiais metálicos. 3. ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 3-58 , 1977

STEVENS,L.; MOUNIER,,Y.; HOLY,X.; Functional adaptation of different rat skeletal muscles to wheighthlessness. **Am. J. Physiol.**, v. 264, p. R770-R776, 1993.

TALMADGE,R.J.; ROY,R.R.;EDGERTON,V.R.; Distribution of myosin heavy chain isoforms in non-weight-bearing rat soleus muscle fibers. **J. Appl. Physiol.**, v. 81, p. 540-546, 1996.

TEMPLETON,G.H.; PADALINO,M.; MANTON,J.; LeCONEY,T.; HAGLER,H.; GLASBERG,M.- The influence of rat suspension-hipokinesia on the gastrocnemius muscle. **Aviat. Space Environ. Med.**, 55: 381-386, 1984a.

TEMPLETON,G.H.; PADALINO,M.; MANTON,J.;GLASBERG,M.; SILVER,P.; DeMARTINO,G.; LECONEY,T.;KLUG,G.;HAGLER,H.;SUTKO,J.L.; The influence of suspension-hyperkinesias on the rat soleus muscle. **J. App. Physiol.** v. 56, p. 278-86, 1984b.

THOMASON,D.B.; BIGGS,R.B.; BOOTH,F.W.; Protein metabolism and  $\beta$ -myosin heavy-chain mRNA in unweighted soleus muscle. **Am. J. Physiol.**, v. 257 p. R300-R305, 1989.

THOMASON,D.B.; BOOTH,F.W.; Atrophy of the soleus muscle by hindlimb unweighting. **J. Appl. Physiol.**, v. 68, p. 1-20, 1990.

WEST,J.B.; Physiology of a microgravity environment. Historical perspectives: Physiology in microgravity. **J. Appl. Physiol.**, v. 89, p. 379-384, 2000.

WIDRICK,J.J.; BANGARD,J.J.; KARHANEK,M.; FITTS,R.H.; Soleus fiber force and maximal shortening velocity after non-weight bearing with intermittent activity. **J. Appl. Physiol.**, v. 80, p. 981-987,1996.

WIDRICK,J.J.; FITTS,R.H.; Peak force and maximal shortening velocity after non-weight-bearing and resistance exercise. **J. Appl. Physiol.**, v. 82, p. 189-195, 1997.

WIDRICK,J.J.; KNUTH,S.T.; NORENBURG,K.M.; ROMATOWSKI,J.G.; BAIN,J.L.W.; RILEY,D.A.; KARHANEK,M.; TRAPPE,S.W.; TRAPPE,T.A.; COSTILL,D.L.; FITTS,R.H.; Effect of a 17 day spaceflight on contractile properties of human soleus fibers. **J. Physiol.**, v. 516, p. 915-930, 1999.

WIDRICK,J.J.; ROMATOWSKI,J.G.; NORENBURG,K.M.; KNUTH,S.T.; BAIN,J.L.W.; RILEY,D.A.; TRAPPE,T.A.; COSTILL,D.L.; TRAPPE,S.W.;FITTS,R.H.; Functional properties of slow and fast gastrocnemius muscle fibers after a 17- day spaceflight. **J. Appl. Physiol.**, vol. 9, p. 2203-2211, 2001.

WITZMANN,F.A.; KIM,D.H.; FITTS,R.H.; Recovery time course in contractile function of fast and slow skeletal muscle after hindlimb immobilization. **J. Appl. Physiol.**, v. 52, p. 677-682, 1982.

WONG,T.S.; BOOTH,F.W.; Skeletal muscle enlargement with weight lifting exercise in rats. **J. Appl. Physiol.**, 950-954, 1988.

YABLONKA-REUVENI,Z.; SEGER,R.; RIVERA,A.J.; Fibroblast growth factor promotes recruitment of skeletal muscle satellite cells in young and old rats. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 47, p. 23-42, 1999.

## 7 ANEXOS

### Anexo 1- Peso dos animais do Grupo Controle

GRUPO CONTROLE	
Peso do rato (g)	Inicial
Rato 1	280
Rato 2	285
Rato 3	280
Rato 4	260
Rato 5	250
Rato 6	250
Rato 7	240
Rato 8	260
Rato 9	275
Rato 10	275
Rato 11	260
Rato 12	250
média	263,75
desv. padrão	14,79

## Anexo 2- Peso dos animais do Grupo 7 dias de suspensão

GRUPO 7 DIAS DE SUSPENSÃO		
	Peso do rato (g)	
	Inicial	Ensaio
Rato 1	260	250
Rato 2	255	250
Rato 3	255	250
Rato 4	250	235
Rato 5	270	265
Rato 6	240	230
Rato 7	215	210
Rato 8	230	230
Rato 9	235	230
Rato 10	265	235
Rato 11	235	195
média	246,36	234,54
desv. padrão	16,75	19,68

## Anexo 3- Peso dos animais do Grupo 14 dias de suspensão

GRUPO 14 DIAS DE SUSPENSAO		
	Peso do Rato (g)	
	Inicial	Ensaio
Rato 1	285	285
Rato 2	250	245
Rato 3	250	240
Rato 4	230	225
Rato 5	245	225
Rato 6	245	240
Rato 7	240	230
Rato 8	255	250
Rato 9	235	235
Rato 10	255	235
Rato 11	245	230
Rato 12	240	225
Rato 13	255	250
Rato 14	240	230
média	247,86	238,93
desv. padrão	13,11	15,83

## Anexo 4- Peso dos animais do Grupo 21 dias de suspensão

GRUPO 21 DIAS DE SUSPENSÃO		
	Peso do Rato (g)	
	Inicial	Ensaio
Rato 1	240	240
Rato 2	245	240
Rato 3	295	295
Rato 4	265	260
Rato 5	295	300
Rato 6	290	290
Rato 7	275	295
Rato 8	255	250
Rato 9	230	215
Rato 10	240	220
Rato 11	255	240
Rato 12	260	260
média	262,08	258,75
desv. padrão	22,41	29,93



Anexo 5- Peso dos animais do Grupo 7 dias de suspensão seguido de 30 dias de natação

	GRUPO 7 DIAS DE SUSPENSÃO COM 30 DIAS DE NATAÇÃO		
	Peso do Rato (g)		
	Inicial	Natação	Ensaio
Rato 1	230	230	250
Rato 2	240	250	270
Rato 3	235	235	310
Rato 4	235	240	240
Rato 5	240	225	255
Rato 6	240	220	250
Rato 7	230	220	250
Rato 8	235	240	265
Rato 9	240	225	255
Rato 10	245	225	285
Rato 11	210	205	230
Rato 12	230	210	230
Rato 13	235	220	235
média	234,23	226,54	255,83
desv. padrão	8,62	12,48	23,72

Anexo 6- Peso dos animais do Grupo 14 dias de suspensão seguido de 30 dias de natação

GRUPO 14 DIAS SUSPENSÃO COM 30 DIAS DE NATAÇÃO			
Peso do Rato (g)			
	Inicial	Natação	Ensaio
Rato 1	260	240	300
Rato 2	250	220	255
Rato 3	255	225	280
Rato 4	250	245	275
Rato 5	255	220	260
Rato 6	235	210	245
Rato 7	225	210	275
Rato 8	230	230	235
Rato 9	230	220	225
Rato 10	230	205	235
Rato 11	250	240	280
Rato 12	260	245	280
Rato 13	240	215	245
Rato 14	255	230	265
Rato 15	235	215	230
média	244,00	224,67	259,00
desv. padrão.	12,28	13,16	22,54

Anexo 7- Peso dos animais do Grupo 21 dias de suspensão seguido de 30 dias de natação

	GRUPO 21 DIAS DE SUSPENSÃO COM 30 DIAS DE NATAÇÃO		
	Peso do Rato (g)		
	Inicial	Natação	Ensaio
Rato 1	280	310	340
Rato 2	250	260	265
Rato 3	270	255	270
Rato 4	280	270	275
Rato 5	250	245	260
Rato 6	245	225	260
Rato 7	240	240	240
Rato 8	265	250	265
Rato 9	245	255	275
Rato 10	270	255	270
Rato 11	250	240	235
Rato 12	270	240	255
Rato 13	240	225	255
Rato 14	230	215	235
média	256,07	248,93	264,29
desv. padrão.	16,07	23,14	25,63

Anexo 8: Valores lidos durante os ensaios mecânicos realizados com os músculos gastrocnêmios dos animais controle

DEF	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	R 7	R 8	R 9	R 10	R 11	R 12
0	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
0,5	38	29	33	55	31	31	26	35	45	28	37	44
1	46	36	43	70	40	38	29	51	72	36	55	65
1,5	58	43	57	85	48	48	38	68	97	40	73	87
2	74	51	69	100	60	57	47	90	128	51	92	117
2,5	102	62	78	117	67	73	57	110	157	60	114	146
3	114	66	94	136	78	84	67	135	189	68	138	179
3,5	128	78	107	150	90	102	79	163	213	78	162	209
4	148	91	122	166	102	119	87	186	238	90	188	242
4,5	165	101	134	184	116	134	102	210	264	103	210	275
5	185	111	151	199	131	155	116	233	289	115	240	300
5,5	207	123	168	220	143	173	130	252	313	126	266	331
6	228	133	184	239	161	197	144	271	338	142	295	352
6,5	253	145	200	261	177	217	157	287	361	153	323	378
7	272	156	214	280	195	238	175	300	382	168	349	390
7,5	292	172	233	297	216	262	190	311	400	179	369	403
8	310	184	250	312	234	280	207	319	414	198	384	411
8,5	328	196	262	332	249	303	225	328	423	210	397	408
9	342	206	279	341	269	321	239	336	431	228	409	408
9,5	352	221	292	355	278	339	252	340	435	245	410	401
10	362	230	300	365	290	353	266	340	442	257	414	408
10,5	369	244	316	370	302	369	280	337	445	270	410	406
11	372	253	324	377	310	380	291	334	447	280	408	399
11,5	375	260	330	381	320	392	304	333	448	290	405	383
12	376	274	336	383	328	399	313	322	449	298	394	384
12,5	371	285	341	383	334	402	322	312	445	303	387	375
13	362	293	345	383	342	405	330	286	440	313	372	363
13,5	344	304	347	381	348	401	335	273	433	314	359	350
14	322	310	349	375	353	399	338	248	428	319	344	319
14,5	304	319	348	370	350	395	335	215	418	323	330	278
15	272	320	342	362	353	391	329	192	407	325	313	229
15,5	223	326	336	352	347	380	325	167	391	325	295	199
16	174	333	325	338	342	373	320	148	366	320	276	172
16,5	130	336	319	321	334	365	315	126	290	310	251	138
17	86	338	307	299	330	355	309	112	240	301	208	104
17,5	67	342	290	273	317	340	301	99	183	284	177	86
18	51	340	270	242	306	320	294	88	137	266	151	68
18,5	39	340	244	216	280	282	281	76	99	246	130	
		336	204	189	254	240	262		81	222	109	
		324	177	164	233	198	240		71	191	94	
		283	143	144	209	170	217			159	80	
		259	118	130	179	155	195			137		
		228	98	115	153	139	168			116		
		187	75	94	130	126	149			97		
		158	52	80	94	113	133			79		
		110	40	67	84	104	121					
		78	31		66	93	106					
		59				85	94					

Anexo 9: Valores lidos durante os ensaios mecânicos realizados com os músculos gastrocnêmios dos animais suspensos durante 7 dias.

DEF	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	R 7	R 8	R 9	R 10	R 11
0	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
0,5	43	27	24	24	23	25	40	25	29	23	30
1	63	34	28	33	23	31	55	35	30	24	38
1,5	80	41	33	41	26	35	70	44	33	28	45
2	103	51	40	50	27	44	84	53	38	31	52
2,5	126	63	46	60	31	51	100	60	42	38	60
3	148	76	53	68	33	60	114	66	50	43	67
3,5	173	88	60	84	39	70	127	76	53	47	75
4	200	103	70	93	41	80	145	79	64	52	86
4,5	220	115	78	108	51	92	160	90	73	59	96
5	240	137	89	120	55	106	180	101	87	70	108
5,5	261	151	99	140	63	118	190	114	94	77	115
6	278	168	108	156	74	133	202	127	110	87	126
6,5	291	186	115	178	87	149	202	139	131	98	140
7	303	201	128	197	96	167	209	151	146	110	150
7,5	312	219	140	220	110	182	225	165	166	124	164
8	317	235	155	240	125	200	240	176	186	138	174
8,5	324	248	170	262	141	219	248	187	206	153	185
9	327	262	184	282	156	239	260	198	227	169	194
9,5	328	275	201	300	178	259	266	207	247	182	201
10	324	282	214	314	195	275	270	218	265	198	207
10,5	322	287	229	322	210	294	273	230	281	218	210
11	316	293	244	330	228	312	273	237	298	229	213
11,5	314	297	255	336	247	329	274	242	313	239	207
12	307	300	266	346	266	343	269	225	323	246	179
12,5	297	303	276	351	281	357	267	237	332	252	149
13	289	303	284	355	297	366	261	242	338	256	133
13,5	277	306	288	357	308	374	254	225	344	258	120
14	262	306	293	362	319	383	246	237	349	256	112
14,5	248	308	298	363	330		236	252	352	251	102
15	224	308	301	347	335		223	262	353	248	95
15,5	204	305	304	364	344		209	270	351	242	90
16	186	305	304	370	349		192	279	351	239	84
16,5	165	304	303	371	355		178	283	345	229	78
17	151	300	301	372	356		164	289	340	222	
17,5	129	295	297	375	360		152	293	332	214	
18	114	289	290	379	358		138	294	320	204	
18,5	105	278	279	377	358		130	295	296	191	
19	93	265	267	380	355		116	295	272	175	
19,5	87	250	253	379	353		105	294	252	158	
20	75	235	235	375	349		92	288	233	142	
20,5	68	218	219	366	340		79	281	208	122	
21	62	195	200	350	326		72	276	188	100	
21,5	55	175	179	328	315			266	164	90	
		152	155	302	301			255	142		
		136	130	277	286			239	124		
		122	109	255	270			222	105		
		108	90	236	249			209	84		
		95	74	215	224			193	70		
		85	62	195	195			176			
		74	55	174	169			159			
		65	46	155	145			143			

Anexo 10: Valores lidos durante os ensaios mecânicos realizados com os músculos gastrocnêmios dos animais suspensos durante 14 dias.

DEF	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	R 7	R 8	R 9	R 10	R 11	R 12	R 13	R 14
0	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
0,5	26	35	22	21	40	33	34	27	32	40	33	29	32	31
1	36	41	32	27	56	42	42	32	38	56	41	38	42	42
1,5	43	50	43	33	67	50	53	41	48	75	52	49	55	62
2	51	61	53	38	78	57	60	46	55	95	67	59	65	75
2,5	57	67	65	49	91	64	74	51	64	116	76	71	79	94
3	67	77	77	55	105	74	84	56	75	136	89	83	97	117
3,5	74	90	87	65	121	81	99	65	89	156	102	97	113	141
4	88	98	100	73	136	91	109	72	103	177	116	108	130	165
4,5	101	108	115	82	151	101	123	81	122	198	130	127	148	190
5	115	118	127	92	168	115	140	89	139	215	145	145	169	217
5,5	130	128	140	102	185	123	152	97	158	234	163	164	188	240
6	147	138	154	111	200	138	166	108	178	250	180	179	207	260
6,5	160	149	165	122	217	150	180	118	198	270	198	197	224	282
7	177	161	183	136	230	152	194	128	218	285	219	217	245	300
7,5	187	175	200	149	245	159	208	139	237	299	235	233	262	315
8	191	185	212	160	254	188	218	149	251	318	232	251	279	327
8,5	201	200	230	177	265	202	233	157	267	332	266	263	293	336
9	220	213	243	186	273	214	242	169	280	343	278	275	308	331
9,5	231	230	257	200	285	225	253	179	294	350	298	290	322	347
10	246	244	276	212	290	236	266	186	305	360	306	306	337	350
10,5	261	251	286	227	298	249	278	192	313	369	312	321	347	351
11	277	271	297	235	301	256	287	206	320	373	317	334	358	349
11,5	290	286	305	247	308	264	295	216	326	380	320	344	365	346
12	306	299	312	268	310	269	302	228	332	386	324	340	371	342
12,5	317	310	319	280	309	282	309	236	333	390	325	317	374	335
13	330	321	325	292	305	291	315	248	332	393	322	295	376	329
13,5	340	334	328	300	300	298	319	259	329	394	314	272	376	318
14	349	339	330	308	299	304	323	264	320	392	304	248	376	302
14,5	355	347	331	317	295	310	325	275	314	389	290	222	374	284
15	358	353	331	320	292	313	326	283	306	381	273	199	369	260
15,5	365	356	327	322	286	315	327	290	294	370	262	173	359	239
16	370	355	318	325	275	320	323	299	277	358	251	139	345	217
16,5	375	353	309	321	259	323	321	300	256	346	242	90	334	196
17	370	350	294	314	213	326	315	310	234	330	233	77	324	178
17,5	377	347	277	304	192	329	306	317	204	311	219	70	315	163
18	377	337	253	292	169	330	294	323	174	285	204		300	149
18,5	369	317	232	274	150	331	277	320	150	259	185		285	134
19	357	304	217	257	129	331	256	320	130	219	162		267	119
19,5	330	286	199	230	93	333	228	330	109	187	140		245	103
20	299	261	182	205	78	331	206	335	96	159	122		219	88
20,5	265	235	170	183	64	327	183	338	84	137	106		195	
21	236	204	156	161	47	321	162	340		115	84		181	
21,5	199	175	143	133		303	139	338		92	72		165	
22	166	144	122	110		287	100	334		76			145	
22,5	147	122	110	98		258	80	310		60			119	
23	133		97			229	64	299					99	
23,5	120					195		284						

Anexo 11: Valores lidos durante os ensaios mecânicos realizados com os músculos gastrocnêmios dos animais suspensos durante 21 dias.

DEF	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	R 7	R 8	R 9	R 10	R 11	R 12
0	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
0,5	25	23	31	28	26	24	24	43	26	30	25	33
1	31	25	44	36	31	28	27	78	32	32	30	42
1,5	37	30	58	46	36	36	31	93	40	36	37	50
2	43	31	78	57	43	41	36	109	44	40	46	58
2,5	50	32	93	65	50	48	39	134	51	41	56	69
3	60	38	110	76	60	56	51	159	59	45	64	80
3,5	70	39	127	85	69	65	59	182	66	45	75	95
4	82	45	148	100	86	74	64	210	76	49	87	109
4,5	95	46	165	114	99	87	72	235	83	51	100	126
5	107	56	179	131	111	98	79	264	95	58	115	144
5,5	120	60	197	144	125	110	87	282	108	60	133	165
6	136	65	222	163	142	122	96	293	118	66	148	187
6,5	152	75	239	177	156	139	108	301	133	72	165	207
7	169	80	259	194	170	154	118	257	147	81	187	230
7,5	188	88	273	209	182	169	131	290	162	87	202	249
8	207	102	287	224	197	188	140	276	176	99	230	270
8,5	228	118	299	240	213	205	151	261	192	108	253	289
9	245	137	310	251	228	221	160	242	205	122	274	308
9,5	263	152	312	263	243	234	171	224	220	133	296	327
10	276	168	318	276	260	249	183	210	230	149	310	345
10,5	293	182	326	284	259	266	194	196	221	163	328	362
11	306	194	331	290	269	278	203	184	236	184	337	375
11,5	310	211	331	293	280	291	212	173	253	198	340	386
12	319	222	331	295	288	306	219	160	263	220	333	392
12,5	326	233	326	295	295	320	224	149	229	239	339	396
13	334	245	319	292	306	335	235	131	250	259	353	400
13,5	340	256	313	285	313	344	231	121	265	275	362	400
14	343	267	305	278	320	359	221	102	270	292	364	397
14,5	346	275	308	268	327	366	196	90	235	304	366	396
15	350	283	280	259	335	370	198	77	254	316	363	394
15,5	351	286	262	247	346	375	217	52	265	322	360	396
16	348	292	242	233	354	378	229	40	268	328	355	391
16,5	348	296	218	217	364	380	228	28	271	330	346	388
17	347	293	193	199	357	382	217		268	324	337	375
17,5	347	295	158	184	352	381	231		264	323	326	369
18	342	295	132	170	344	378	253		260	319	311	360
18,5	336	292	111	155	325	376	239		255	315	298	351
19	323	282	92	142	301	369	255		249	308	284	342
19,5	309	275	76	129	280	363	266		241	302	269	328
20	293	264		109	256	354	273		231	294	254	314
20,5	277	244		95	228	340	286		220	281	242	299
21	252	226		79	199	319	295		206	273	229	277
21,5	227	211		65	161	290	302		188	253	211	249
22	211	196		53	135	260	309		172		188	212
22,5	188	164		43	115	225	315		157		165	179
23	166	145		38	102	193	320		138		145	155
23,5	150	126		35	77	168	320		120		129	136
24	134	105		30	56	136	320		105			114
		87		25	44	119	317		91			103

Anexo 12: Valores lidos durante os ensaios mecânicos realizados com os músculos gastrocnêmios dos animais suspensos durante 7 dias seguidos de 30 dias de natação.

DEF	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	R 7	R 8	R 9	R 10	R 11	R 12	R 13
0	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
0,5	36	26	31	30	34	33	36	33	41	34	35	41	30
1	52	32	41	41	49	42	47	44	62	47	49	55	43
1,5	69	38	51	60	63	50	61	54	86	59	60	74	53
2	89	48	66	77	79	60	78	66	113	74	75	97	67
2,5	112	57	88	96	93	71	94	77	145	86	90	122	83
3	139	70	94	121	109	84	113	93	178	101	106	147	98
3,5	165	84	112	146	124	100	133	105	210	116	124	195	117
4	189	103	127	173	139	114	155	121	245	130	152	223	135
4,5	212	117	148	202	154	132	178	138	278	146	166	254	152
5	236	136	167	227	172	150	199	154	305	163	185	270	173
5,5	258	154	188	257	188	169	221	173	334	180	206	291	192
6	279	176	213	280	207	191	245	192	354	198	229	312	209
6,5	298	198	234	305	225	209	268	210	378	216	250	335	230
7	315	220	255	329	243	230	291	232	398	237	280	356	257
7,5	330	245	278	349	256	252	313	250	414	254	300	374	270
8	343	265	300	369	272	272	333	273	428	273	324	387	286
8,5	353	281	326	386	284	290	352	288	440	289	292	395	304
9	361	300	340	399	294	309	371	306	451	306	307	401	324
9,5	369	318	371	411	303	327	386	320	459	322	316	404	337
10	375	335	392	417	308	342	399	335	462	334	323	404	344
10,5	377	350	411	420	312	358	405	348	463	344	330	403	348
11	378	365	426	424	313	370	412	358	463	350	164	400	351
11,5	379	375	431	424	312	379	415	367	463	355	184	395	353
12	381	386	448	426	311	389	414	374	462	354	192	391	355
12,5	378	391	452	429	311	394	414	382	457	353	115	385	356
13	376	398	446	430	308	401	412	388	454	350	111	376	356
13,5	370	398	441	433	303	403	410	394	448	348	97	365	356
14	360	400	430	432	297	406	406	398	440	342		351	354
14,5	348	400	415	435	285	408	403	401	431	337		336	351
15	333	398	398	440	271	410	392	402	420	331		319	346
15,5	320	395	384	440	253	410	384	402	408	325		293	340
16	300	392	370	437	234	410	371	403	390	316		265	334
16,5	279	385	358	434	216	409	355	402	377	305		237	330
17	251	374	342	426	195	407	335	400	356	290		215	326
17,5	218	363	326	415	177	404	309	396	332	271		195	315
18	178	344	309	393	156	402	284	389	300	249		171	306
18,5	146	326	298	340	136	397	264	381	251	232		146	295
19	123	307	287	304	123	392	245	372	201	204		104	286
19,5	107	285	262	269	109	383	227	361	171	181		92	269
20	90	263	236	230	97	376	204	348	145	156			254
		238	197	184		360	184	325	122	130			230
		212	132	153		338	145	285	109	108			206
		178	102	130		309	95	220	96	90			176
		127	87	91		276		154					144
		92				239		96					122
						211							99
						176							
						130							



Anexo 13: Valores lidos durante os ensaios mecânicos realizados com os músculos gastrocnêmios dos animais suspensos durante 14 dias seguidos de 30 dias de natação.

DEF	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	R 7	R 8	R 9	R 10	R 11	R 12	R 13	R 14	R 15
0	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
0,5	33	30	35	41	30	41	32	39	31	38	27	39	44	44	29
1	46	49	47	53	36	54	42	48	41	54	38	50	60	59	40
1,5	57	64	62	67	40	61	52	59	52	64	52	60	78	74	51
2	71	78	76	85	45	74	64	71	64	86	69	69	98	90	65
2,5	84	96	94	102	53	86	73	83	80	106	90	80	117	109	78
3	100	113	118	121	61	100	84	100	97	128	107	91	137	129	92
3,5	118	137	145	143	70	113	97	116	115	150	128	102	155	148	109
4	137	162	169	167	83	128	111	133	137	179	155	115	176	168	126
4,5	155	189	195	190	95	145	128	152	160	198	179	128	195	188	143
5	173	215	220	212	108	162	145	171	181	219	209	142	213	207	159
5,5	188	240	245	236	124	180	165	189	202	236	232	158	228	228	178
6	210	263	266	260	141	197	184	208	224	253	251	174	248	250	198
6,5	228	284	288	279	155	217	204	235	243	270	274	192	266	269	222
7	250	304	308	297	173	236	224	251	264	286	294	212	281	286	242
7,5	264	322	328	313	186	255	244	273	282	299	313	234	297	305	261
8	281	339	346	327	206	275	263	287	299	310	332	252	312	319	279
8,5	298	352	359	338	220	284	285	293	311	318	352	271	325	334	298
9	311	360	371	350	237	306	304	305	322	322	366	290	343	347	313
9,5	321	370	382	360	252	310	321	325	330	327	380	307	355	355	325
10	330	377	389	366	269	315	337	337	337	328	393	322	366	365	333
10,5	336	382	395	374	281	329	353	348	342	329	403	337	377	371	340
11	342	385	401	378	295	343	367	356	346	329	412	350	384	375	344
11,5	345	387	406	380	305	355	378	361	347	327	420	364	390	380	347
12	347	390	408	386	314	213	387	362	349	323	426	375	391	382	349
12,5	350	386	410	388	320	232	396	362	349	320	428	387	393	386	352
13	349	386	412	392	327	260	401	364	349	313	431	396	392	386	354
13,5	345	377	416	390	330	301	405	362	349	304	432	402	387	385	357
14	343	373	419	382	329	320	408	360	350	296	431	407	384	383	359
14,5	338	369	420	380	332	329	415	358	350	287	428	407	381	380	359
15	332	364	418	375	331	348	415	351	352	277	425	408	377	374	359
15,5	322	355	420	362	330	365	416	341	351	263	419	408	373	368	356
16	310	348	419	344	330	371	414	333	349	250	417	407	371	358	354
16,5	296	337	415	318	327	380	411	317	343	235	414	405	368	346	348
17	276	330	410	290	320	382	411	299	336	217	410	403	364	329	342
17,5	251	320	405	262	314	384	407	282	327	202	405	403	359	309	336
18	213	305	399	233	308	384	403	264	311	188	393	401	348	288	329
18,5	176	280	391	208	301	380	398	245	299	174	381	397	335	273	312
19	144	256	387	188	293	376	389	225	280	162	359	391	325	255	295
19,5	125	224	377	177	280	368	374	202	260	148	328	388	311	236	266
20	107	195	366	165	262	368	356	184	233	137	274	376	292	218	244
20,5	87	168	350	151	239	362	332	167	199	123	228	366	272	196	205
		149	328	142	201	354	307	149	150	114	174	353	250	170	166
		121	301	135	171	341	278	128	118	99	141	339	221	148	128
		92	269	124	149	322	258	99	92		108	322	188	118	99
			235	115	123	299	226				80	308	154	85	87
			198	103	97	271	196					288	122		
			169	92		246	170					262	95		
			105			217	146					241			
			85			195	121					200			



## Anexo 15: Propriedades mecânicas do Grupo Controle

Animais	Limite Elástico		Limite Máximo		Rigidez
	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	
1	32,28	8,50	36,85	12,00	3779
2	28,17	12,70	33,52	17,50	2245
3	28,95	9,41	34,20	14,00	3120
4	32,87	8,62	37,53	12,50	3696
5	29,93	11,50	34,59	14,00	2568
6	33,26	9,54	39,69	13,00	4041
7	29,73	11,50	33,12	14,00	2551
8	25,82	5,75	33,32	10,00	4422
9	37,56	7,05	44,00	12,00	4767
10	28,17	11,37	31,85	15,50	2645
11	34,82	7,18	40,57	10,00	5293
12	37,17	6,53	40,28	8,00	2754
Média	31,56	9,14	36,63	12,70	3490
Desv. Pad.	3,71	2,26	3,80	2,58	993

## Anexo 16: Propriedades mecânicas do Grupo 7 dias de suspensão.

Animais	Limite Elástico		Limite Máximo		Rigidez
	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	
1	26,61	5,75	32,18	9,50	4491
2	24,65	8,49	30,21	14,50	3252
3	24,26	11,11	29,82	16,00	2855
4	29,15	9,41	37,28	19,00	4060
5	29,35	13,07	35,32	17,50	3377
6	33,26	11,76	37,53	14,00	3161
7	19,96	6,01	26,85	11,50	2929
8	22,70	10,71	28,91	19,00	2100
9	27,00	10,32	34,59	15,00	3825
10	23,09	11,24	25,28	13,50	2850
11	19,17	9,01	20,87	11,00	2142
Média	25,38	9,71	30,80	14,59	3186
Desv.Pad	4,22	2,29	5,23	3,15	740

## Anexo 17: Propriedades mecânicas do Grupo 14 dias de suspensão.

Animais	Limite Elástico		Limite Máximo		Rigidez
	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	
1	32,17	12,81	36,69	18,00	2797
2	32,61	13,46	34,89	15,50	2640
3	29,13	10,84	32,44	15,00	2857
4	29,57	13,46	31,85	16,00	2486
5	24,35	7,58	30,38	12,00	3040
6	24,78	10,71	32,63	19,50	2385
7	27,83	10,71	32,05	15,50	2598
8	26,96	14,64	33,32	21,00	1927
9	24,35	7,71	32,63	12,50	3728
10	27,39	6,66	38,61	13,50	3782
11	29,57	9,67	31,85	12,50	3281
12	33,04	10,98	33,71	11,50	3611
13	27,83	7,97	36,85	14,00	3705
14	29,13	7,32	34,40	10,50	4461
Média	28,48	10,32	33,74	14,78	3093
Desv. Pad.	2,87	2,60	2,31	3,08	694

## Anexo 18: Propriedades mecânicas do Grupo 21 dias de suspensão.

Animais	Limite Elástico		Carga (N)	Limite Máximo	
	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)		Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	Rigidez
1	29,74	10,71	34,40	15,50	3450
2	21,91	12,02	29,01	16,50	2748
3	27,00	7,58	32,44	11,00	3562
4	24,26	8,75	28,94	12,00	3070
5	24,65	9,67	35,71	16,50	2903
6	33,26	13,20	37,47	17,00	2765
7	20,74	11,37	31,39	23,50	2060
8	27,39	5,35	29,53	6,50	4932
9	22,70	9,80	26,49	14,00	2861
10	28,96	13,98	32,37	16,50	3633
11	29,35	9,67	35,90	14,50	4406
12	36,00	10,58	39,24	13,50	3722
Média	27,16	10,	32,74	14,75	3343
Desv. Pad.	4,61	2,36	3,88	4,08	785

Anexo 19: Propriedades mecânicas do Grupo 7 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação.

Animais	Limite Elástico		Limite Máximo		Rigidez
	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	
1	28,26	6,01	37,34	12,00	4629
2	28,26	8,62	39,20	14,00	4199
3	41,30	10,71	44,30	12,50	4329
4	33,04	7,18	43,12	15,50	5270
5	26,96	8,10	30,67	11,00	3166
6	31,30	9,28	40,18	16,00	3864
7	33,91	8,36	40,67	11,50	4255
8	30,00	9,01	39,49	16,00	3821
9	29,13	4,84	45,37	11,50	6197
10	30,87	9,28	34,79	11,50	3476
11	25,22	6,54	32,34	10,50	4287
12	36,96	7,45	39,59	10,00	4289
13	32,61	9,28	34,89	13,50	3672
Média	31,37	8,05	38,61	12,73	4265
Desv. Pad.	4,33	1,60	4,47	2,08	786

Anexo 20: Propriedades mecânicas do Grupo 14 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação.

Animais	Limite Elástico		Limite Máximo		Rigidez
	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	
1	30,13	8,62	34,30	12,50	3601
2	30,13	7,05	38,22	12,00	4805
3	30,13	7,05	41,16	15,50	4656
4	28,96	6,92	38,24	13,00	4434
5	27,39	10,32	32,54	14,50	3104
6	27,00	7,97	34,79	11,50	3760
7	32,48	9,67	40,77	15,50	3884
8	28,17	7,97	35,67	13,00	3751
9	28,17	7,71	34,50	15,00	4071
10	26,61	6,53	32,24	11,00	4041
11	35,22	8,75	42,34	13,50	3887
12	30,52	9,67	39,98	15,50	3768
13	27,39	6,92	38,51	12,50	3562
14	30,13	7,58	37,83	13,00	3613
15	29,74	8,62	35,18	15,00	3991
Média	29,48	8,09	37,08	13,53	3929
Desv. Pad.	2,26	1,15	3,17	1,52	439



Anexo 21: Propriedades mecânicas do Grupo 21 dias de suspensão seguidos de 30 dias de natação.

Animais	Limite Elástico		Limite Máximo		Rigidez
	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	Carga (N)	Deformação ( $\times 10^{-3}$ m)	
1	41,74	9,40	50,18	15,00	4497
2	34,50	11,63	40,18	16,50	3854
3	40,17	8,75	48,51	13,00	4424
4	35,22	9,28	42,53	14,50	4085
5	30,52	7,70	39,20	12,00	5078
6	27,00	6,00	34,79	11,50	4173
7	37,96	7,58	41,26	10,50	5007
8	29,74	8,10	35,28	13,50	3574
9	35,22	8,62	40,38	11,50	4279
10	31,70	6,40	39,98	12,00	4157
11	27,48	8,75	35,57	16,00	3625
12	31,65	8,10	37,14	10,50	3778
13	28,52	7,97	35,97	14,50	3638
14	24,04	7,71	30,03	14,00	3019
Média	32,53	8,28	39,36	13,21	4085
Desv. Pad.	5,18	1,36	5,35	1,94	563