

# EFEITOS DA IMOBILIZAÇÃO E REMOBILIZAÇÃO PELA COMBINAÇÃO NATAÇÃO E SALTO EM MEIO AQUÁTICO, SOBRE A MORFOLOGIA DO MÚSCULO TIBIAL ANTERIOR DE RATOS

## EFFECTS OF IMMOBILIZATION AND REMOBILIZATION BY COMBINATION OF SWIMMING AND JUMPING IN THE AQUATIC ENVIRONMENT ON THE MORPHOLOGY OF TIBIALIS ANTERIOR MUSCLE OF RATS

**Regina Inês Kunz<sup>1</sup>; Josinéia Gresele Coradini<sup>2</sup>; Carmen Lúcia Soares Rondon<sup>3</sup>; Rose Meire Costa Brancalhão<sup>4</sup>; Gladson Ricardo Flor Bertolini<sup>5</sup>; Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro<sup>6</sup>**

<sup>1</sup> Fisioterapeuta, mestranda em Biociências e Saúde pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, Paraná – Brasil. E-mail: regina\_kunz@hotmail.com

<sup>2</sup> Fisioterapeuta, mestranda em Biociências e Saúde/UNIOESTE, Cascavel, Paraná – Brasil. E-mail: josi.coradini@hotmail.com

<sup>3</sup> Mestre em Ciências da Reabilitação, docente do Curso de Fisioterapia/UNIOESTE, Cascavel, Paraná – Brasil. E-mail: clrondon@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Doutora em Zoologia, docente do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde/UNIOESTE, Cascavel, Paraná – Brasil. E-mail: rosecb@gmail.com

<sup>5</sup> Doutor em Ciências da Saúde Aplicadas ao Aparelho Locomotor, docente do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde/UNIOESTE, Cascavel, Paraná – Brasil. E-mail: gladson\_ricardo@yahoo.com.br

<sup>6</sup> Doutora em Ciências Biológicas, docente do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde/UNIOESTE, Cascavel, Paraná – Brasil. E-mail: lucineia.cr@gmail.com

*Data de recebimento: 25/09/2013*

*Data da aprovação: 15/10/2013*

### RESUMO

A integridade morfológica e funcional do músculo estriado esquelético é mantida pelo tecido conjuntivo, importante na execução da função contrátil. As fibras musculares e o tecido conjuntivo podem sofrer alterações frente ao excesso ou ausência de carga mecânica. Este trabalho analisou o efeito da imobilização e da remobilização sobre parâmetros morfológicos da fibra muscular e do tecido conjuntivo do músculo tibial anterior. Foram utilizados 18 ratos machos, divididos em três grupos: G1 – imobilizados por 15 dias; G2 – remobilizados livremente; G3 – remobilizados por meio de natação e salto em meio aquático, realizados em dias alternados e com progressão de tempo e série dos exercícios. Foram coletados e processados para microscopia de luz o músculo tibial anterior, tanto direito (imobilizado/remobilizado) quanto esquerdo (controle). Observou-se que a imobilização alterou a morfologia da fibra muscular, que apresentou formas polimórficas e a necrose das fibras. Também houve aumento da quantidade de tecido conjuntivo, com mudanças na sua organização. Em G2 e G3, foram verificadas algumas fibras polimórficas, embora não tenham sido observadas fibras em necrose. O tecido conjuntivo ainda se apresentava alterado quanto à organização, mas houve redução na quantidade. Conclui-se que a imobilização afeta o tecido muscular, tanto a morfologia das fibras musculares, quanto o tecido conjuntivo intramuscular do tibial anterior. A remobilização livre e por exercícios terapêuticos causaram melhora nos aspectos morfológicos da fibra muscular, assim como no tecido conjuntivo intramuscular.

**Palavras-chave:** Músculo esquelético. Tecido conjuntivo. Reabilitação.

**ABSTRACT**

The morphological and functional integrity of skeletal muscle is maintained by connective tissue, important in the implementation of contractile function. Muscle fibers and connective tissue may suffer alterations against excess or absence of mechanical load. This study analyzed the effect of immobilization and remobilization on morphological parameters of the muscle fiber and connective tissue of the tibialis anterior muscle. 18 male rats were used, divided into three groups: G1 - immobilized for 15 days; G2 - remobilized freely; G3 - remobilized through swimming and jumping in water, performed on alternate days with progression of time and number of exercises. Were collected and processed for light microscopy both right (assets/remobilized) and left (control) tibialis anterior muscles. It was observed that the immobilization changed the morphology of the muscle fiber, which showed polymorphic forms and caused necrosis of the fibers. Also, there was increase in the amount of connective tissue, with changes in its organization. In G2 and G3, some fibers were found polymorphic, although there were no fibers observed in necrosis. The connective tissue still showed to be altered in regards to its organization, but there was a reduction in the amount. It is concluded that immobilization affects muscle tissue, both the morphology of the muscle fibers and the intramuscular tissue of the anterior tibialis. Free remobilization and exercise therapy caused improvement in muscle fiber morphologic aspects, as well as in the intramuscular connective tissue.

**Keywords:** Skeletal muscle. Connective tissue. Rehabilitation.

**Introdução**

O músculo esquelético totaliza 40% a 50% da massa corporal (SATO et al., 2011) e, microscopicamente, caracteriza-se pela presença de fibras musculares esqueléticas longas, estreitas e multinucleadas. Seus núcleos localizam-se periféricamente na fibra, abaixo da membrana sarcoplasmática (BERCHTOLD; BRINKMEIER; MUNTENER, 2000; DAL PAI SILVA; CARVALHO, 2007). O diâmetro das fibras pode variar de 10 a 100 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) e o comprimento pode chegar até 10 centímetros (cm), dependendo da arquitetura muscular (DAL PAI SILVA; CARVALHO, 2007).

As fibras musculares têm sua integridade morfológica e funcional mantida pelo tecido conjuntivo, uma matriz extracelular rica em carboidratos e proteínas, que envolve o músculo (CAIERÃO; TEODORI; MINAMOTO, 2007). Este pode ser dividido em três bainhas conjuntivas distintas: o epimísio, que envolve todo o músculo externamente; o perimísio, que o divide em fascículos, cada um contendo várias fibras musculares; e o endomísio, que envolve cada fibra muscular individualmente (DAL

PAI SILVA; CARVALHO, 2007; GILLIES; LIEBER, 2011; OVALLE; NAHIRNEY, 2008).

Várias funções podem ser atribuídas ao tecido conjuntivo do músculo, entre elas a capacidade de preencher o espaço entre as fibras musculares e assim permitir a união e alinhamento entre essas fibras; coordenar a transmissão de força pelo músculo e transmitir o movimento resultante para o tendão e o osso; também é um tecido de sustentação para nervos e vasos sanguíneos; e lubrifica as estruturas, facilitando o deslizamento (PURSLOW, 2005; PURSLOW, 2010; PURSLOW, 2002).

O tecido muscular possui uma elevada capacidade de adaptação estrutural e funcional, a chamada plasticidade neuromuscular. Dessa forma, a massa e a composição são diretamente relacionadas com sua função, podendo ser reguladas de acordo com a carga de trabalho, a atividade e as condições patológicas (HOOD et al., 2006; LIMA et al., 2007; ZHANG; CHEN; FAN, 2007). Ainda, estímulos podem acarretar alterações musculares, como a imobilização, um recurso terapêutico frequentemente usado no tratamento de injúrias músculo-esqueléticas (CORNACHIONE et al., 2013; SAKAKIMA, 2004).

A maioria dos estudos sobre os efeitos da imobilização são realizados em relação às propriedades contráteis do músculo estriado esquelético, em que o principal efeito encontrado é a atrofia, caracterizada pela diminuição da área de secção transversa da fibra muscular e conteúdo proteico (ZHANG; CHEN; FAN, 2007; BARONI et al., 2010). Além disso, a imobilização pode causar mudanças na relação força-comprimento de acordo com a posição em que o músculo é imobilizado (BARONI et al., 2010). Shah et al. (2001) observaram que o número de sarcômeros varia em resposta à perturbação crônica do comprimento, sendo que a imobilização em posição encurtada diminui sua quantidade, enquanto em posição alongada ela aumenta.

Cabe ressaltar que a íntima associação entre a fibra muscular e o tecido conjuntivo circundante é importante na execução da função. Além disso, o colágeno é provavelmente o maior contribuinte da coerência e da propriedade tênsil do tecido conjuntivo muscular (JÓZSA et al., 1990).

Assim, o objetivo do estudo foi analisar o efeito da imobilização e da remobilização pela combinação de natação e salto em meio aquático, sobre os aspectos morfológicos da fibra muscular e do tecido conjuntivo intramuscular do músculo tibial anterior de ratos *Wistar*.

## Materiais e métodos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), *campus* de Cascavel/PR, sob o protocolo 03012, sendo realizado de acordo com as diretrizes internacionais para pesquisas com animais (ZIMMERMANN, 1983).

Foram utilizados 18 ratos machos da linhagem *Wistar*, com 10±2 semanas de idade, mantidos em fotoperíodo claro-escuro de 12 horas e temperatura de 23°C, com água e ração *ad libitum*. Todos os animais tiveram seu membro posterior direito imobilizado e, em seguida, foram divididos em três grupos experimentais, com seis ratos em cada grupo:

- G1: imediatamente eutanasiados após o período de imobilização;
- G2: remobilização livre na gaiola por 14 dias, e, além disso, os animais eram colocados em contato com a água por aproximadamente um minuto, de

maneira que recebessem estímulo aquático diariamente;

- G3: remobilizados por 14 dias por meio de natação e salto em meio aquático, realizados em dias alternados, totalizando 7 dias de tratamento com natação e 7 dias de tratamento com salto.

Neste trabalho, os valores reportados para o membro esquerdo serviram como controle na verificação de adaptações ocorridas no membro direito (imobilizado), da mesma forma que o realizado no estudo de Baroni et al. (2010).

## Protocolo de imobilização

Foi utilizado um aparato de imobilização, confeccionado com material próprio para engessar um segmento corporal, sendo o mesmo: ligadura de tecido saturada com sulfato de cálcio desidratado (CaSO<sub>4</sub>), sob a forma de pó branco, caracterizando uma atadura gessada. Todos os grupos experimentais tiveram a descrita órtese moldada diretamente no membro posterior direito de cada animal, sendo colocada em toda a extensão do membro de forma que este permaneceu em extensão da articulação do joelho e flexão plantar completa do tornozelo, ou seja, em posição de alongamento do tibial anterior, que foi mantida na posição descrita acima por um período de 15 dias consecutivos.

## Protocolo de remobilização

Aos animais do G2 foi permitida a remobilização livre na gaiola e estes foram apenas colocados em contato com a água, a fim de garantir o mesmo tratamento entre os grupos experimentais, minimizando diferentes respostas de estresse pela ação do contato com o meio aquático. Já os animais do G3 foram submetidos à remobilização, alternando exercícios de natação, simulando o nado *crawl*, e salto em meio aquático por 14 dias, sendo que esses animais foram previamente treinados por 5 dias consecutivos, antes do período de imobilização. Nos seis primeiros dias de remobilização, a natação foi realizada durante 20 minutos e os saltos foram efetuados em duas séries de 10 saltos cada. Nos oito dias restantes de remobilização, efetuou-se uma progressão quanto ao tempo e séries dos exercícios realizados, sendo que o tempo de natação foi de 40 minutos e os saltos foram realizados em quatro séries de 10 saltos cada.

O exercício de natação foi realizado sem nenhuma sobrecarga, enquanto o exercício de salto em meio aquático foi realizado com sobrecarga de 50% do peso corporal (GAFFURI et al., 2011).

### **Eutanásia dos animais e preparação histológica**

Os animais do G1, logo após o período de imobilização, e os animais de G2 e G3, logo após a remobilização, foram pesados e anestesiados com cloridrato de quetamina (50mg/Kg) e cloridrato de xilazina (10mg/Kg). Sob o efeito dos anestésicos, os animais foram decapitados em guilhotina. Em seguida, foram coletados o músculo tibial anterior direito e esquerdo. Após a fixação em formol 7%, os músculos foram armazenados em álcool 70% e seguiram o procedimento histológico de rotina para emblocamento em parafina. Foram obtidos cortes transversais de 7 µm das fibras musculares, corados em hematoxilina e eosina e Tricrômico de Mallory (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983). As lâminas foram analisadas em microscópio de luz e fotomicrografadas.

### **Resultados**

Na análise, foi identificado que no músculo tibial anterior esquerdo (controle) dos grupos estudados, as fibras musculares apresentavam-se com contorno poligonal, núcleos em posição periférica e padrão fascicular normal (figura 1A). O conjuntivo intramuscular (perimísio) se mostrou rico em fibras colágenas envolvendo os feixes musculares (figura 1B), com a presença de feixes nervosos e vasos sanguíneos, cujas células principais observadas foram os fibroblastos, dispersos no perimísio (não mostrado).

Os músculos dos animais do G1 (imobilizados) (figura 1C) exibiam grande quantidade de fibras polimórficas, muitas com formato arredondado, mantendo o posicionamento do núcleo; além disso, foi possível verificar a presença de fibras em necrose. Ainda, constatou-se um aumento na quantidade de tecido conjuntivo, com abundância de fibras colágenas, que se mostraram de aspecto descontínuo (figura 1D); também houve um aumento na quantidade de fibroblastos (figura 1C).

Nos animais de G2 e G3, remobilizados livremente e por exercícios terapêuticos, respectivamente,

constatou-se que a maioria das fibras musculares retornou ao seu formato poligonal característico (figura 1E), não sendo visualizadas fibras em necrose. Da mesma forma que o verificado nas fibras musculares, o conjuntivo do perimísio retornou ao seu arranjo normal característico, em grande parte do músculo, tanto no constituinte colágeno, quanto na quantidade de fibroblastos (figura 1F).

### **Discussão**

As alterações morfológicas causadas no formato das fibras musculares do grupo imobilizado (G1) são indicações de lesão muscular, como proposto por Brito et al. (2006). O período de imobilização (15 dias) foi prejudicial para as fibras musculares do tibial anterior, levando-o à degeneração, pois, como verificado, algumas fibras estavam necrosadas. Fernandes et al. (2008) afirmam que a necrose da fibra muscular é o evento inicial da degeneração muscular. Ainda, segundo Rocha et al. (2010), a imobilização pode causar microlesões nas miofibrilas, levando ao aumento de espécies reativas de oxigênio e radicais livres no tecido muscular, conseqüentemente diminuindo a miofibrilogênese e a massa muscular.

Nos animais remobilizados livremente e/ou por exercícios terapêuticos houve uma diminuição das alterações indicativas de lesão na fibra muscular. De acordo com Fernandes et al. (2008), a musculatura esquelética possui a capacidade de se regenerar rapidamente, mesmo após danos considerados severos. Hawke e Garry (2001) afirmam que essa regeneração é promovida por células satélites, que são ativadas e proliferam em resposta a estímulos, como a sobrecarga mecânica. Assim, a recuperação similar das fibras musculares observadas nos animais de G2 e G3 provavelmente seja independente do tipo de remobilização e, sim, resultado da capacidade intrínseca de plasticidade da musculatura esquelética, que ativa mitoticamente as células satélites.

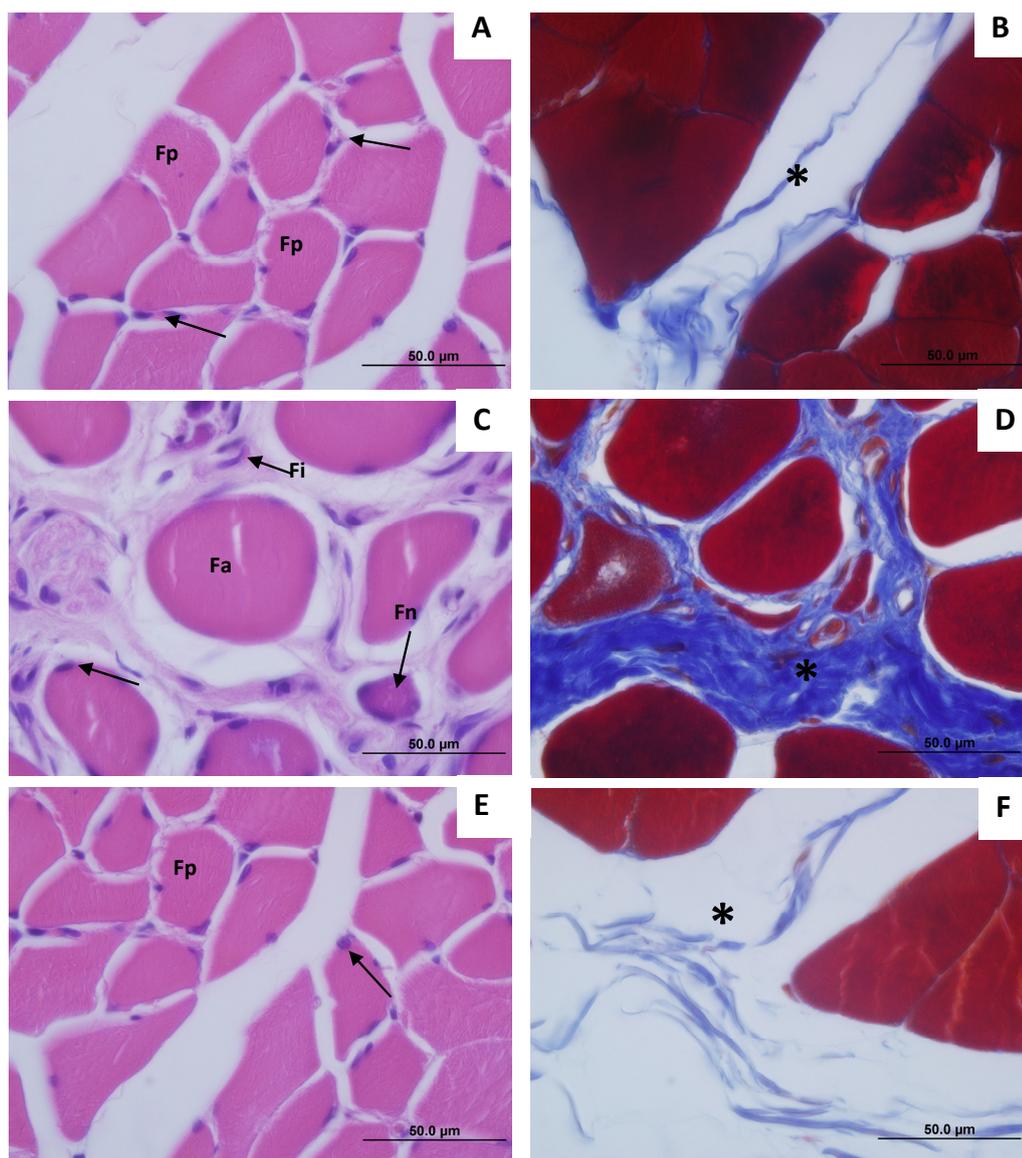
No que tange às modificações do tecido conjuntivo, Lima et al. (2007) observaram que a imobilização diminui a tensão ativa e passiva atuante sobre o músculo, levando a uma alteração no metabolismo dos fibroblastos, que, por sua vez, respondem com o aumento da área de tecido conjuntivo intramuscular, principalmente na imobilização em encurtamento (WILLIAMS; GOLDSPINK, 1984). Apesar de, no

presente estudo, a imobilização do tibial anterior ter sido em alongamento muscular, esse aumento do tecido conjuntivo intramuscular também foi observado. De acordo com Desmoulière (1995) e Gabbiani (1993), essa proliferação e deposição de tecido conjuntivo é um mecanismo de resposta dos fibroblastos frente a uma lesão, objetivando a cicatrização e reparação tecidual.

Kannus et al. (1998) observaram em seu estudo que três semanas de imobilização causaram um

aumento da área de tecido conjuntivo nos músculos sóleo e gastrocnêmio. No mesmo estudo, após oito semanas de remobilização livre ou corrida em esteira, a área de tecido conjuntivo intramuscular retornou aos níveis controle. Embora os músculos estudados, os tempos de imobilização e os protocolos de remobilização tenham sido distintos do presente estudo, também foi verificada uma diminuição da quantidade de tecido conjuntivo após a remobilização.

**Figura 1** - Fotomicrografias do músculo tibial anterior de ratos *Wistar*, controle (A e B), G1 (C e D) e G3 (E e F). Corte transversal, coloração hematoxilina-eosina (A, C e E) e tricrômico de Mallory (B, D e F). Em A, fibras poligonais (Fp) com núcleos periféricos (seta) e em B, conjuntivo rico em fibras colágenas (asterisco). Em C, fibras arredondadas (Fa) e em necrose (Fn), e aumento na quantidade de fibroblastos (Fi). Em D, aumento na quantidade de conjuntivo, que se apresentou com aspecto desorganizado (asterisco). Em E, fibras poligonais (Fp) com núcleos periféricos (seta) e, em F, conjuntivo levemente desorganizado e de aspecto descontínuo (asterisco).



Woo et al. (1975) afirmaram que a imobilização reduz a quantidade de água e glicosaminoglicanas, tornando o tecido conjuntivo menos elástico e mais quebradiço, respondendo pelo aspecto descontínuo verificado. Venojärvi et al. (2004) observaram que o exercício promove um alinhamento mais funcional das fibras colágenas que compõem o tecido conjuntivo intramuscular; assim, a remobilização livre e por associação de exercícios terapêuticos apresenta um efeito reparador sobre o conjuntivo intramuscular.

Além disso, observou-se que exercícios com maior intensidade, com os parâmetros realizados em G3, não se mostraram mais eficazes na recuperação tanto da fibra quanto do tecido conjuntivo. Assim, como já proposto por Caierão, Teodori e Minamoto (2007), a mobilização, seja livre ou forçada, é benéfica no remodelamento do músculo estriado esquelético.

Cabe ressaltar que profissionais de saúde devem estar cientes dessas alterações causadas sobre a morfologia da fibra e do tecido conjuntivo muscular, após um período de imobilização, o que constitui subsídio para um melhor atendimento terapêutico.

### Conclusão

Conclui-se que a imobilização afeta o tecido muscular, tanto a morfologia das fibras musculares, quanto o tecido conjuntivo intramuscular do tibial anterior. A remobilização livre e por exercícios terapêuticos causou melhora nos aspectos morfológicos da fibra muscular, assim como no tecido conjuntivo intramuscular.

### Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo fornecimento da bolsa de Mestrado; à UNIOESTE e ao Programa de Mestrado em Biociências e Saúde, pela oportunidade do desenvolvimento desta pesquisa.

### Referências

BARONI, B. M.; GALVÃO, A. Q.; RITZEL, C. H.; DIEFENTHAELER, F.; VAZ, M. A. Adaptações neuromusculares de flexores dorsais e plantares a duas semanas de imobilização após entorse de tornozelo. **Rev Bras Med Esporte**, v. 16, n. 5, p. 358-362, 2010.

BERCHTOLD, M. W.; BRINKMEIER, H.; MUNTENER, M. Calcium ion in skeletal muscle: its crucial role for muscle

function, plasticity, and disease. **Physiol Rev**, v. 80, n. 3, p. 1215-1265, 2000.

BRITO, M. K. M.; CAMARGO FILHO, J. C. S.; VANDERLEI, L. C. M.; TARUMOTO, M. H.; DAL PAI, V.; GIACOMETTI, J. A. Geometrical dimensions of fibers from the soleum muscle in rats exercised on treadmill: the importance of the analysis by means of digitalized images. **Rev Bras Med Esporte**, v. 12, n. 2, p. 103-107, 2006.

CAIERÃO, Q. M.; TEODORI, R. M.; MINAMOTO, V. B. A influência da imobilização sobre o tecido conjuntivo muscular: uma revisão. **Rev Fisioter Movimento**, v. 20, n. 1, p. 87-92, 2007.

CORNACHIONE, A. S.; CAÇÃO-BENEDINI, L. O.; BENEDINI-ELIAS, P. C. O.; MARTINEZ, E. Z.; MATTIELLO-SVERZUT, A. C. Effects of 40 min of maintained stretch on the soleus and plantaria muscles of rats applied for different periods of time after hindlimb immobilization. **Acta Histochem**, v. 115, n. 5, p. 505-511, 2013.

DAL PAI-SILVA, M.; CARVALHO, R. F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. **Rev Bras Zootecnia**, v. 36, supl. Especial, p. 21-31, 2007.

DESMOULIÈRE, A. Factors influencing myofibroblast differentiation during wound healing and fibrosis. **Cell Biol Int**, v. 19, p. 471-476, 1995.

FERNANDES, T.; SOCI, U. P. R.; ALVES, C. R.; CARMO, E. C.; BARROS, J. G.; OLIVEIRA, E. M. Determinantes moleculares da hipertrofia do músculo esquelético mediados pelo treinamento físico: estudo de vias de sinalização. **Rev Mackenzie Edu Fís Esporte**, v. 7, n. 1, p. 169-188, 2008.

GABBIANI, G. Modulation of fibroblastic cytoskeletal features during wound healing and fibrosis. **Boll Zoologia**, v. 60, n. 4, p. 399-401, 1993.

GAFFURI, J.; MEIRELES, A.; ROCHA, B. P.; ROSA, C. T.; ARTIFON, E. L.; SILVA, L. I.; MOREIRA, N. B.; BERTOLINI, G. R. F. Avaliação do exercício físico como fator de analgesia em um modelo experimental de cialgia. **Rev Bras Med Esporte**, v. 17, n. 2, p. 115-118, 2011.

GILLIES, A. R.; LIEBER, R. L. Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix. **Muscle Nerve**, v. 44, n. 3, p. 318-331, 2011.

HAWKE, T. J.; GARRY, D. J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. **J Appl Physiol**, v. 91, p. 534-551, 2001.

HOOD, D. A.; IRRCHER, I.; LJUBICIC, V.; JOSEPH, A. M. Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle. **J Exp Biol**, v. 209, p. 2265-2275, 2006.

JÓZSA, L.; KANNUS, P.; THÖRING, J.; REFFY, A.; JÄRVINEN, M.; KVIIST, M. The effect of tenotomy and immobilization on intramuscular connective tissue: a

- morphometric and microscopy study in rat calf muscles. **J Bone Joint Surg Br**, v. 72b, n. 2, p. 293-297, 1990.
- JUNQUEIRA, L. C.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos, 1983.
- KANNUS, P.; JOZSA, L.; JÄRVINEN, T. L. N.; KVIST, M.; VIENO, T.; JÄRVINEN, T. A. H.; NATRI, A.; JÄRVINEN, M. Free mobilization and low- to high-intensity exercise in immobilization-induced muscle atrophy. **J Appl Physiol**, v. 84, p. 1418-1424, 1998.
- LIMA, S. C.; CAIERÃO, Q. M.; DURIGAN, J. L. Q.; SCHWARZENBECK, A.; SILVA, C. A.; MINAMOTO, V. B.; GUIRRO, R. R. J. Curto período de imobilização provoca alterações morfológicas e mecânicas no músculo de rato. **Rev Bras Fisioter**, v. 11, n. 4, p. 297-302, 2007.
- OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. **Netter: bases da histologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- PURSLOW, P. P. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality – review. **Meat Sci**, v. 70, p. 435-447, 2005.
- PURSLOW, P. P. Muscle fascia and force transmission. **J Bodyw Mov Ther**, v. 14, p. 411-417, 2010.
- PURSLOW, P. P. The structure and functional significance of variations in the connective tissue within muscle. **Comp Biochem Physiology Part A**, v. 133, p. 947-966, 2002.
- ROCHA, W. A.; GOBBI, G. A.; ARAUJO, V. F.; SANTUZZI, C. H.; COUTINHO, G. C.; NOGUEIRA, B. V.; GONÇALVES, W. L. S. Alterações morfofuncionais musculares em resposta ao alongamento passivo em modelo animal de imobilização prolongada de membro posterior. **Rev Bras Med Esporte**, v. 16, n. 6, p. 450-454, 2010.
- SAKAKIMA, H. Effects of immobilization and subsequent low and high frequency treadmill running on rat soleus muscle and ankle joint movement. **J Phys Ther Sci**, v. 16, p. 43-48, 2004.
- SATO, S.; SHIRATO, K.; TACHIYASHIKI, K.; IMAIZUMI, K. Muscle plasticity and  $\beta_2$ -adrenergic receptors: adaptive responses of  $\beta_2$ -adrenergic receptor expression to muscle hypertrophy and atrophy. **J Biomed Biotechnol**, v. 2011, p. 1-10, 2011.
- SHAH, S. B.; PETERS, D.; JORDAN, K. A.; MILNER, D. J.; FRIDÉN, J.; CAPETANAKI, Y.; LIEBER, R. L. Sarcomere number regulation maintained after immobilization in desmin-null mouse skeletal muscle. **J Exp Biol**, v. 204, p. 1703-1710, 2001.
- VENOJÄRVI, M.; KVIST, M.; ATALAY, M.; JOZSA, L.; KALIMO, H. Recovery from immobilization: responses of fast-twitch muscle fibres to spontaneous and intensive exercise in rat calf muscles. **Pathophysiology**, v. 11, n. 1, p. 17-22, 2004.
- WILLIAMS, P. E.; GOLDSPIK, G. Connective tissue changes in immobilized muscle. **J Anat**, v. 138, p. 343-504, 1984.
- WOO, S. L.; MATTHEWS, J. V.; AKESON, W. H.; AMIEL, D.; CONVERY, F. R. Connective tissue response to immobility: correlative study of biomechanical measurements of normal and immobilized rabbit knees. **Arthritis Rheum**, v. 18, n. 3, p. 257-264, 1975.
- ZHANG, P.; CHEN, X.; FAN, M. Signaling mechanisms involved in disuse muscle atrophy. **Med Hypotheses**, v. 69, p. 310-321, 2007.
- ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, n. 2, p. 109-110, 1983.