



e-ISSN 2446-8118

## HISTOMORFOMETRIA DO FÊMUR DE RATOS REMOBILIZADOS POR NATAÇÃO E SALTO EM MEIO AQUÁTICO

## HISTOMORPHOMETRY IN SWIMMING RATS OF REMOBILIZED FEMUR AND JUMP IN WATER MEDIA

## HISTOMORFOMETRÍA EN RATAS DE NATACIÓN DE RE MOVILIZADO FÊMUR Y SALTO EN MEDIA AGUA

42

Juliana Souza dos Santos<sup>1</sup>  
Regina Inês Kunz<sup>2</sup>  
Gustavo Henrique dos Reis<sup>1</sup>  
Camila Mayumi Martin Kakihata<sup>3</sup>  
Gladson Ricardo Flor Bertolini<sup>4</sup>  
Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro<sup>5</sup>  
Rose Meire Costa Brancalhão<sup>6</sup>

### RESUMO

O estresse mecânico é um dos principais fatores responsáveis por alterações na morfologia, força e densidade mineral óssea. O estudo teve como objetivo verificar os efeitos da imobilização e da remobilização por associação de exercícios terapêuticos em meio aquático, sobre a morfologia do fêmur de ratos *Wistar*. Os animais foram imobilizados por 15 dias, divididos em três grupos de seis animais cada: G1, somente imobilizados; G2, remobilizados livremente; G3, remobilizados através de natação e salto em meio aquático. Fêmures direitos (imobilizados ou tratados) e esquerdos (controle) foram coletados e processados para análise em microscopia de luz. A histomorfometria, não revelou diferenças entre os grupos, em relação à área do canal medular e espessura do osso cortical, nos lados controle (esquerdo) e imobilizado/remobilizado (direito), bem como na comparação entre grupos. O mesmo foi verificado com relação ao número de osteócitos. No entanto, houve um aumento do número de osteócitos no fêmur esquerdo (controle) dos animais remobilizado pelo exercício, que pode estar relacionado à aplicação de uma maior carga compressiva no membro contralateral, durante o período de imobilização. Neste sentido, o protocolo de exercício em meio aquático estabelecido não apresentou resultados positivos na remobilização.

**DESCRITORES:** Tecido Ósseo; Morfologia; Exercício Terapêutico; Imobilização.

### ABSTRACT

- <sup>1</sup> Graduanda em Ciências Biológicas Licenciatura, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Unioeste, Cascavel, Paraná.  
<sup>2</sup> Mestre em Biociências e Saúde, Unioeste. Doutoranda em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná.  
<sup>3</sup> Graduanda em Fisioterapia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Unioeste, Cascavel, Paraná.  
<sup>4</sup> Fisioterapeuta, Professor Adjunto, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Unioeste, Cascavel, Paraná.  
<sup>5</sup> Bióloga, Professor Adjunto, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Unioeste, Cascavel, Paraná.  
<sup>6</sup> Bióloga, Professor Associado, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Unioeste, Cascavel. e-mail: rosecb@gmail.com.

Mechanical stress is a major factor responsible for changes in morphology, strength and bone mineral density. The study aimed to determine the effects of immobilization and remobilization by association of therapeutic exercise in the aquatic environment, on the morphology of the femur of Wistar rats. The animals were immobilized for 15 days were divided into three groups of six animals each: G1, only immobilized; G2 remobilised freely; G3, remobilized through swimming and jumping in water. Right femurs (fixed or treated) and left (control) were collected and processed for analysis by light microscope. The morphometric study showed no differences between groups in relation to the area of medullary canal and thickness of cortical bone in the control side (left) and immobilized / remobilized (right), and the comparison between groups. The same was observed with the number of osteocytes. However, an increase in the number of osteocytes on the left femur (control) of animals remobilized by exercises, which may be related to the application of a greater compressive load on the contralateral limb during the immobilization period. In this sense, the exercise protocol established in the aquatic environment is not effective for the remobilization.

**DESCRIPTORS:** Bone Tissue; Morphology; Therapeutic Exercise; Immobilization.

## RESUMEN

El estrés mecánico es el principal factor responsable por los cambios en la morfología, la fuerza y la densidad mineral ósea. El objetivo del estudio fue determinar los efectos de la inmovilización y re movilización por asociación de ejercicio terapéutico en el medio acuático, en la morfología del fémur de ratas *Wistar*. Los animales fueron inmovilizados por 15 días y divididos en tres grupos de seis animales cada uno: G1, solamente inmovilizado; G2 re movilizado libremente; G3, re movilizado por medio de la natación y salto en el agua. Fémures derechos (fijos o tratados) y izquierdo (control) fueron recogidos y procesados para análisis en microscopio de luz. El estudio morfo métrico no mostró diferencias entre los grupos en relación a la zona del canal medular y el espesor del hueso cortical, en el lado de control (izquierda) y inmovilizada/re movilizado (derecha), así como en la comparación entre los grupos. Lo mismo se observó con el número de osteocitos. Sin embargo, hubo un aumento en el número de osteocitos en el fémur izquierdo (control) de los animales re movilizado por el ejercicio, que puede estar relacionado con la aplicación de una mayor carga de compresión en la extremidad contralateral, delante el período de inmovilización. Por lo tanto, el protocolo de ejercicio establecido en el medio acuático no se mostró positivo para la re movilización.

**DESCRIPTORES:** Tejido Óseo; Morfología; Ejercicio Terapéutico; Inmovilización.

## INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é uma estrutura extremamente plástica que se apresenta em constante remodelação, com capacidade de se adaptar a mudanças de tensão e pressão.<sup>1-2</sup> Ainda, é frequente sua alteração por modificações no metabolismo,<sup>3-4</sup> pois recebe influência de diversos hormônios durante seu desenvolvimento.<sup>5</sup> Apesar de serem estruturas rígidas, os ossos estão sujeitos a patologias como neoplasias, cistos ósseos, displasias fibrosas, deformações e fraturas;<sup>6-7</sup> sendo esta última bastante comum e pode causar mortalidade e perda funcional.<sup>8</sup> Sua incidência aumenta com a idade, e se apresenta associada a um maior

número de quedas e doenças, como a osteoporose, estando entre uma das maiores causas de internação de idosos no Brasil.<sup>9</sup>

A imobilização é um tratamento usado frequentemente no tratamento de lesões musculoesqueléticas;<sup>2,10,11</sup> contudo, longos períodos dessa terapia levam a perdas das propriedades ósseas, cuja recuperação varia com o tipo de imobilização realizada e a idade.<sup>12</sup> Alguns indivíduos recuperam sua funcionalidade óssea em curto período de tempo após lesões, porém é possível que haja o aparecimento de sinais e sintomas residuais.<sup>13</sup>

Várias formas de remobilização podem ser adotadas na recuperação musculoesquelética,<sup>9,12,14</sup> dentre elas a

massagem,<sup>15-16</sup> a remobilização livre<sup>17</sup> e exercícios físicos, como a corrida,<sup>18</sup> a natação e o salto em meio aquático.<sup>19</sup> De acordo com Bourrin et al.,<sup>20</sup> há uma forte relação entre atividade física, massa e densidade mineral óssea, de forma que os exercícios físicos são preconizados como uma estratégia para impedir a perda óssea e possibilitar a manutenção da integridade do esqueleto.

Apesar disso, não são conhecidos todos os mecanismos pelos quais o exercício físico promove seus benefícios sobre o tecido ósseo<sup>21</sup> e nem qual o tipo e intensidade de exercício que melhor se adapte a fase de remobilização.<sup>22</sup> Desta forma, a compreensão da relação entre uso/desuso e degeneração do tecido ósseo representa uma etapa importante na tentativa de desenvolver estratégias de reabilitação após a imobilização.<sup>23</sup> Neste sentido, o estudo avaliou o efeito da remobilização por natação e salto em meio aquático, sobre a morfologia do fêmur de ratos Wistar, verificando se estes exercícios representam uma estratégia terapêutica que afeta de forma positiva a recuperação do tecido ósseo.

## 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, seguindo todas as diretrizes internacionais para o estudo com animais. Foram utilizados 18 ratos machos da linhagem *Wistar*, com doze semanas de idade, mantidos em fotoperíodo claro-escuro de doze horas, com água e ração *ad libitum*.

Uma semana após a aclimatação, todos os animais tiveram seu membro posterior direito imobilizado por um período de 15 dias. A imobilização foi realizada por meio de atadura gessada, moldada diretamente ao corpo do animal, mantendo a extensão completa do joelho e flexão plantar completa do tornozelo, conforme modelo proposto por Carvalho et al.<sup>22</sup> Após os 15 dias de imobilização, os animais foram divididos em três grupos, com seis ratos em cada grupo:

G1 – imediatamente eutanasiados após o período de imobilização;

G2 – remobilização livre na gaiola, e contato com a água por aproximadamente um minuto por 14 dias, 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. 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, com 30 segundos de intervalo entre as séries. Nos oito dias restantes de remobilização, foi efetuada a 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 com intervalo de 1 minuto entre as séries. 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, adaptado de Gaffuri et al.<sup>23</sup>

Os animais do G1, logo após o período de imobilização, e os animais de G2 e G3, logo após a remobilização livre e por exercícios em meio aquático, respectivamente, 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 e foram dissecados os fêmures direitos e esquerdos.

Posterior a fixação em formol 10% e descalcificação em ácido tricloroacético 5%, o material seguiu o procedimento histológico de rotina para inclusão em parafina. Foram obtidos cortes transversais de 7 µm dos fêmures, corados em hematoxilina e eosina.<sup>24</sup> As lâminas foram fotomicrografadas em microscópio de luz BX60 Olympus® (USA) e as imagens obtidas foram analisadas com o auxílio do Programa Image Pro Plus 6.0 (USA). Os parâmetros histomorfométricos avaliados foram: área do canal medular; espessura do osso cortical e número de osteócitos, realizados em quatro pontos equidistantes.

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 por Baroni et al.<sup>20</sup> Foi utilizado o teste t de Student pareado para comparação entre os lados controle e imobilizado/remobilizado e Anova

One Way com pós-teste de Tukey para a comparação entre os grupos. Estabeleceu-se  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo.

## RESULTADOS

Nas análises histomorfométricas do fêmur dos ratos *Wistar* imobilizados e remobilizados por exercícios em meio aquático, não houve diferenças entre os grupos em relação à área do canal medular nos lados controle (esquerdo) e imobilizado/remobilizado (direito),

bem como na comparação entre grupos (figura 1). Quanto à espessura do osso cortical, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos estudados (figura 2). Na análise do número de osteócitos, também não houve diferenças entre os lados controle e imobilizado/remobilizado de nenhum grupo, bem como na comparação do membro tratado nos diferentes grupos. Porém, houve um aumento do número de osteócitos no fêmur esquerdo (controle) de G3 quando comparado com G1 (figura 3).

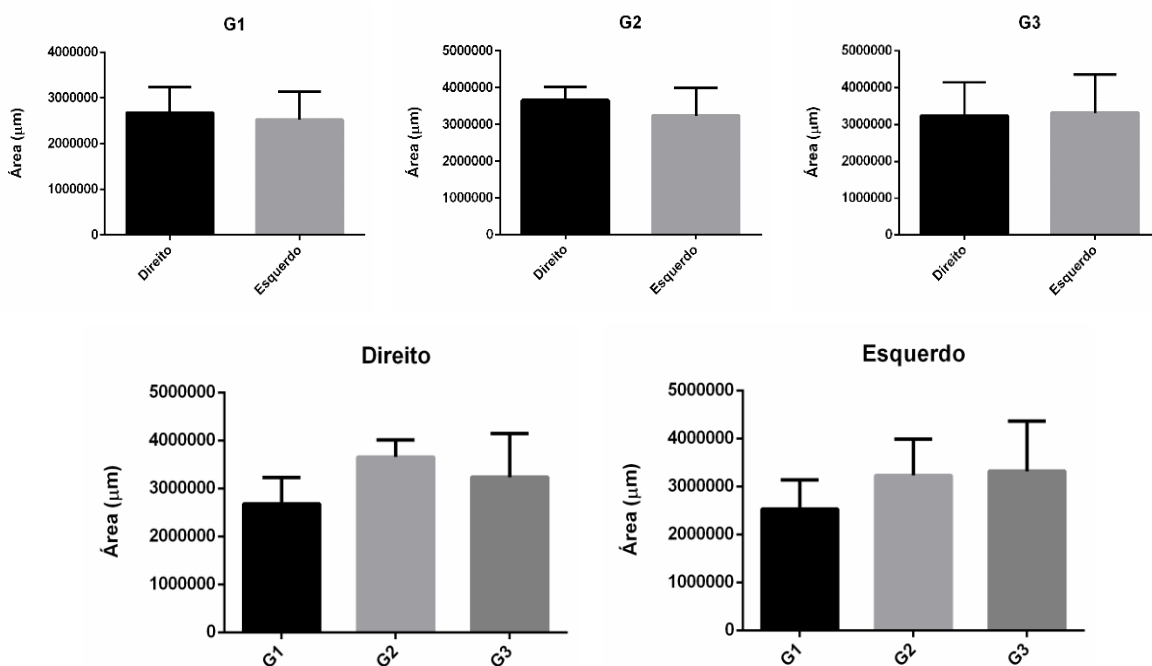


Figura 1: Área do canal medular do fêmur.

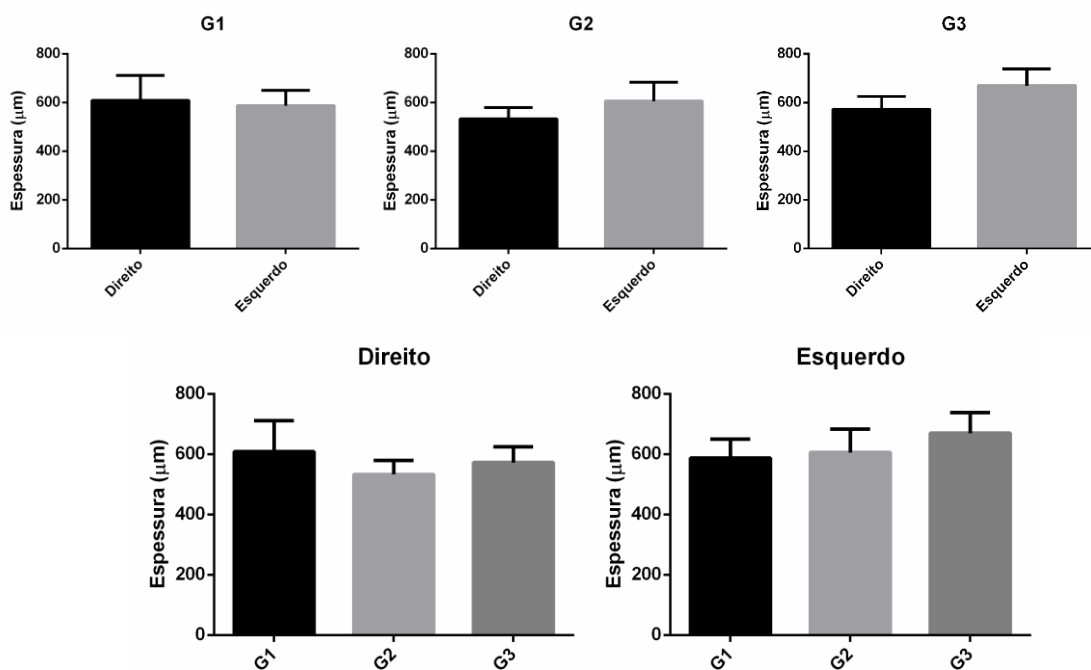


Figura 2: Espessura do osso cortical do fêmur.

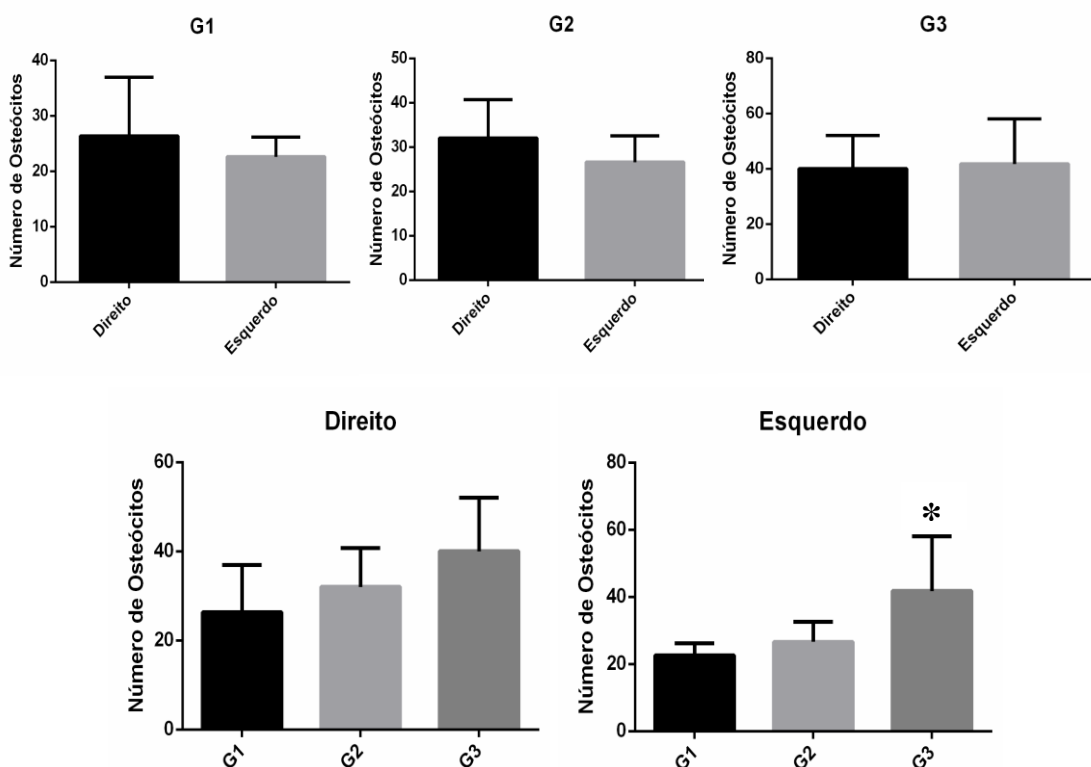


Figura 3: Número de osteócitos do fêmur.

\* diferença estatisticamente significativa entre G1 e G3 no membro esquerdo.

## DISCUSSÃO

A imobilização de segmentos corporais, apesar de ser um método utilizado com frequência no reparo de fraturas, pode levar a

danos colaterais,<sup>10,25,26</sup> como reabsorção óssea, aumento de excreção de cálcio pelo aparelho urinário e diminuição da densidade óssea.<sup>27</sup> Durante a imobilização a diminuição da solitação mecânica resulta em formação óssea

diminuída e deixa a atividade de reabsorção dos osteoclastos temporariamente sem oposição, levando a um aumento da área do canal medular e diminuição da espessura do osso cortical.<sup>28</sup>

Kaneps et al.<sup>12</sup> estudaram cachorros imobilizados por dezesseis semanas e verificaram que este tempo de imobilização resultou em diminuição significativa da resistência e rigidez do tecido ósseo cortical e esponjoso. No estudo de Young et al.<sup>27</sup>, realizado com primatas, verificaram que com um mês de imobilização ocorrem modificações morfológicas causadas por aumento da reabsorção óssea. Maeda et al.<sup>28</sup> verificaram perda significativa de osso esponjoso em ratos submetidos à seis semanas de imobilização.

Entretanto, no presente estudo, o tempo de imobilização por quinze dias não foi suficiente para se observar alterações significativas na área do canal medular, espessura do osso cortical e número de osteócitos do fêmur. Vistas as diferenças no protocolo de imobilização utilizado, não foram observadas as alterações morfológicas do tecido ósseo descritas na literatura.

A remobilização livre e por exercícios físicos em meio aquático utilizado não alterou os parâmetros histomorfométricos do fêmur. Segundo Perpignanado<sup>29</sup>, os ossos se formam e se remodelam em respostas a forças mecânicas, existindo uma relação entre o nível de atividade física e volume do osso. Assim, a força mecânica gerada pelo exercício estimula a atividade osteoblástica e quanto maior o estímulo empregado ao osso, maior a formação ou regeneração.<sup>32</sup> Estudos têm demonstrado os benefícios do exercício no tecido ósseo<sup>21, 30-34</sup>, tanto na prevenção<sup>35</sup> como na reabilitação de doenças e fraturas.<sup>36-37</sup> Na revisão feita por Guadalupe-Grau et al.<sup>36</sup> envolvendo técnicas de histomorfometria óssea, foi constatado que modalidades de exercício que requerem maior esforço físico, geram mais impacto no tecido ósseo e maior potencial osteogênico. Exercícios em meio aquático podem ser considerados atividades de pouco impacto,<sup>38-39</sup> sendo esse provavelmente o motivo pelo qual não se observou diferenças significativas no tecido ósseo após a remobilização por natação e salto em meio aquático.

Assim, a recuperação tecidual vai depender do tipo de imobilização, idade,

segmento corporal envolvido, espécie animal, tipo e intensidade do exercício preconizado na remobilização.<sup>12,40,41</sup>

Ainda, este estudo demonstrou um aumento no número de osteócitos do fêmur esquerdo (controle), dos animais remobilizados por exercícios em meio aquático (G3), em comparação aos animais somente imobilizados (G1), e remobilizados livremente (G2). Isto pode ser o resultado da aplicação de uma maior carga compressiva no membro esquerdo, durante os 15 dias de imobilização do direito. Além disso, o membro esquerdo foi submetido a uma rotina de exercícios, o que poderia explicar o aumento do número de células em comparação com os outros grupos que não se exercitaram. Estudos realizados por Setton et al.<sup>40</sup> e Leroux et al.<sup>41</sup>, na cartilagem articular, também demonstraram mudanças morfológicas e funcionais nos membros contralaterais, correlacionando seus achados à maior utilização do membro esquerdo na locomoção durante o período de imobilização do direito.

Kunz et al.<sup>17</sup> utilizando-se do mesmo protocolo de imobilização e remobilização verificaram diversas alterações morfológicas na cartilagem articular do tornozelo de ratos, demonstrando que este tecido é afetado mais prontamente a curtos períodos de imobilização. Estes dados evidenciam as diferentes respostas dos tecidos ósseo e cartilágneo frente a lesões, e que devem ser consideradas na elaboração de protocolos de reabilitação física.

## CONCLUSÃO

Concluiu-se que a utilização do protocolo de quinze dias de imobilização e quatorze dias de remobilização (livre e por exercícios físicos de natação e salto em meio aquático), não alteraram os parâmetros histomorfométricos do canal medular, espessura do osso cortical e número de osteócitos do fêmur de ratos *Wistar*.

## AGRADECIMENTOS

A Fundação Araucária pelo fornecimento da bolsa de Iniciação Científica, e a UNIOESTE pela oportunidade do desenvolvimento desta pesquisa.

## REFERÊNCIAS

1. Currey J. The effects of drying and re-wetting on some mechanical properties of cortical bone. *Journal of Biomechanics*. 1988; 21(5): 439-41.
2. Fratashi MEBM. Efeitos da imobilização e remobilização em algumas propriedades mecânicas do osso. [dissertação] Ribeirão Preto: USP/Mestrado de Bioengenharia; 2002.
3. Antoniazzi MCC, Carvalho PL, Koide CH. Importância da anatomia radiográfica para a interpretação de patologias ósseas. *Revista Gaúcha de Odontologia*. 2008 Abr-jun; 56(2): 195-199.
4. Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Fundamentos de Biologia Celular*. 3a ed. Porto Alegre, RS: Artmed. 2011.
5. Mendoza EG, Razin A, Tesar LL. Effective tax rates in macroeconomics: cross-country estimates of tax rates on factor incomes and consumption. NBER Working Paper, n. 4864. National Bureau of Economic Research, Massachusetts Avenue, Cambridge. 1994; 1-34.
6. Plapler, PG. Osteoporose e exercícios. *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo*. 1997; 52(3): 163-170.
7. Martins MA, Carrilho FJ, Alves VAF.; CA EA. *Clínica Médica – Doenças Endócrinas e Metabólicas, Doenças Ósseas, Doenças Reumatológicas*. 5a. ed. São Paulo, Manole, 2009.
8. Sakaki MH, Oliveira AR, Coelho FF, Leme LEG, Suzuki I, Amatuzzi MM. Estudo da mortalidade na fratura do fêmur proximal em idosos. *Acta Ortopédica Brasileira*. 2004; 12(4): 242-249.
9. Souza SF, Mazzanti A, Raizer AG, Salbergo FZ, Fonseca ET, Festugatto R. Reabilitação em cães submetidos a artroplastia do joelho. *Ciência Rural*. 2006; 36(5): 1456-1461.
10. Pennock JM, Kalu DN, Clarck MB, Foster GV, Doyle FH. Hipoplasia of bone induced by immobilization. *The British Journal of Radiology*. 1972; 45(537): 641-646.
11. Appel HJ. Muscular atrophy following immobilization. *Sports Medicine*. 1990; 10(1): 42-58.
12. Kaneps AJ, Stover SM, Lane NE. Changes in canine cortical and cancellous bone mechanical properties following immobilization and remobilization with exercise. *Bone*. 1997; 21(5): 419-423.
13. Dângelo JG, Fattini CA. *Anatomia Humana Sistemica e Segmentar*. 2a. ed. São Paulo: Atheneu 1998.
14. Heerkens YF, Woittiez RD, Huijing PA, Huson A, Shenau GJVI, Rozendal R. Passive resistance of the human knee: the effect of remobilization. *J. Biomed*. 1986 April; 8(2): 95-104.
15. Trębacz H, Zdunek A. Three-point bending and acoustic emission study of adult rat femora after immobilization and free remobilization. *Journal of Biomechanics*. 2006; 39: 237-245.
16. Young DA, Ibrahim DO, Hu D, Christman KL. Injectable hydrogel scaffold from decellularized human lipoaspirate. *Acta Biomaterialia*. 2011; 7(3): 1040-1049.
17. Kunz RI, Coradini JG, Silva LI, Bertolini GRF, Brancalhão RC, Ribeiro LFC. Effects of immobilization and remobilization on the ankle joint in Wistar rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2014; 47 (10): 842-849.
18. Bourrin S, Genty C, Palle S, Gharib C, Alexandre C. Adverse effects of strenuous exercise: a densitometric and histomorphometric study in the rat. *Journal of Applied Physiology*. 1994 May; 76 (5): 1999-2005.
19. Ocarino NM, Serakides R. Efeito da atividade física no osso normal e na prevenção e tratamento da osteoporose. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2006; 12(6): 164-168.
20. Baroni BM, Galvão AQ, Ritzel CH, Diefenthaler F, Vaz MA. Adaptações neuromusculares de flexores dorsais e plantares a duas semanas de imobilização após entorse e tornozelo. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2010; 16(5): 358-362.
21. Amadei SU, Silveira VAS, Pereira AC, Carvalho YR, Rocha RF. A influência da deficiência estrogênica no processo de remodelação e reparação óssea. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2006; 42 (1): 5-12.

22. Carvalho CMM, Shimano A, Volpon JB. Effects of immobilization and physical training on the mechanical properties of the striated muscle. *Revista Brasileira de Engenharia Biomédica*. 2002; 18(2): 65-73.
23. Gaffuri J, Meireles A, Rocha BP, Rosa CT, Artifon EL, Silva LI. et al. Physical exercise assessment as an analgesia factor in a sciatica experimental model. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2011; 17(2):115-118.
24. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica*. 11a. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008.
25. Deitrick JE, Whedon D, Shorr E. Effects of immobilization upon various metabolic and physiologic functions in normal men. *American Journal of Medicine*. New York, 1946.
26. Kannus P, Sievänen H, Järvinen TLN, Järvinen M, Kvist M, Oja P, Vuori I, Jozsa L. Effects of free mobilization and low to high intensity treadmill running on the immobilization induced bone loss in rats. *Journal Bone Miner Res*. 1994; 9(10): 1613-1619.
27. Young DR, Nikolwitz WJ, Brown RJ, Jee WSS. Immobilization-associated osteoporosis in primates. *Bone*. 1986; 7(2): 109-117.
28. Maeda H, Kimmel DB, Raab DM, Lane NE. Musculoskeletal recovery following hindlimb immobilization in adult female rats. *Bone*. 1993; 14(2):153-159.
29. Perpignanado G, Borgliolo A, Mela Q, Demontis L, Palia A. Attività fisica ed osteoporosi. *Clinical Therapeutics*. 1993; 142(3): 201-206.
30. Bálsamo S, Bottaro M. Os benefícios dos exercícios com pesos no tratamento e prevenção da osteoporose: uma revisão. *Revista Euro-AM*. 2000; 2(2): 143-148.
31. Zazula FC, Pereira MAS. Fisiopatologia da osteoporose e o exercício físico como medida preventiva. *Ciências da Saúde UNIPAR*. 2003; 7(3): 269-275.
32. Silva CC, Teixeira AS, Goldberg TBL. O esporte e suas implicações na saúde óssea de atletas adolescentes. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2003; 9(6): 426-432.
33. Karan FC, Meyer F, Souza AC. A. Esporte como prevenção da osteoporose: um estudo da massa óssea de mulheres pós-menopausadas que foram atletas de voleibol. *Ver. Bras. Med. de Esporte*. 1999; 5(3): 86-92.
34. Tunakken J, Peng Z, Vaananen HK. Effect of running exercise on the bone loss induced by orchidectomy in the rat. *Calcified Tissue*. 1994; 55(1): 33-37.
35. Dirusso P, Oishi J, Rennó ACM, Ferreira V. Efeitos de um programa de atividade física na qualidade de vida de mulheres com osteoporose. *Fisioterapia e pesquisa*. 2000; 7(1/2): 1-9.
36. Guadalupe-Grau A, Fuentes T, Guerra B, Calbet JAL. Exercise and bone mass in adults. *Sports Med*. 2009; 39: 439-468.
37. Graef FI, Kruel FM. Frequência cardíaca e percepção subjetiva do esforço em meio aquático: diferenças em relação ao meio terrestre e aplicações na prescrição do exercício – uma revisão. *Soc. Bras. De Med. do Esporte*. 2006 Jul-Agos; 12(4): 221-228.
38. Christensen B, Dyrberg E, Aagaard P, Enejhlm S, Krogsgaard M, Kjaer M, et al. Effects of long-term immobilization and recovery on human triceps surae and collagen turnover in the Achilles tendon in patients with healing ankle fracture. *Journal of Applied Physiology*. 2008a; 105: 420-426.
39. Christensen B, Dyrberg E, Aagaard P, Kjaer M, Langberg H. Short-term immobilization and recovery affect skeletal muscle but not collagen tissue turnover in humans. *Journal of Applied Physiology*. 2008b; 105: 1845-1851.
40. Setton LA, Mow VC, Muller FJ, Pita JC, Howell DS. Mechanical behavior and biochemical composition of canine knee cartilage following periods of joint disuse and disuse with remobilization. *Osteoarthritis Cartilage*. 1997; 5(1): 1-16.
41. Leroux MA, Cheung HS, Bau JL, Wang JY, Howell DS, Setton LA. Altered mechanics and histomorphometry of canine tibial cartilage following joint immobilization. *Osteoarthritis Cartilage*. 2001; 9: 633-640.

Recebido em: 10.05.2015  
Aprovado em: 04.06.2015