

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA E CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA

DENSIDADE MINERAL ÓSSEA DE VÉRTEBRAS DE
RATOS WISTAR SUSPENSOS PELA CAUDA POR 15 E
36 DIAS

Eduardo Antonietto
Fisioterapeuta

ARAÇATUBA – SP
2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA E CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA

DENSIDADE MINERAL ÓSSEA DE VÉRTEBRAS DE
RATOS WISTAR SUSPENSOS PELA CAUDA POR 15 E
36 DIAS

Eduardo Antonietto

Orientador: Prof. Adj. Mário Jefferson Quirino Louzada

Dissertação apresentada à
Faculdade de Odontologia –
UNESP, Campus de
Araçatuba, como parte das
exigências para obtenção do
título de Mestre em Ciência
Animal (Fisiopatologia Médica
e Cirúrgica)

ARAÇATUBA – SP

2010

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

EDUARDO ANTONIETTO – nascido na cidade de São José do Rio Preto – SP aos 03 de outubro de 1980. Formado em Fisioterapia pelas Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul, especialista em Fisioterapia Hospitalar pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP - Campus de São Paulo; pós-graduado em Terapia Manual e Osteopatia pela Faculdade de Educação Física e Fisioterapia de Jacarezinho - FAEFIJA - da Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP; professor da disciplina de anatomia do SENAC Araçatuba; aluno do curso de pós-graduação *strictu-sensu* em Ciência Animal da Unesp de Araçatuba.

EPÍGRAFE

“A percepção do desconhecido é a mais fascinante das experiências. O homem que não tem os olhos abertos para o misterioso passará pela vida sem ver nada”

Albert Einstein

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, à minha família, aos meus amigos e ao meu orientador Prof. Mário Jefferson Quirino Louzada, que serviram como alicerces nesta etapa tão sonhada e cumprida em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar inteligência e saúde e por não me abandonar nem me deixar abalar diante das dificuldades.

Agradeço de uma forma imensurável a este, que me tratou como filho e que não mediu esforços para que eu alcançasse mais este objetivo, meu amigo, meu professor, meu orientador Dr. Mário Jefferson Quirino Louzada. Obrigado pela força, dedicação e principalmente pela amizade. Nunca me esquecerei de “você”.

Agradeço aos meus pais, irmão e cunhada que me incentivaram tanto não me deixando desanimar diante de todas as dificuldades. Apesar da distância, meu amor por vocês é incondicional.

À minha namorada Ana Carolina que esteve comigo nestes últimos meses me apoiando e me incentivando a atingir mais este sonho.

Aos meus professores de graduação das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul, pela minha formação inicial.

Aos professores da pós-graduação em Ciência Animal, que através dos seus conhecimentos, me fizeram enriquecer e me ajudaram a alcançar mais um degrau de minha vida em mais esta etapa.

Ao professor Francisco Leydson que me apresentou ao “Universo Unespiano” e que, portanto, tem importância fundamental nesta conquista.

Ao professor Dr. Roberto Carvalhal que me ensinou regras de dissecção e análise anatômica com entusiasmo contagiante e que tanto me estimulou.

Aos funcionários e técnicos da Unesp que sempre contribuíram com os seus trabalhos para que o meu fosse concluído, em especial aos técnicos Adão, Pedro e Alexandre, às bibliotecárias Fátima e Isabel e aos secretários Valéria, Reinaldo, Iracy e Lúcia.

Aos colegas que em sala fiz, não posso deixar de agradecê-los pelos momentos de risos e alegrias proporcionados a mim. Vilma, Bruninha, Whelerson, Juliana, Fernando, Pedrão, Carlos Eduardo, Zé Antônio, Fernanda e Marcelinho vocês foram essenciais para que eu chegasse a este ponto. Serão inesquecíveis.

Aos amigos que esse mestrado me deu, amigos sempre presentes: Prof. Sérgio Diniz, prof. Wagner Pedro e prof. Luiz Eduardo Fonseca.

Aos alunos do Laboratório de Biofísica, em especial Bruninha e Juliana. Sem vocês esta conquista não aconteceria.

A todos que, de forma direta ou indireta, viveram este sonho comigo e tiveram a oportunidade de realizá-lo, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I	
Resumo	
Summary	
Considerações Gerais.....	01
Algumas considerações sobre a coluna vertebral de cão, equino e ratos.....	04
Referências.....	13
CAPITULO II	
Resumo.....	16
Abstract.....	17
Introdução.....	17
Material e Métodos.....	18
Resultados e Discussão.....	21
Conclusões.....	22
Referências Bibliográficas.....	23
Anexos.....	25

AVALIAÇÃO DA DENSIDADE MINERAL ÓSSEA DE VÉRTEBRAS DA COLUNA VERTEBRAL DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS À SUSPENSÃO DA CAUDA POR 15 E 36 DIAS

Resumo: A suspensão de ratos pela cauda é modelo utilizado para investigar o comportamento ósseo em animais impossibilitados de se locomoverem. O osso é um tecido adaptativo que se desenvolve em sua estrutura e função, entre outros fatores, em resposta a forças mecânicas aplicadas a ele e demandas metabólicas que o mesmo venha sofrer. A ausência de forças mecânicas e de deformação óssea faz com que ocorra uma diminuição na deposição de cálcio por ausência de estímulos nos osteoblastos e osteócitos, favorecendo a ação dos osteoclastos, tornando o osso enfraquecido e quebradiço. Portanto, a ação mecânica é necessária para estimular a resposta óssea local e, assim, proporcionar seu crescimento e remodelamento. O objetivo deste estudo foi avaliar, através da densitometria radiográfica, se a suspensão pela cauda por 15 e 36 dias altera a densidade mineral óssea das vértebras cervical (C₃), torácica (T₆) e lombar (L₁ e L₃) de ratos Wistar. Trinta *Rattus norvegicus albinus*, adultos, machos, linhagem Wistar, massa corpórea média de ± 350g, foram divididos em 3 grupos: controle (n=10) - não suspenso; S₁₅ (n=10) - suspenso por 15 dias e S₃₆ (n=10) - suspenso por 36 dias. Para análise densitométrica as vértebras foram radiografadas, escaneadas, digitalizadas e analisadas pelo programa computacional ImageJ[®]. Houve aumento estatisticamente significativo da densidade mineral óssea no grupo S₁₅, provavelmente pela inquietação dos animais à suspensão, com diminuição no grupo S₃₆, fato este hipoteticamente ligado à acomodação dos mesmos, concluindo que a suspensão pela cauda alterou a densidade mineral óssea num primeiro momento com diminuição com o passar do tempo.

Palavras-chave: densitometria radiográfica; coluna vertebral; ratos; ausência de carga.

EVALUATION OF BONE MINERAL DENSITY OF VERTEBRAE COLUMN OF WISTAR RATS SUBJECTED TO SUSPENSION OF TAIL FOR 15 AND 36 DAYS

Summary: The suspension of rats by the tail model is used to investigate the behavior of bone in animals unable to move around. Bone is an adaptative tissue that develops in structure and function, among other factors, in response to mechanical forces applied to it and metabolic demands that it will suffer. The absence of mechanical forces and deformation of bone that occurs causes a decrease in calcium deposition in the absence of stimuli on osteoblasts and osteocytes, favoring the action of osteoclasts, making bones weak and brittle. Therefore, the mechanical action is necessary to stimulate local bone response and thus provide growth and remodeling. The aim of this study was to evaluate by radiographic densitometry, the tail suspension for 15 and 36 days alter the bone mineral density of cervical vertebrae (C3), thoracic (T6) and lumbar (L1 and L3) of Wistar rats. Thirty *Rattus norvegicus albinus*, adult, male, Wistar strain, average body mass \pm 350g, were divided into 3 groups: control (n = 10) - not suspended; S₁₅ (n = 10) - suspended for 15 days and S₃₆ (n = 10) - suspended for 36 days. For densitometric analysis vertebrae were radiographed, scanned, digitized and analyzed by the computer program ImageJ ®. There was a statistically significant increase in bone mineral density in group S₁₅, probably by the restlessness of the animals to the suspension, with a decrease in group S₃₆, and this hypothetically is linked to the accommodation of the rats, concluding that the tail suspension altered bone mineral density in first time with a decrease over time.

Keywords: radiographic densitometry, spinal column, rats, unload

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo dos mais resistentes e rígidos do nosso corpo, sendo o principal constituinte do mesmo. Tem diversas funções, dentre elas, a de proteção para os órgãos vitais, alojamento e proteção para a medula óssea, suporte para as partes moles, armazenamento e fornecimento de minerais, apoio aos músculos esqueléticos para movimentação do organismo e serve como sistema de alavancas que pode aumentar as forças geradas na contração muscular. Tem estrutura dinâmica e se renova continuamente sendo sensível às influências metabólicas, nutricionais, endócrinas e a fatores mecânicos, tais como tensão (GUYTON e HALL, 2002).

O osso é composto por 10% de água, 30% de matriz de colágeno e aproximadamente 60% de mineral. A capacidade que o osso tem para suportar forças está ligada a quantidade absoluta de seus componentes bem como estes componentes se correlacionam (ATHANASIOU et al., 2000 apud RODRIGUES, 2003). A formação do tecido ósseo se dá principalmente por osteoblastos, osteoclastos e osteócitos. Os osteoblastos e osteócitos são células formadoras de osso, sendo que os osteoblastos são células jovens que estão localizadas na superfície óssea enquanto que os osteócitos são osteoblastos maduros localizados na matriz mineralizada. Já os osteoclastos são células que fazem a reabsorção óssea (KAPLAN et al., 1994) através de túneis que são cavados pelas mesmas na cortical óssea, sendo esta reabsorção processo normal para o reparo ósseo (DOBLARÉ et al, 2004).

O osso responde a estímulos variados e durante toda a vida passa por constante processo de regeneração (GUYTON e HALL, 2002). Diante de mudanças na demanda mecânica, o osso pode alterar suas propriedades e formato, pois é auto-reparador, se diferenciando de outros materiais estruturais (KAPLAN et al., 1994).

Turner (2000) relata que a deposição de osso é parcialmente regulada pela quantidade de tensão mecânica a ele imposta, sendo que ausência de

carga mecânica promove aumento no processo de reabsorção óssea reduzindo assim a massa óssea. Corroborando com os achados de Carvalho et al. (2002) os quais afirmam que, por se tratar de um tecido adaptativo, o tecido ósseo, diante de forças mecânicas aplicadas a ele e das demandas metabólicas, desenvolve sua estrutura e função, sendo que, quanto maior for a solicitação imposta ao osso, maior será a sua resposta tornando-o mais resistente, ao passo que, a ausência da solicitação óssea torna-o enfraquecido. Portanto, a resposta óssea local está diretamente ligada ao estímulo da ação mecânica que irá estimular o seu crescimento e remodelamento.

Diante de estresse mecânico, os osteoblastos dos ossos se apresentam mais ativos, tornando os ossos mais fortes e resistentes por desencadearem reações fisiológicas que modificam seu tamanho e estrutura. O estresse mecânico causa ainda microfraturas, que servem como estímulo para remodelação óssea, ao passo que a ausência deste estresse causa um enfraquecimento do mesmo. Este desuso, como ocorre em pacientes acamados ou impossibilitados de se locomoverem, pode levar à osteoporose pela falta de sustentação de peso (GUYTON e HALL, 2002).

Frequentemente o tecido ósseo é lesado, podendo agravar-se em fraturas, situação caracterizada pela perda da continuidade óssea que pode ser completa ou incompleta. O processo de regeneração óssea se dá através da proliferação celular e deposição de sais de cálcio restabelecendo assim a sua arquitetura e funcionalidade, entretanto, o processo biológico de reparo pode ser lento (retardo de consolidação) ou até mesmo não se desenvolver (pseudoartrose) resultando em deficiência ou incapacidade para o indivíduo (DOBLARÉ et al, 2004).

Um dos mecanismos primários de sobrevivência é o reparo tecidual nos organismos vivos. Dentre estes mecanismos, o reparo tecidual entra como um processo constante de reabsorção e formação óssea, necessário para manter o equilíbrio mineral ósseo, caracterizando assim o osso como tecido permanentemente ativo (SZEJNFELD, 2000).

A compressão longitudinal, produzida pelo efeito da gravidade sobre o arcabouço ósseo, é um dos fatores responsáveis pela manutenção do metabolismo mineral normal, pois estimula o crescimento ósseo por aposição. Diante de situações onde há a descarga de peso, o osso tem um aumento da espessura e da densidade da diáfise (MCARDLE et al., 2003). Todavia, quando o sistema músculo-esquelético é exposto a ambientes de microgravidade, o mesmo é afetado diretamente alterando o seu metabolismo. Este fato ocorre, pois ambientes de microgravidade geram baixa tensão sobre os ossos levando os mesmos a uma menor massa óssea necessária para manter a estrutura esquelética íntegra (JOHNSON, 1998).

O modelo que simula atrofia muscular e desgaste ósseo de forma ideal é aquele que permite livre mobilidade ao animal restringindo os movimentos dos membros pélvicos (KASPER et al., 1993). Segundo Vico et al. (1998), a carga a qual o tecido está submetido é diretamente responsável pelas características físicas do mesmo.

Além disso, pode-se verificar que o tecido ósseo apresenta plasticidade que o faz capaz de responder a estímulos, adaptando-se na regeneração de fraturas e/ou posteriormente às enfermidades dos ossos (BARREILO et al., 2009).

Diante da curiosidade sobre como se comportariam as vértebras em animais em ambiente com ausência de carga, este trabalho foi realizado. Para tanto se realizou levantamento bibliográfico da musculatura esquelética da região que constitui a coluna vertebral de diversos animais, onde o objetivo foi trazer conhecimento sobre os pontos de origem e inserção dos músculos em questão bem como os ossos envolvidos e funcionamento biomecânico dos mesmos. Neste capítulo são apresentados alguns animais e suas estruturas anatômicas, dando importância maior ao rato, uma vez que este foi o animal utilizado no estudo experimental apresentado no segundo capítulo.

1.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A COLUNA VERTEBRAL DE CÃO, EQUINO E RATO

Segundo Getty (1986), os ossos que constituem a coluna vertebral de um cão são ossos irregulares, que consistem de uma cadeia mediana, ímpar, e são denominados de vértebras. Estas estão dispostas a partir do crânio à extremidade da cauda, sendo divididas em cinco regiões as quais recebem nomes de acordo com sua localização, a saber: cervical, torácica, lombar, sacra e caudal. Em uma dada espécie, o número de vértebras é perfeitamente constante para cada região, como citado por Dyce (1997), que relata 7 vértebras cervicais, 13 torácicas, 7 lombares e 3 sacras. O mesmo autor ainda descreve que, em geral, a variação mais comum que pode ocorrer é a redução para seis vértebras lombares.

König e Liebich (2002) também relatam que as vértebras são ossos irregulares, constituídas centralmente por uma substância esponjosa e envolvida na sua superfície por uma substância óssea compacta.

No conjunto das vértebras móveis do eqüino, aparecem dois grupos de articulações; a primeira é formada pelos corpos das vértebras e a segunda, pelos processos adjacentes. As vértebras estão unidas por meio de discos intervertebrais, estruturas que consistem de tecido fibroso e fibrocartilaginoso em sua periferia e um núcleo pulposo macio central, que ocupam o espaço entre os corpos de duas vértebras adjacentes. Estes são mais finos na região torácica, mais espessos nas regiões cervical e lombar e mais espessos ainda na região caudal. Associados aos discos há o ligamento longitudinal ventral que se localiza na região ventral dos corpos vertebrais e dos discos intervertebrais e o ligamento longitudinal dorsal, que está disposto no assoalho do canal vertebral da segunda vértebra cervical até o sacro. Estes ligamentos se dispõem de forma a unir os arcos e os processos; sendo alguns considerados especiais por limitar apenas a unir uma articulação, e outros

considerados comuns, por estender-se ao longo de quase toda a coluna vertebral ou uma considerável parte da mesma (GETTY, 1986).

Getty (1986) descreve os movimentos da coluna vertebral, excluindo aqueles da articulação atlanto-axial, como sendo de flexões dorsais, ventrais, laterais e de rotação e afirma que os movimentos de uma única articulação são curtos, mas quando somado os movimentos de outras articulações, o resultado é um grau de amplitude maior.

A constituição da coluna vertebral de um rato é dada por sete vértebras cervicais, treze torácicas, seis lombares, quatro sacrais e, de vinte e sete a trinta vértebras caudais (Figura 1) e os músculos do tronco são dados sob as seguintes aspectos – músculo cutâneo do tronco, músculos do tórax, músculos do abdômen e músculos caudais. A porção carnosa que cobre o tronco do rato, compreendida entre a região torácica e lombar é chamada músculo cutâneo máximo, tendo parte de suas fibras originadas no tubérculo menor do úmero e une fibras provenientes da superfície do músculo peitoral.

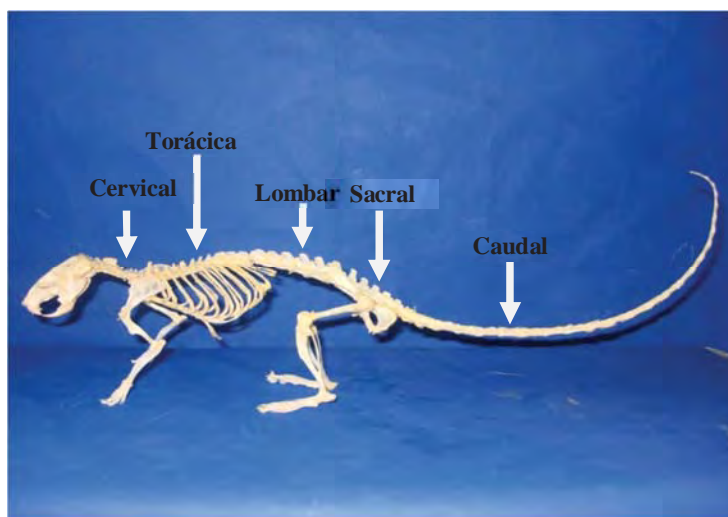


FIGURA 1- Vista lateral da coluna vertebral de esqueleto de rato *Rattus norvegicus albinus* abordando as regiões cervical, torácica, lombar, sacral e caudal (Fonte própria).

O músculo cutâneo máximo surge debaixo da pata cranial como um músculo bastante robusto que então irradia posteriormente sobre a superfície

dorsal, lateral e ventral do tronco. As fibras dorsais cobrem os ombros e se estendem até a linha dorsal média, a massa muscular lateral se torna muito mais fina antes de inserir sobre a região glútea, com fibras convergindo à base da cauda (Figuras 2 e 3). Finalmente, das fibras que se espalham ventralmente, algumas acabam na fáscia dos músculos extensores e superfície medial da coxa, enquanto algumas se estendem à linha média ventral.



FIGURA 2- Vista lateral de *Rattus norvegicus albinus* evidenciando o músculo cutâneo máximo (Greene, 1955).

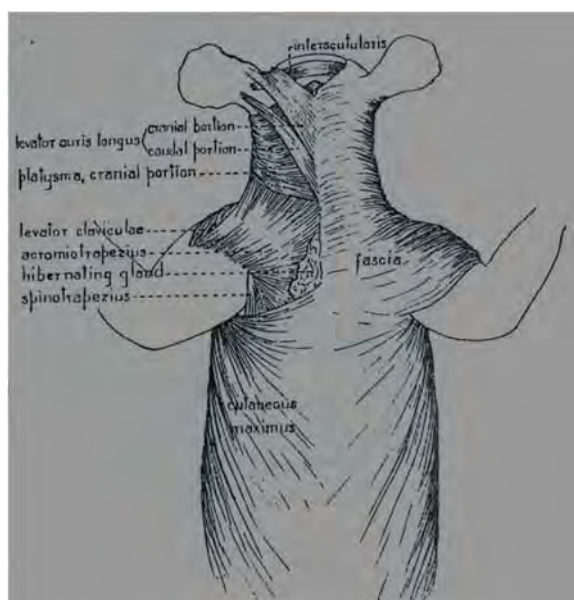


FIGURA 3- Vista dorsal de *Rattus norvegicus albinus* evidenciando os músculos subcutâneos dorsais com a fáscia removida à esquerda (Greene, 1955).

Dos músculos do tórax, apenas três parecem ser importantes para serem descritos, ou seja, músculo serrátil posterior superior, músculo serrátil posterior inferior e músculo diafragma. O músculo serrátil posterior superior (Figura 5) surge a partir do ligamento nocal, dos processos espinhosos das duas primeiras vértebras torácicas e da fáscia dorsolombar e tem sua inserção entre a 4ª e a 9ª costelas. O serrátil posterior inferior (Figura 4) decorre dos processos espinhosos das vértebras torácicas e lombares por meio da fáscia lombar e está inserido entre a 9ª e a 13ª costelas.

O diafragma origina-se da cartilagem de todas as falsas costelas, da última costela verdadeira, e da superfície superior da cartilagem ensiforme e é inserido entre as costelas e a coluna.

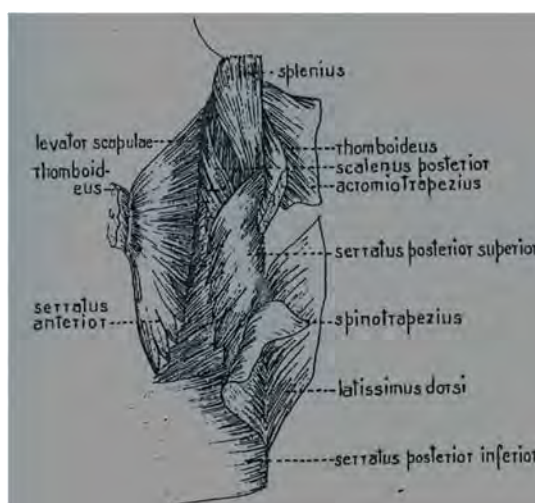


FIGURA 4- Vista dorsal de *Rattus norvegicus albinus* evidenciando músculos subcutâneos dorsais com a fáscia removida à esquerda (Greene, 1955).

O músculo abdominal está dividido em dois grupos – grupo dos músculos ventro-laterais que inclui os oblíquos externo e interno do abdômen, o reto abdominal e piramidal e, o grupo dos músculos posteriores que inclui os psoas maior e menor, o ilíaco e o quadrado lombar. No grupo dos músculos

ventro-laterais, os oblíquos externo e interno não têm sido mostrado de maneira suficiente para garantir qualquer referência nas figuras.

O músculo abdominal oblíquo externo surge pela digitação alternando com o serrátil magno, a partir da quarta para a décima segunda costela e da fáscia lombar. Sua inserção é bastante extensa, espalhando-se como uma fina folha sobre as superfícies ventral e lateral do corpo. Passando ventralmente e posteriormente, suas fibras são inseridas na crista do ílio a partir do qual se liga na região inguinal, fixando o ligamento inguinal na parte anterior do corpo do púbis. Outra porção do músculo também é inserida na parte anterior do corpo do púbis, mas é separado da porção mencionada acima por uma região triangular, o anel abdominal externo. Anterior a esta última parte, as fibras passam ventralmente ao reto para a linha Alba e, ainda mais anteriormente, as fibras se misturam com o reto.

O músculo abdominal oblíquo interno está intimamente ligado ao músculo transverso abdominal, localizado diretamente abaixo dele, sendo extremamente difícil distinguir seus anexos. Os músculos surgem da fáscia dorso-lombar, da crista do ílio e do ligamento inguinal, e projeta-se anteriormente sendo inserido na cartilagem das falsas costelas e tanto na linha Alba quanto na sínfise púbica.

O músculo transverso abdominal liga-se diretamente sob o oblíquo interno. Surge a partir da superfície interna das costelas posteriores, da fáscia dorso-lombar, da crista do ílio e do ligamento inguinal e insere-se na linha Alba por uma aponeurose a qual passa abaixo do músculo reto abdominal.

O músculo reto abdominal é uma faixa muscular plana, fina, que cujo comprimento estende-se da superfície ventral da sínfise púbica até a extremidade anterior do osso esterno. Está inserido nas primeiras costelas, terço médio da clavícula e no manúbrio do esterno (Figura 6). Na região abdominal é separado do músculo correspondente do lado oposto da linha Alba. O músculo cruza a linha média, alternando com fibras do músculo reto abdominal do lado oposto, dando uma impressionante interdigitação sendo coberto pelo músculo adutor longo.

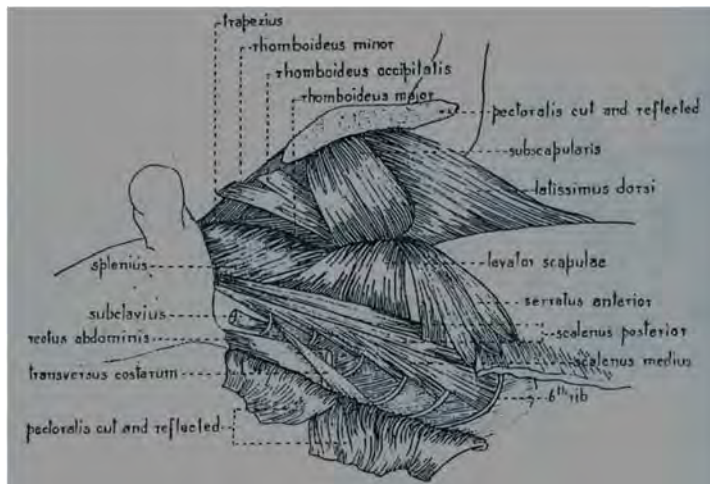


FIGURA 6- Vista lateral dos músculos profundos da parede torácica de *Rattus norvegicus albinus* (Greene, 1955).

O músculo piramidal surge parcialmente da crista púbica e suas fibras espalham-se largamente para inserir na bainha do reto abdominal. No grupo de músculos posteriores do abdômen, há quatro músculos – psoas maior, psoas menor, íliaco e quadrado lombar. O psoas maior origina-se da superfície lateral da coluna e da superfície ventral dos processos transversos de todas as vértebras lombares. O músculo é distintamente separado em uma parte interna e externa, por alguns dos ramos do plexo lombar. Sua inserção é no trocanter menor do fêmur. O psoas menor surge a partir da superfície lateral da coluna da segunda à sexta vértebra lombar e está inserido na eminência ílio-pectineal. O músculo íliaco surge da quinta e sexta vértebra lombar e insere-se juntamente com o psoas maior no trocanter menor do fêmur (Figura 7). O músculo quadrado lombar é formado por uma porção média e outra lateral e é separado pelo processo transversos das vértebras lombares. A porção medial é composta de cinco feixes tendo sua origem da seguinte forma: T10 a L2, T11 a L3, T12 a L4, L1 a L5 e L2 a L6. A porção medial é composta de duas costelas inferiores e insere-se na borda do ílio.



FIGURA 7- Músculos da região lombar de um rato (Greene, 1955).

O último grupo de músculos que constituem o tronco do rato é o grupo dos músculos caudais que é constituído pelos músculos flexor breve e longo da cauda, músculos abductor interno e externo da cauda e músculos extensor interno e externo da cauda.

O músculo flexor breve da cauda origina-se da superfície ventral de todas as vértebras sacrais e das primeiras quatro ou cinco vértebras caudais (Figura 8). Vários tendões se desenvolvem caudalmente com o músculo flexor longo e inserem sobre a superfície flexora das vértebras caudais.

O músculo flexor longo da cauda (interno) tem início na superfície ventral da coluna e da diapófise das vértebras caudais a partir, inclusive, da quinta vértebra lombar (Figura 8). Numerosos tendões se desenvolvem e se inserem sobre as vértebras caudais.

O músculo abductor interno da cauda origina-se da metade inferior da superfície medial e borda ventral do ílio e insere através do tendão ao longo da superfície ventral da cauda com o músculo flexor da cauda.

O músculo abductor externo decorre da superfície medial do ramo ascendente do púbis e sínfise púbica e é inserido ao longo da superfície lateral da base da cauda.

Músculo extensor externo da cauda (lateral). Suas fibras têm origem profunda da diapófise das vértebras sacrais e caudais. Os longos tendões finos desenvolvem-se a partir destas fibras e passam para a parte dorsal das vértebras caudais mais caudalmente.

O músculo extensor interno da cauda (medial) tem sua origem no processo espinhoso das vértebras sacrais e de poucas vértebras caudais. Seus tendões se inserem no dorso da vértebra e mais caudalmente. Nenhum desses músculos é mostrado em desenhos (GREENE, 1955)

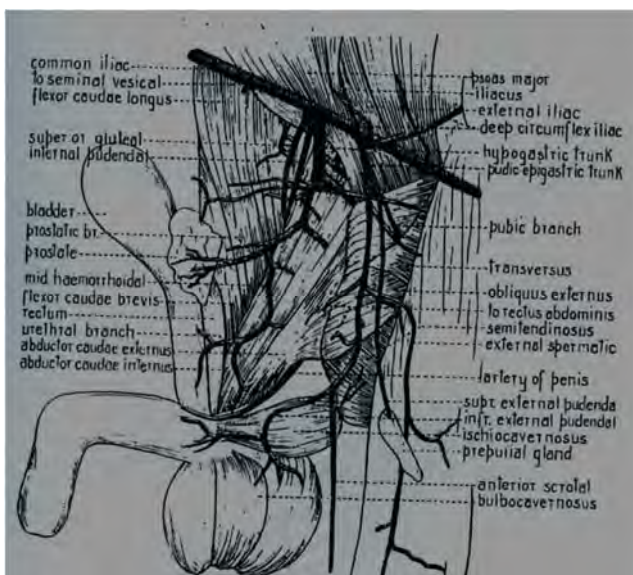


FIGURA 8- Músculos flexores longo e breve da cauda de um rato (Greene, 1955).

Diversos músculos estão dispostos no dorso do cão ao longo de toda sua coluna vertebral facilitando a sua movimentação. Além da movimentação, os músculos têm o importante papel de dar estabilidade às articulações vertebrais juntamente com os ligamentos. Neste grupo de músculos estão o músculo eretor da espinha que inclui o iliocostal (torácico e lombar), o músculo longo (cervical, torácico e lombar) e o músculo espinhal, os multífidos, os interespinhais e os intertransversais. Volta-se a atenção aos multífidos que

consistem em porções cervical, torácica e lombar e que se situam ao lado das espinhas vertebrais. Numerosos feixes originam-se nos processos transversos, articular e mamilar e direcionam-se craniodorsalmente se inserindo na borda caudal da espinha, dando origem às porções torácica e lombar. Na região cervical as separações não são tão distintas. Os músculos situam-se sobre os processos articulares cervicais, cranialmente até o áxis (GETTY, 1986 – vol.2).

No homem, a coluna vertebral constitui-se de vértebras, ligamentos, músculos e discos intervertebrais. Os discos são estruturas com as funções de amortecer pressão e sustentar peso e, devido a estas funções, encontram-se intercalados entre as vértebras. Estes discos variam de formato e espessura ao longo da coluna e nas regiões cervical e lombar apresentam-se em formato de cunha. Para que a coluna exerça com precisão suas funções de flexibilidade e rigidez, a mesma apresenta curvaturas côncavas na cervical e na lombar (BRACCIALLI, 2000).

A coluna humana é composta de 33 vértebras: 24 pré-sacrais, sendo 7 cervicais, 12 torácicas, 5 lombares, e 5 sacrais fundidas e pelo cóccix, formado de 4 vértebras rudimentares fundidas entre si, sendo que a 1^a vértebra coccígea, um pouco mais volumosa, se articula com o ápice do sacro através de um disco intervertebral rudimentar. Os músculos do dorso estão dispostos em grupos anterior e posterior. Os músculos do grupo anterior, pré-vertebrais, incluem músculos do pescoço e da parede posterior do abdome. Os do grupo posterior, pós-vertebrais, compreendem vários músculos dispostos mais superficialmente (trapézio e grande dorsal), em posição média (levantador da escápula, rombóides e serráteis posteriores) e mais profundamente (interespinhais, intertransversais e levantadores das costelas) (RUBINSTEIN, 2010).

A carga mecânica provoca microdeformações ósseas, que estimulam células osteoblásticas e, conseqüentemente, promovem adaptações nos ossos, muitas vezes relacionadas com uma menor reabsorção óssea e um aumento na formação óssea local. No entanto, o estímulo para formação óssea depende

do número e frequência das deformações aplicadas no osso (CARVALHO et al. 2002).

REFERÊNCIAS

BARREIRO, F.R.; SAGULA, A.L.; JUNQUEIRA, O.M. et al. Densitometric and biochemical values of broiler tibias at different ages. **Poultry Science**. v. 88, p.2644-2648, 2009.

BRACCIALLI, L. M. P. Estudo das relações existentes entre crescimento e desvios na postura. **Reabilitar**, São Paulo, v. 9, p. 19-24, 2000.

CARVALHO, D. C.L.; ROSIM, G.C.; GAMA, L.O.R. et al. Tratamentos não farmacológicos na estimulação da osteogênese. **Revista de Saúde Pública**, v.36, n.5, p.647-654, 2002.

DOBLARÉ, M.; GARCÍA, J.M.; GÓMEZ, M.J. Modelling bone tissue fracture and healing: a review. **Engineering Fracture Mechanics**, v.17, n.13/14, p.1809-1840, 2004.

DYCE, M. K. et al. **Tratado de anatomia veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 2V.

GREENE, E. **Anatomy of the Rat**. New York: Hafner Publishing Co, 1955. (New Series, v.27).

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002. 973 p.

JOHNSON, R.B. The bearable lightness of being: bones, muscles, and spaceflight. **The Anatomical record**, v.253, n.1, p.24-27, 1998.

KAPLAN, F.S.; HAYES, W.C.; KEAVENY, T.M. Form and function of bone. In: Simon, S.R. (Ed.) **Orthopaedic basic science**. Rosemont: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1994. p. 127-184.

KASPER, C.E.; McNULTY, A.L.; OTTO, A.J; THOMAS, D.P. Alterations in skeletal muscle related to impaired physical mobility: an empirical model. **Research in Nursing and Health**, v.16, n. 4, p.265-273, 1993.

KONIG, H. E.; LIEBICH, H-G. **Anatomia dos animais domésticos**: aparelho locomotor. Porto Alegre: Artmed, 2002.

McARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício**: energia, nutrição e desempenho humano. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2003. 1113 p.

RODRIGUES, M.E.S. **Análise do risco de fratura óssea por ultrasonometria e ensaio mecânico de compressão**. 2003. 131 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Carlos, 2003.

RUBINSTEIN, E. **Introdução ao estudo da anatomia**. On-line.

Disponível em <http://www.icb.ufmg.br/anatfto/introducao_Anatomia.htm.>

Acesso em: 21 set 2010

SZEJNFELD, V.L. **Osteoporose**: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Sarvier, 2000. 406p.

TURNER, R.T. Invited review: what do we know about the effects of spa on bone? **Journal of Applied Physiology**, v.89, n. 2, p.840-847, 2000.

VICO, L.; LAFAGE-PROUST, M.H.; ALEXANDRE, C. Effect of gravitational changes on the bone system in vitro and in vivo. **Bone**, v.22, suppl. 5, p.95S-100S, 1998.

Densidade mineral óssea de vértebras de ratos Wistar suspensos pela cauda por 15 e 36 dias.

Bone mineral density in vertebrae of rats suspended by the tail for 15 and 36 days.

Eduardo Antonietto¹; Bruna Gabriele Biffe²; Tiago Augusto Ferrari¹; Nandressa Dayna Mendes Riso¹; Roberta Soliga Voltan¹; Mário Jefferson Quirino Louzada¹

Resumo: A suspensão de ratos pela cauda é modelo utilizado para investigar comportamento ósseo em animais impossibilitados de se locomoverem. O osso é tecido adaptativo que se desenvolve em estrutura e função em resposta a forças mecânicas impostas a ele, portanto, a ação mecânica é necessária para estimular resposta óssea local proporcionando seu crescimento e remodelamento. O objetivo deste estudo foi avaliar, através da densitometria radiográfica, se a suspensão pela cauda por 15 e 36 dias altera a densidade mineral óssea-DMO das vértebras cervical (C₃), torácica (T₆) e lombar (L₁ e L₃) de ratos Wistar. Trinta *Rattus norvegicus albinus*, adultos, machos, Wistar, massa média de ± 350g, foram divididos em 3 grupos: controle (n=10) - não suspenso; S₁₅ (n=10) - suspenso por 15 dias, S₃₆ (n=10) - suspenso por 36 dias. Para análise densitométrica as vértebras foram radiografadas, escaneadas, digitalizadas e analisadas pelo programa computacional ImageJ[®]. Houve aumento estatisticamente significativo da DMO no grupo S₁₅, provavelmente pela inquietação dos animais à suspensão, com diminuição no grupo S₃₆, fato este hipoteticamente ligado à acomodação dos mesmos, concluindo que a suspensão pela cauda alterou a densidade mineral óssea num primeiro momento com diminuição com o passar do tempo.

Palavras-chave: densitometria radiográfica; coluna vertebral; ratos; ausência de carga

¹ Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal - Universidade Estadual Paulista. Rua Clóvis Pestana, nº 793, CEP: 16050-680; Jd. D. Amélia, Araçatuba/SP; Tel. +55(18)3636-1359 Fax:+55(18)3636-1352; E-mail: eduantonietto@yahoo.com.br

² Departamento de Ciências Básicas - Faculdade de Odontologia- Universidade Estadual Paulista/Araçatuba/SP.

Abstract: The suspension of rats by the tail model is used to investigate bone behavior in animals unable to move around. Bone is adaptive tissue that develops in the structure and function in response to mechanical forces imposed on it. Therefore, the mechanical action is needed to stimulate local bone response providing growth and remodeling. The aim of this study was to evaluate by radiographic densitometry, the tail suspension for 15 and 36 days alter the bone mineral density-BMD of cervical vertebrae (C3), thoracic (T6) and lumbar (L1 and L3) of Wistar rats . Thirty *Rattus norvegicus albinus*, adult, male, Wistar, average mass \pm 350g, were divided into 3 groups: control (n = 10) - not suspended; S15 (n = 10) - suspended for 15 days, S36 (n = 10) - Suspended for 36 days. For densitometric analysis vertebrae were radiographed, scanned, digitized and analyzed by the computer program ImageJ[®]. There was a statistically significant increase in BMD in group S₁₅, probably by the restlessness of the animals to the suspension, with a decrease in group S₃₆, and this hypothetically linked to the same accommodation, concluding that the tail suspension altered bone mineral density at first to decrease with over time.

Key words: radiographic densitometry, spine, rats, unload

INTRODUÇÃO

A suspensão de ratos pela cauda é um dos modelos utilizados para investigar o comportamento ósseo em animais impossibilitados de se locomoverem. Esta suspensão também serve para simular a ausência de carga sofrida por indivíduos quando em ambiente de “microgravidade” (MUSACHIA et al., 1983; KASPER et al., 1993; SILVA, 2002; VICENTINI et al., 2007).

Como o osso fornece sustentação interna para todo o corpo e inserção para músculos e tendões, suas características mecânicas dependem diretamente da carga a ele submetida (VICO, 1998).

Por se tratar de um tecido adaptativo, o tecido ósseo, diante de forças mecânicas aplicadas a ele e das demandas metabólicas, desenvolve sua estrutura e função. Quanto maior for a solicitação imposta ao osso pela ativação de osteoblastos, maior será a sua resposta tornando-o mais resistente, ao passo que, a ausência da solicitação óssea torna-o enfraquecido. Portanto, a resposta óssea local está diretamente ligada ao estímulo da ação mecânica que irá estimular o seu crescimento e remodelamento (CARVALHO et al., 2002).

Em estudo prévio/piloto realizado pelos autores deste trabalho no Laboratório de Biofísica da UNESP/Araçatuba, foram analisadas as alterações mecânicas e densitométricas na coluna vertebral de ratos submetidos à suspensão pela cauda e foram observadas diminuição dos valores da força máxima admitida e rigidez nas vértebras dos animais que foram suspensos, contudo, a análise da densidade mineral óssea, realizada com o equipamento DPX-ALPHA, não foi suficientemente sensível para determinar a densidade na região de interesse, principalmente devido às pequenas dimensões das vértebras dos ratos, mesmo o equipamento possuindo um programa especial para análise em pequenos animais. Com relação à questão metodológica para a avaliação da densidade mineral óssea em peças de pequena dimensão, LOUZADA (2009) considerou a densitometria radiográfica como ferramenta capaz de avaliar estas peças se utilizados programas de processamentos de imagens. Deste modo, diante da importância que circunda o tema e a dificuldade metodológica encontrada por estes autores em estudo prévio/piloto, foi proposta deste estudo utilizar a densitometria radiográfica e o programa computacional de processamento de imagens “Image J” como método de avaliação da densidade mineral óssea das vértebras cervical (C₃), torácica (T₆) e lombar (L₁ e L₃) de ratos que foram suspensos pela cauda por 15 e 36 dias.

MATERIAL E MÉTODOS

A constituição dos grupos experimentais foi dada por 30 ratos, adultos, machos, espécie *Rattus norvegicus albinus*, linhagem Wistar, com massa corpórea de 350 gramas em média, divididos em grupo controle (C), grupo suspenso pela cauda por 15 dias (S₁₅) e grupo suspenso pela cauda por 36 dias (S₃₆). Adotou-se o método de suspensão preconizado por RISO (2008), SILVA (2002) e VICENTINI et al. (2007) neste trabalho. Os animais dos grupos suspensos permaneceram durante todo o experimento com os membros cervicais apoiados no chão da gaiola.

Após o período de experimento de cada grupo, os animais foram eutanasiados e todo o segmento vertebral foi isolado. Para isso, foi retirada a pele, as inserções musculares e a medula espinhal. Feito isso, todo o segmento vertebral foi imerso em água e deixado em repouso, por três meses, sob abrigo da luz, para que ocorresse desintegração da matéria orgânica por microorganismos formados durante o processo.

Após três meses, as vértebras foram retiradas do recipiente e escovadas com detergente para a retirada de qualquer fragmento orgânico e elementos gordurosos que ainda existissem. Logo após, os ossos foram submetidos, por três dias, à imersão em solução de água oxigenada 20 volumes para clareação. A seguir, as vértebras foram armazenadas em freezer à temperatura de -20°C. Foi eleita para análise a 3ª vértebra cervical, a 6ª torácica e a 1ª e 3ª lombar; vértebras estas, exceto a 1ª lombar, por estarem localizadas na metade dos segmentos cervical, torácica e lombar, respectivamente.

Foram feitas tomadas radiográficas das vértebras em análise as quais foram digitalizadas com resolução 200 DPI, em scanner HP® - HP Scanjet G4050 - acoplado a adaptador para transparências da mesma marca, e as imagens digitalizadas foram armazenadas com extensão TIFF (Fig. 1).

Como referencial densitométrico nas tomadas radiográficas foi utilizada escada de alumínio (liga 6063, ABNT) de nove degraus, colocada próxima às vértebras, na direção do feixe principal dos Raios X (LOUZADA, et al., 1998a; LOUZADA, et al., 1998b).

O programa computacional “Image J[®]” - versão 1.43u (domínio público – <http://rbs.info.nih.gov/ij>) foi utilizado para contornar toda a região de interesse, utilizando recurso de definição de área do programa, e, assim, determinar o nível de densidade média, em tons de cinza (até 256 níveis), das vértebras e dos degraus da escada de alumínio. Os valores das vértebras foram convertidos para valores relativos à espessura em milímetros de alumínio (LOUZADA, et al. 1998a; LOUZADA, et al. 1998b), obedecendo as etapas descritas abaixo por LOUZADA (2009). Desta maneira, a densidade óssea foi expressa em equivalente de alumínio (mmAl).

Os valores de densidade radiográfica foram convertidos para valores de espessura com o auxílio do computador e, assim, a densidade passou a ser expressa em equivalentes de milímetros de alumínio. Para tanto os dados foram levados à planilha Excel e passaram pelas seguintes etapas como descrito por LOUZADA (2009): 1) Determinou-se o valor da Densidade Radiográfica (DR) da Região de Interesse (RDI); 2) Utilizando-se como referência o valor de DR da etapa 1 definiram-se 3 degraus da escada de alumínio, que foram usados como referência densitométrica, cujos valores de DRs contemplavam o da etapa 1; 3) Com os valores de espessura e DR dos 3 degraus da etapa 2 construiu-se um gráfico com a planilha Excel; 4) Com ferramentas do Excel definiu-se a melhor curva que se ajustava aos pontos do gráfico (polinômio do 3º grau). O programa forneceu a equação de ajuste; 5) Utilizando-se a equação de ajuste da etapa 4 fez-se a substituição do valor de X pela DR da RDI (etapa 1) e determinou-se assim a espessura equivalente em mmAl para aquele objeto em estudo.

Para a análise estatística foi utilizado o programa Graphpad Instat 3. Foi realizado análise de variância – ANOVA – para os valores de densidade óssea dos grupos – C, S₁₅ e S₃₆ – e teste de Tukey, com nível de significância 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de densidade mineral óssea – DMO, em mmAl, das vértebras dos animais dos três grupos de estudo estão apresentados na Tab.1.

Em análise separada dos grupos, observou-se que a densidade óssea dos animais do grupo C é maior na 3ª e 1ª lombar, seguida da 3ª cervical e 6ª torácica respectivamente. Na Fig. 2 estão representados os valores da densidade mineral óssea (DMO) dos grupos C, S₁₅ e S₃₆, respectivamente.

No grupo S₁₅ observou-se permanência de maior densidade mineral óssea na 3ªL seguida pela 1ªL e aproximação da 6ªT em relação à 3ªC. O grupo S₃₆ apresentou maior densidade óssea na 3ªL seguida pela 1ªL, 3ªC e 6ªT, sendo que esta última apresentou valor muito próximo ao do grupo C.

Quando confrontadas as vértebras do mesmo segmento entre os grupos, as vértebras do grupo S₁₅ apresentaram maior densidade mineral óssea se comparadas às vértebras do grupo C e do S₃₆.

A análise das vértebras do grupo C, que permaneceu solto na gaiola, mostrou que a maior densidade mineral óssea se concentrou na vértebra 3ªL, seguida respectivamente por L1, C3 e T6.

Como citado por CARVALHO et al. (2002) o tecido ósseo é um tecido adaptativo e, neste experimento, esperava-se que a densidade mineral óssea dos animais dos grupos S₁₅ e S₃₆ diminuísse em relação ao grupo C ao final do mesmo, entretanto, foi observado um comportamento inesperado dos referidos valores, onde o grupo S₁₅ obteve um aumento nos

valores da densidade mineral óssea das vértebras em estudo em relação ao grupo controle. A ordem de densidade mineral óssea das vértebras ficou distribuída na mesma sequência que o grupo C, onde $L3 > L1 > C3 > T6$. Tal acontecimento pode ser atribuído devido ao fato dos membros pélvicos terem ficado livres e móveis, mesmo com a suspensão pela cauda e devido à inquietação dos animais diante do posicionamento, o que os levou a uma constante contração dos músculos do tronco, em especial, do dorso, na tentativa de se livrar da suspensão. Segundo GREENE (1955) muitos músculos do dorso do rato, como o músculo serrátil posterior superior e o músculo serrátil posterior inferior, estão inseridos nas vértebras da coluna e diante da contração dos mesmos, as vértebras acabam sofrendo estimulação favorecendo a osteogênese local.

Em decorrência dos valores apresentados no grupo S_{15} , era esperado que, ao término do experimento, os valores de densidade mineral óssea das vértebras do grupo S_{36} fossem ainda maiores que o do grupo S_{15} , porém, novamente ocorreu um comportamento inesperado dos valores em questão. Quando analisados, os valores apresentaram uma regressão muito próxima dos valores do grupo C, contrariando o que se era esperado. Mais uma vez, a ordem dos valores de densidade mineral óssea das vértebras permaneceu na sequência $L3 > L1 > C3 > T6$, porém, com valores muito próximos ao do grupo C, como citado anteriormente. Este fato pode, hipoteticamente, pode ser atribuído à desistência e cansaço dos animais de se livrarem da suspensão e, por fim, acomodação à situação, diminuindo desta forma, as contrações musculares e não transferindo às vértebras a estimulação necessária para causar deposição óssea, mas sim, ausência na deposição, levando os valores a regredirem muito próximos dos valores do grupo C.

CONCLUSÃO

O estudo demonstrou, pela densitometria radiográfica, que a suspensão de ratos pela cauda causou aumento estatisticamente significativo da densidade mineral óssea em um primeiro momento, com diminuição com o passar do tempo.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este experimento foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) em 28/03/2006 de acordo com o protocolo 24/06.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, D.C.L. et al. Tratamentos não farmacológicos na estimulação da osteogênese. **Revista de Saúde Pública**, v.36, n.5, p.647-654, 2002.

KASPER, C.E. et al. Alterations in skeletal muscle related to impaired physical mobility: An empirical model. **Research in Nursing & health**, v.16, n. 4, p.265-273, 1993.

LOUZADA, M. J. Q. **Densitometria Radiográfica**. 2009. 65f. Tese Livre Docência. Faculdade de Odontologia, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista.

LOUZADA, M. J. Q. et al. Metodologia para avaliação de densidade em imagens radiográficas. **Revista Brasileira de Engenharia - Caderno de Engenharia Biomédica**, v.14, n.2, p.37-47, 1998.

LOUZADA, M. J. Q. et al. Avaliações de densidade óssea em imagens radiográficas: estudo em peças ósseas de cães. **Revista Brasileira de Engenharia - Caderno de Engenharia Biomédica**, v.14, n.1, p.47-64, 1998.

MUSACCHIA, X.J. et al. Rat hindlimb muscle response to suspension hypokinesia/hipodynamia. **Aviation, Space and Environmental Medicine**, v.54, n.11, p.1015-1020, 1983.

RISO, N.D.M. **Influência do laser terapêutico no reparo de defeito ósseo de ratos submetidos à ausência de carga: análise densitométrica**. 2008. 79f. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Odontologia, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista.

SILVA, A.V. **Modelo de suspensão pela cauda e seu efeito em algumas propriedades mecânicas do osso do rato**. Ribeirão Preto, 2002. Dissertação de Mestrado -Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo.

VICENTINI, C.R. et al. Análise biomecânica em fêmures de ratos submetidos à ausência de carga e atividade física em esteira. **Veterinária e Zootecnia**, v.14, n.1, p.62-71, 2007.

VICO, L. Summary of research issues in biomechanics and mechanical sensing. **Bone**, v.22, n.5, p.135-137, 1998.

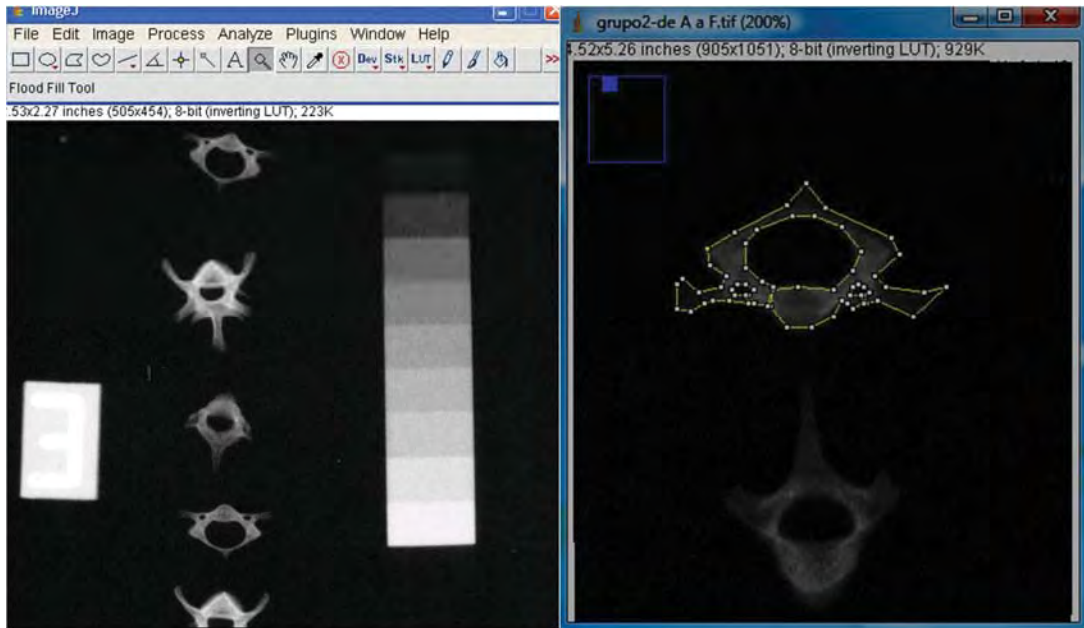


Figura 1. A - Imagem da tela do computador com o programa “Image J”. Na foto têm-se as vértebras e a escada de alumínio, utilizada como referencial densitométrico. B - Região de Interesse circundada na 4^a vértebra cervical utilizando ferramentas do programa Image J.

TABELA 1. Densidade Mineral Óssea, em mmAl, das vértebras (3ª Cervical, 6ª Torácica, 1ª e 3ª Lombares) dos animais do Grupo C, S₁₅ e S₃₆.

DENSIDADE MINERAL ÓSSEA (mmAl)												
	C				S₁₅				S₃₆			
Animal	C3	T6	L1	L3	C3	T6	L1	L3	C3	T6	L1	L3
1	0,89	0,82	1,43	1,66	1,06	1,15	1,77	2,14	0,93	1,00	1,48	1,73
2	0,76	1,03	1,89	2,01	1,24	1,11	2,23	2,68	0,83	1,08	1,94	2,24
3	0,79	1,10		1,85	1,09	1,21	2,20	2,44	0,80	1,08		1,95
4	1,21	1,17	1,81	2,34	1,18	1,05	2,34	2,64	1,23	1,00	1,87	2,52
5	1,27	0,94	1,77	2,00	1,16		2,27	2,69	1,15	1,00	1,93	1,91
6	0,91	0,84	1,42	1,60	1,08	1,12	2,48	2,53	0,93	0,80	1,46	1,71
7	1,07	0,78	1,55	1,99	1,16	1,00	2,33	2,34	1,21	0,94	1,66	1,95
8	1,03	0,84	1,57	1,81	1,07	1,12	2,54	2,70	1,07	0,79	1,66	1,88
9	1,10	1,06	1,65	2,04	0,88	0,91	1,87	1,98	1,17	0,95	1,64	1,90
10	1,40	1,16	1,76	2,41	1,18	1,18	2,38	2,66	1,36	1,18	1,37	2,38
Média	1,04	0,97	1,65	1,97	1,11	1,10	2,24	2,48	1,07	0,98	1,67	2,02
DP	0,21	0,15	0,17	0,26	0,10	0,09	0,25	0,25	0,19	0,12	0,21	0,27
CV	20,1	15,2	10,2	13,2	9,2	8,6	11,0	10,2	17,5	12,5	12,5	13,4

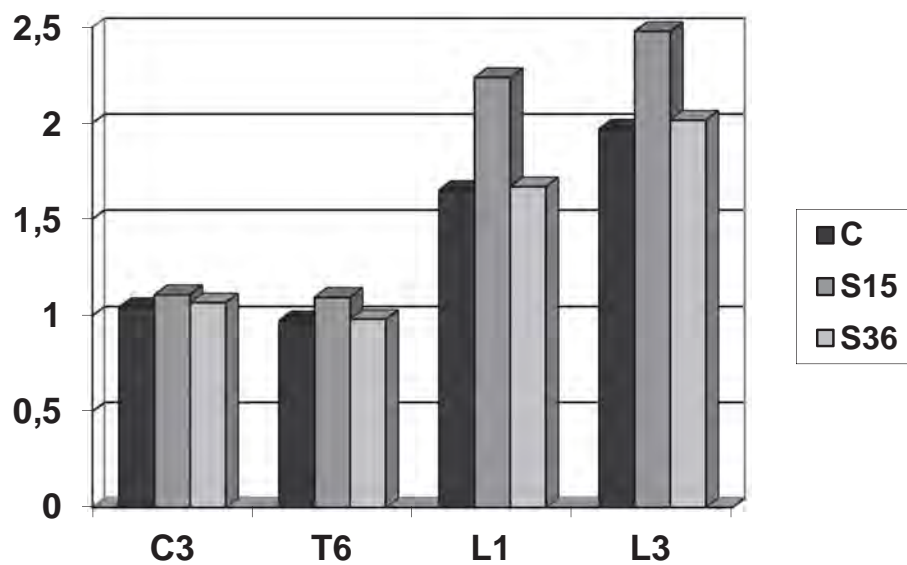


Figura 2– DMO das vértebras C3, T6, L1 e L3 dos grupos controle; suspenso pela cauda por 15 dias e suspenso pela cauda por 36 dias.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
Campus de Araçatuba



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "A AUSÊNCIA DE CARGA E SEUS EFEITOS NO PROCESSO DE REPARAÇÃO ÓSSEA ASSOCIADO AO ULTRA-SOM E RADIAÇÃO E A RADIAÇÃO LASER DE BAIXA POTÊNCIA" sob responsabilidade de MÁRIO JEFFERSON QUIRINO LOUZADA, NANDRESSA DAYANA MENDES RISO e CAMILA MILHAN está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em reunião ordinária de 28 de abril de 2006, de acordo com o protocolo nº 24/06.

Araçatuba, 28 de abril de 2006.


Prof.ª Ass. Dr.ª Maria Gisela Laranjeira
Presidente