

Efeitos da administração sistêmica de corticosteróides sobre propriedades mecânicas do diafragma de coelhos

Effects of corticosteroid systemic administration on mechanical properties of rabbits diaphragm muscle

Elaine Caetano Silva¹, Antonio Carlos Shimano², Luciano Neder³,
Andréa Rossi Campos⁴, José Antônio Baddini Martinez⁵

¹ Fisioterapeuta Ms.

² Engenheiro; Prof. Dr. do Depto. de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor da FMRP/USP (Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo)

³ Médico; Prof. Dr. do Depto. de Patologia da FMRP/USP

⁴ Fisioterapeuta; pós-graduanda no Depto. de Clínica Médica da FMRP/USP

⁵ Médico; Prof. Livre Docente do Depto. de Clínica Médica da FMRP-USP

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Elaine Caetano Silva
R. Arnaldo Victaliano 700
apto. 1010
14091-220 Ribeirão Preto SP
e-mail: ecs_rp@yahoo.com.br

Estudo desenvolvido no Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia da FMRP/USP

APRESENTAÇÃO
mar. 2006

ACEITO PARA PUBLICAÇÃO
jun. 2007

RESUMO: Corticosteróides sistêmicos em altas doses podem causar miopatia metabólica. O objetivo deste estudo foi avaliar, por meio de ensaios de tração, os efeitos da miopatia induzida por corticosteróides nas propriedades mecânicas do músculo diafragma de coelhos. Foram estudados dois grupos de 15 coelhas: o grupo experimental (GE) recebeu injeções subcutâneas de metil-prednisolona (2 mg/kg/dia) por 21 dias; e o grupo controle (GC) recebeu solução fisiológica por via subcutânea. Foram feitos ensaios de tração em corpos de prova dos hemidiafragmas esquerdos, realizando-se análise histológica no diafragma de três coelhas do GE e três do GC. A variação média percentual do peso final em relação ao inicial do GE foi $-8,4 \pm 2,1\%$ e do GC, $3,1 \pm 0,9\%$. Os valores médios de tensão e deformação do limite máximo, tensão e deformação do limite de proporcionalidade e módulo de elasticidade não mostraram diferenças significantes entre os grupos. A análise histológica de diafragmas do GE mostrou irregularidade moderada no diâmetro das miofibras, com diversas fibras em miofagocitose e várias em necrose hialina. Conclui-se que o uso de metilprednisolona em altas doses por via sistêmica não levou a alterações significantes das propriedades mecânicas dos diafragmas, tanto na fase plástica como na elástica, havendo manutenção da capacidade de alongamento e tolerância a cargas semelhantes em ambos os grupos.

DESCRIPTORES: Corticosteróides/administração e dosagem; Diafragma/efeitos de drogas; Resistência à tração

ABSTRACT: High doses of systemic corticosteroids might promote metabolic myopathy. The aim of this study was to assess, by means of traction assays, the effects of myopathy induced by systemic corticosteroids on mechanical features of the diaphragm muscle of rabbits. Two groups of 15 female rabbits were studied: the experimental group (EG) received subcutaneous injections of methyl-prednisolone (2 mg/Kg/day) during 21 days; the control group (CG) received subcutaneous saline. Traction assays were performed on proof fragments of left hemi-diaphragms. Histological analysis of diaphragm muscles was performed in three rabbits of each group. Mean percentages of variation between initial and final weight were $-8.4 \pm 2.1\%$ for the EG and $3.1 \pm 0.9\%$ for the CG. No significant differences were found in mean values of tension and deformity at the maximum threshold, tension and deformity at the proportional threshold, or elasticity module between the groups. The histological analysis of EG diaphragms showed moderate irregularity in the diameter of myofibrils, with several myofagocytosis and hyaline necrosis fibers. In both groups, the diaphragm muscle showed the same elongation capacity and similar load tolerance. Hence the use of high doses of methyl-prednisolone does not provoke significant changes in the diaphragm mechanical properties, neither in plastic or elastic phases.

KEY WORDS: Adrenal cortex hormones/administration & dosage; Diaphragm/drug effects; Tensile strength

INTRODUÇÃO

Os corticosteróides são agentes farmacológicos com atividade anti-inflamatória e imunossupressora, constituindo valiosa arma terapêutica empregada em diversas situações clínicas tais como asma, doença pulmonar obstrutiva crônica, doenças colágeno-vasculares, vasculites sistêmicas, neoplasia, transplantes de órgãos etc. Entretanto, seu uso em altas doses ou por tempo prolongado pode levar a uma série de efeitos colaterais, dentre os quais o surgimento de fraqueza e atrofia de grupos musculares¹⁻⁶.

Além da instalação da miopatia por esteróides ser bem reconhecida em músculos estriados periféricos, acumulam-se evidências experimentais e clínicas de que possa acometer igualmente os músculos respiratórios, particularmente o diafragma⁷⁻¹⁴.

Diferentes estudos têm utilizado ensaios mecânicos de tração para a investigação das propriedades mecânicas de ligamentos e músculos, submetidos a diferentes condições, tais como lesões por esmagamento ou estiramento¹⁵⁻¹⁸. Como a administração de esteróides tem o potencial de alterar as propriedades mecânicas musculares, no presente estudo investigamos os efeitos da administração de metil-prednisolona em altas doses sobre as propriedades biomecânicas diafragmáticas de coelhas, por meio de ensaios de tração.

METODOLOGIA

O estudo foi desenvolvido com 30 coelhas albinas da raça Nova Zelândia, de idade média de $8 \pm 0,9$ meses e peso médio de $3,9 \pm 0,1$ kg. Os animais foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos com 15 coelhas: o grupo experimental (GE) recebeu metil-prednisolona (Solumedrol®, Pharmacia-UpJohn) por via subcutânea e o grupo controle (GC), mantido nas mesmas condições que o GE, foi tratado com soro fisiológico a 0,9% em volumes proporcionais. Os animais foram mantidos durante o

período de estudo em gaiolas individuais, em ambiente com ciclo claro-escuro natural, temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$, e receberam ração comercial e água *ad libitum*.

No presente estudo foi feita a opção pelo emprego de coelhos primeiramente devido ao tamanho dos músculos, mais adequados para ensaios mecânicos do que, por exemplo, os de ratos. Além disso, a composição das fibras musculares desse animal é muito semelhante à da espécie humana¹¹. Entre os diferentes corticosteróides disponíveis, optou-se pela metil-prednisolona por ser droga de fácil administração por via subcutânea, exibindo ainda alta potência anti-inflamatória, com apenas discretos efeitos hidroeletrólíticos^{3,6,5}. Após alguns experimentos pilotos, optou-se por empregar doses de metil-prednisolona de 2 mg/kg/dia ao longo de 21 dias. Doses superiores ou períodos maiores de administração levaram a excessiva mortalidade entre os animais de experimentação. Ao longo do experimento, todos os animais foram pesados e submetidos a controle individual de ingestão em dias alternados, sendo então corrigidas as doses administradas de corticóide e solução salina. Uma vez completados os 21 dias de tratamento, os animais foram transportados para o Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP/USP), onde foram submetidos a eutanásia pela administração de doses letais (50 mg/kg de peso) de tiopental sódico.

Preparo do diafragma

Imediatamente após o sacrifício do animal era feita uma laparotomia transversal, com exposição, dissecação e retirada de todo o diafragma por sua face abdominal. O diafragma era pesado em uma balança digital (Precision® PR 500) e em seguida estendido sobre uma placa de cortiça, preso em suas bordas por alfinetes, de tal forma que a visualização fosse feita por sua face abdominal. O hemidiafragma esquerdo, ainda fixado à placa de cortiça,

era conservado a fresco com o uso de solução salina, até a retirada de corpos de prova, imediatamente antes da realização do ensaio de tração. Foi utilizada uma lâmina de bisturi e um paquímetro Mitutoyo® para a retirada de dois fragmentos de sua porção costal, os quais eram mensurados quanto ao comprimento, largura e espessura. Os fragmentos musculares a serem utilizados como corpo de prova no ensaio de tração foram retirados com uma largura próxima a 5 mm.

Ensaio mecânico de tração

Os ensaios mecânicos de tração foram realizados na Máquina Universal de Ensaio do Laboratório de Bioengenharia da FMRP/USP em temperatura ambiente de 25°C . Nos ensaios foram utilizadas garras especiais para a fixação das amostras do diafragma (Figura 1). Foi utilizada uma célula de carga (Kratos®) com capacidade de medir cargas até 200 kgf, associada a uma ponte de extensometria (Sodmex®). Para as medidas dos alongamentos foi utilizado um relógio comparador Mitutoyo® com precisão de 0,01 mm (Figura 1). Em cada animal foi realizado um único ensaio de tração para cada um dos dois corpos de prova obtidos a partir do hemidiafragma esquerdo e foram analisados os dados obtidos do ensaio de um único corpo de prova, aquele que havia se mostrado de melhor qualidade técnica.

Para o ensaio dos corpos de prova, após sua fixação e alinhamento, foi estabelecida uma distância inicial entre as duas garras de 10 mm. Em seguida, dava-se uma pré-carga de 9 gramas durante um minuto, para acomodação do sistema, sendo feito a leitura inicial da deformação e considerada a distância inicial a partir do valor da pré-carga estabelecida. Foi instituída uma velocidade constante de 5 mm/min para a realização do ensaio. Uma vez iniciado o ensaio, a carga aplicada era registrada a intervalos de 0,5 mm de deformação, sendo feita a leitura simultaneamente

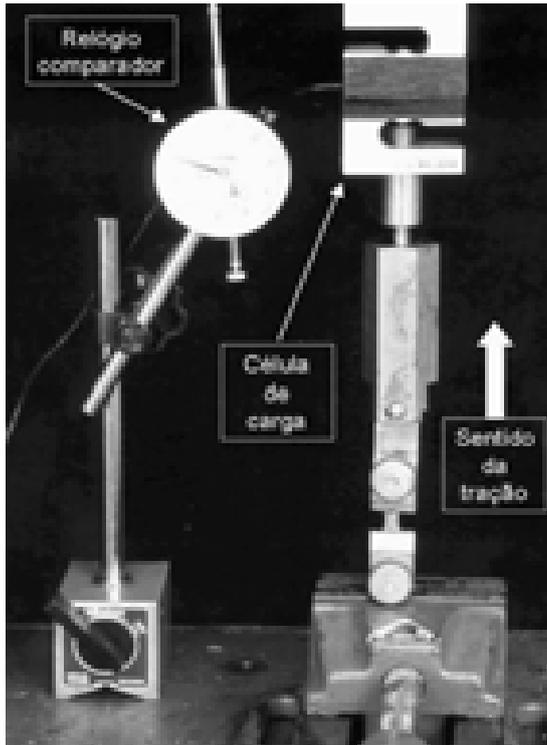


Figura 1 Sistema para o ensaio de tração do corpo de prova: relógio comparador para medida dos alongamentos, célula de carga e tração em sentido longitudinal

no visor do valor da carga correspondente, até que se atingisse um valor máximo, ponto que dava início à queda nos valores de carga. A partir desse momento eram feitas, em média, 10 leituras adicionais.

A tensão de aplicação foi calculada pela relação entre a força aplicada e a área dos corpos de prova. Com os valores de tensões e deformações obtidos em cada ensaio, conforme Noonan *et al.*¹⁵, construiu-se um gráfico (tensão aplicada versus deformação), demonstrado na Figura 2, tendo sido determinados os seguintes parâmetros:

Limite máximo (LM): ponto onde a curva tensão versus deformação apresenta o maior valor da tensão antes de ocorrer o rompimento; $T_{m\acute{a}x}$ = tensão do limite máximo; $D_{m\acute{a}x}$ = deformação do limite máximo;

Limite de proporcionalidade (LP): ponto que caracteriza a etapa reversível da deformação, denominada fase elástica; foi obtido tomando como referência o último ponto da reta de uma regressão linear do gráfico; T_{prop} = tensão do limite de proporcionalidade; D_{prop} = deformação do limite de proporcionalidade;

Módulo de elasticidade (E): determinado pela inclinação da curva tensão x deformação, calculada pela tangente do ângulo * :

$$E = tg\theta = \frac{T_{prop}}{D_{prop}}$$

Análise histológica

Foram analisados os diafragmas de três coelhas do grupo experimental (GE) e três do grupo controle (GC) pela coloração de hematoxilina e eosina (H&E), que permitiu analisar aspectos morfológicos genéricos do tecido muscular, procurando-se observar nas miofibras as seguintes alterações: diferença do

tamanho e da forma das fibras, presença de degeneração e regeneração, infiltrado inflamatório, alterações estruturais e fibrose endomisial, dentre outras.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram expressos na forma de médias, medianas e erro padrão. Em todos os testes foi estabelecido como nível para rejeição da hipótese de nulidade um valor igual ou inferior a 5% ($p \leq 0,05$). As comparações que atingiram diferenças estatisticamente significativas foram assinaladas com um asterisco (*) quando a análise dos dados foi efetuada pelo teste t de Student e com dois asteriscos (**) quando os dados foram analisados pelo teste de Mann Whitney.

RESULTADOS

O valor médio da sobra de ingesta diária de ração pesada em dias alternados, durante o período de tratamento, não diferiu entre os grupos de animais (GE 61,9*4,4 g; GC 59,3*3,0 g). O valor médio do peso inicial foi de 3,9±0,1 kg em ambos os grupos, mas o GE apresentou peso médio final

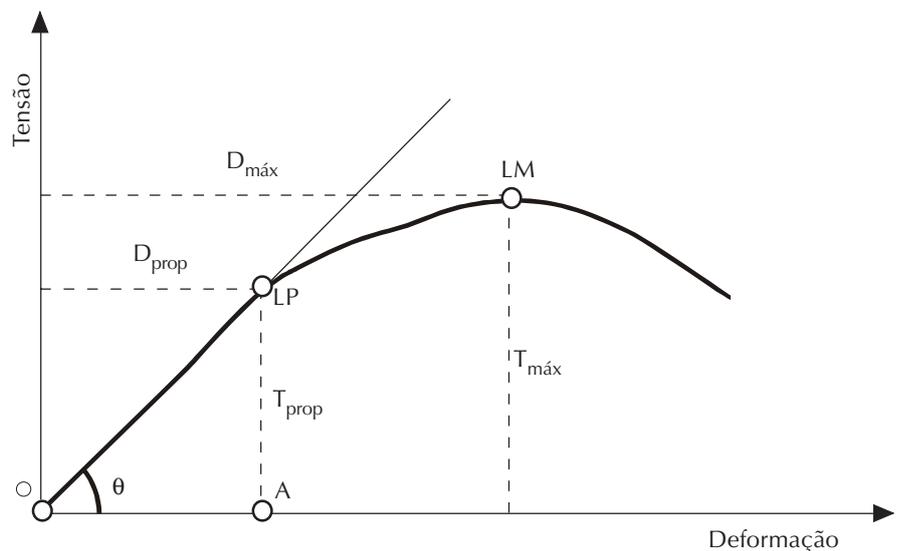


Figura 2 Demonstração do cálculo das propriedades mecânicas do músculo diafragma: Limite máximo (LM), tensão do limite máximo ($T_{m\acute{a}x}$); deformação do limite máximo ($D_{m\acute{a}x}$); Limite de proporcionalidade (LP), tensão do limite proporcional (T_{prop}), deformação do limite proporcional (D_{prop}); Inclinação da curva (ângulo *, cuja tangente determina o módulo de elasticidade)

Tabela 1 Peso dos animais e dos diafragmas dos grupos experimental e controle

| Grupo | | Peso inicial (kg) | Peso final (kg) | Variação (%) | Peso do diafragma (g) |
|--------------|---------|-------------------|-----------------|--------------|-----------------------|
| Experimental | Média | 3,9 | 3,6* | -8,4** | 6,3 |
| | EP | 0,1 | 0,1 | 2,1 | 0,3 |
| | Mediana | 3,9 | 3,5 | -6,5 | 6,0 |
| Controle | Média | 3,9 | 4,0 | 3,1 | 6,5 |
| | EP | 0,1 | 0,1 | 0,9 | 0,2 |
| | Mediana | 3,8 | 4,0 | 3,2 | 6,4 |

EP = erro padrão

* Significativamente diferente do GC pelo teste t de Student

** Significativamente diferente do GC pelo teste de Mann Whitney

significativamente inferior ao do GC ($3,6 \pm 0,1$ kg X $4,0 \pm 0,1$ kg). A variação média percentual do peso final em relação ao inicial foi de $-8,4\% \pm 2,1\%$ para o GE e de $+3,1\% \pm 0,9\%$ para o GC; a comparação também indica diferença estatisticamente significativa. O valor médio do peso do diafragma do GE no momento do sacrifício foi $6,3 \pm 0,3$ g e do GC, $6,5 \pm 0,2$ g, não havendo diferença significativa entre os grupos (Tabela 1).

Os valores médios da área, comprimento, largura e espessura dos corpos de prova do diafragma no GE foram respectivamente de $9,2 \times 0,9$ ($\times 10^{-6}$ m²); $17,1 \times 0,7$ mm; $5,0 \times 0,1$ mm; e $1,9 \times 0,1$ mm; no GC foram $7,1 \times 0,6$ ($\times 10^{-6}$ m²); $16,0 \times 0,4$ mm; $4,8 \times 0,2$ mm e $1,5 \times 0,1$ mm. A comparação entre esses valores não mostrou diferenças significantes.

Ensaio de tração do diafragma

Foram realizados 24 ensaios de tração, sendo 12 do GE e 12 do GC. Dentre os 30 animais do estudo, devido a problemas técnicos, foram excluídos três de cada grupo, pois três corpos de prova apresentaram comprimento insuficiente para realização do ensaio e em outras três ocasiões ocorreu soltura das garras durante o ensaio.

As propriedades mecânicas do diafragma estão representadas na Tabela 2. A comparação dos valores médios obtidos das variáveis mecânicas estudadas mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Análise histológica

Pela coloração de hematoxilina-eosina (H&E), evidenciou-se no diafragma do animais do GE irregularidade moderada no diâmetro das miofibras, com diversas fibras em necrose hialina (Figura 3).

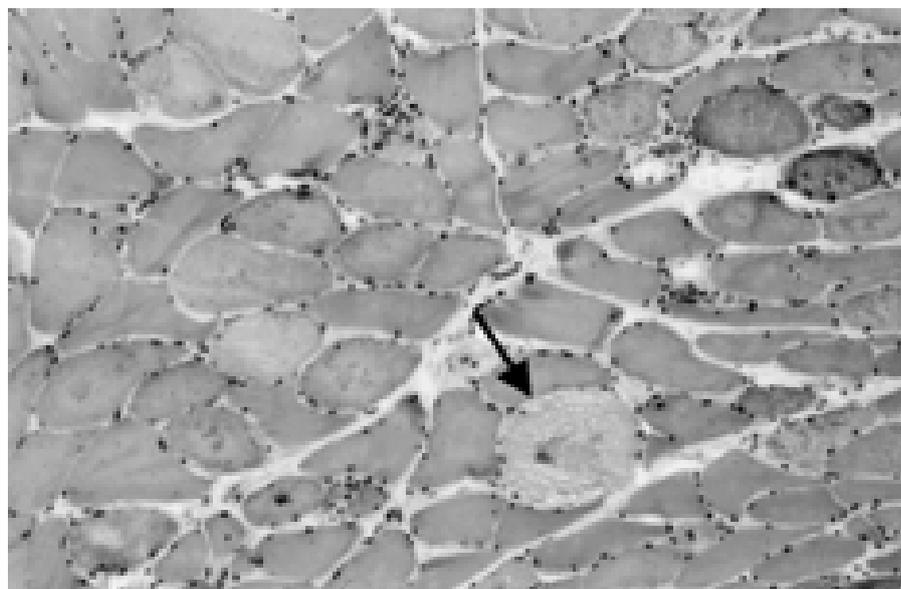
DISCUSSÃO

A ocorrência de distúrbios metabólicos nos músculos esqueléticos secundariamente ao uso de corticoides

Tabela 2 Propriedades mecânicas do diafragma no ensaio de tração dos corpos de prova

| Grupo | Limite máximo | | Limite proporcional | | Módulo de elasticidade ($\times 10^5$) N/m | |
|---------------------|---|------------------|---|------------------|--|-------|
| | Tensão ($\times 10^5$) N/m ² | Deformação (m/m) | Tensão ($\times 10^5$) N/m ² | Deformação (m/m) | | |
| Experimental (n=12) | Média | 4,45 | 0,33 | 3,50 | 0,20 | 14,95 |
| | EP | 0,39 | 0,03 | 0,33 | 0,03 | 1,65 |
| | Mediana | 4,73 | 0,31 | 3,83 | 0,16 | 16,30 |
| Controle (n=12) | Média | 4,37 | 0,31 | 3,20 | 0,18 | 16,33 |
| | EP | 0,31 | 0,03 | 0,28 | 0,03 | 1,81 |
| | Mediana | 4,21 | 0,28 | 3,28 | 0,18 | 14,80 |

EP = erro padrão

Figura 3 Fotomicrografia (100x) do músculo diafragma de animal do grupo experimental pela coloração hematoxilina-eosina(H&E). A seta indica fibras em necrose hialina.

teróides, acompanhados ou não por atrofia da massa muscular, pode levar a graves prejuízos funcionais. Tais manifestações são mais evidentes nos casos incomuns em que a instalação do processo é aguda. Porém, mais freqüentemente, a instalação do quadro é lenta e insidiosa e manifesta-se na forma de cansaço, fraqueza e astenia para realização de tarefas como caminhadas ou carregamento de pesos.

Se do ponto de vista clínico a existência de miopatia em músculos periféricos é bem reconhecida, sua ocorrência no principal músculo da respiração, o diafragma, até recentemente era discutida. Admitia-se que devido à constante contração de suas fibras pela respiração, ele estivesse protegido do desenvolvimento da doença. Entretanto, nos últimos anos dados experimentais mostraram que esse músculo é igualmente susceptível ao problema. O surgimento de miopatia diafragmática por corticosteróides em pacientes com pneumopatia crônica pode levar, pelo menos em tese, ao agravamento da sensação de dispnéia e propensão para o desenvolvimento de fadiga muscular respiratória em situações de sobrecarga ventilatória como, por exemplo, num episódio de infecção respiratória. No ambiente da terapia intensiva, pode igualmente levar a dificuldades do desmame de ventiladores.

Atualmente encontra-se disponível na literatura grande volume de informações referentes aos aspectos morfológicos e funcionais da miopatia induzida pela administração de esteróides sistêmicos, tanto em músculos periféricos como no diafragma. Entretanto, após uma revisão na literatura, não foi encontrado nenhum estudo voltado à investigação das propriedades mecâ-

nicas de músculos de animais tratados com esteróides sistêmicos empregando-se ensaios de tração. Diante disso, desenvolveu-se uma pesquisa direcionada à avaliação dos efeitos do uso de esteróides em altas doses sobre as propriedades mecânicas do diafragma de coelhos.

O peso médio dos animais ao início do estudo não diferiu entre os dois grupos estudados, indicando que eram comparáveis. No momento da eutanásia, o GE apresentou peso médio significativamente inferior ao do GC. Além disso, a comparação do peso médio dos grupos permite notar que o GC apresentou discreto ganho ponderal, enquanto o GE apresentou perda. Tais achados já foram descritos em estudos experimentais com a administração de esteróides em altas doses e podem ser explicados pela ação catabólica da droga, particularmente sobre os grupos musculares periféricos. Uma explicação adicional poderia ser relacionada a alterações da ingestão de alimentos, secundárias a modificações do apetite do animal. O uso de esteróides costuma levar a elevações do apetite porém, quando usados em altas doses, um efeito oposto também pode ser observado. Além disso, o surgimento de potenciais complicações digestivas tais como gastrites ou úlceras poderia também influenciar a absorção de nutrientes. Não acreditamos que esses tenham sido fatores relevantes para os achados deste estudo, porque o nível de ingestão média entre os dois grupos de animais não diferiu de maneira significativa. Também não observamos episódios de vômitos ou evidências de hemorragias digestivas em nenhum animal dos dois grupos.

Ao final do estudo o peso médio do diafragma não diferiu de maneira signi-

ficante entre os grupos, indicando que no modelo estudado os efeitos catabólicos dos esteróides sobre o diafragma foram mínimos. Tal achado assemelha-se ao que foi encontrado por Van Balkon *et al.*¹², que utilizaram metilprednisolona nas doses de 0,2 mg/kg por 9 meses em ratos. Entretanto, contrapõe-se ao de Ferguson *et al.*⁹, que observaram redução significativa do peso do diafragma após o uso de 10 mg/kg/dia de acetato de cortisona por três semanas em coelhos.

Os valores médios de tensão e deformação dos limites máximo e de proporcionalidade dos diafragmas, parâmetros obtidos respectivamente na fase plástica e elástica do ensaio de tração, foram semelhantes em ambos os grupos. No entanto, é mais interessante a análise dos dados obtidos dos diafragmas na fase elástica, pois reflete a etapa de deformação reversível, estando mais próximo das condições normais de funcionamento muscular. Observou-se que nessa fase os diafragmas dos animais que receberam metilprednisolona apresentaram a mesma capacidade de alongamento em relação aos animais controle. Os valores médios do módulo de elasticidade foram igualmente semelhantes no diafragma de ambos os grupos, refletindo que o uso de altas doses de metilprednisolona não alterou as características do material em estudo.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que o uso de metilprednisolona em altas doses não levou a alterações significativas das propriedades mecânicas do principal músculo da respiração, o diafragma.

REFERÊNCIAS

- 1 Pascuzzi RM. Drugs and toxins associated with myopathies. *Curr Opin Rheumatol*. 1998;10:511–20.
- 2 Batchelor TT, Taylor LP, Thaler HT, Posner JB, De Angelis LM. Steroid myopathy in cancer patients. *Neurology*. 1997;48:1234–8.
- 3 Jacek O, Magdalena J, Daria, OM. Drug-induced myopathies: an overview of the possible mechanisms. *Pharmacol Rep*. 2005;57:23-34.
- 4 Wanke T, Merkle M, Formanek D, Zifko U, Wieselthaler G, Zwick H, et al. Effect of lung transplantation on diaphragmatic function in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 1994;49(5):459-64.
- 5 Decramer M, de Bock V, Dom R. Functional and histologic picture of steroid-induced myopathy in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153(6):1958-64.
- 6 Schimmer BP, Parker KL. Hormônio adrenocorticotrófico; esteróides adrenocorticais e seus análogos sintéticos; inibidores da síntese e das ações dos hormônios adrenocorticais. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 9a ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 1996. p.1092-3.
- 7 Dekhuijzen PNR, Decramer M. Steroid-induced myopathy and its significance to respiratory disease: a known disease rediscovered. *Eur Respir J*. 1992;5:997-1003.
- 8 Ferguson GT, Irvin CG, Cherniack M. Effect of corticosteroids on diaphragm function and biochemistry in the rabbit. *Am Rev Respir Dis*. 1990a;141:156-63.
- 9 Ferguson GT, Irvin CG, Cherniack M. Effect of corticosteroids on respiratory muscle histopathology. *Am Rev Respir Dis*. 1990b;142:1047-52.
- 10 Nava S, Gayan-Ramirez G, Rollier H, Bisshop A, Dom R, de Bock V, et al. Effects of acute steroid administration on ventilatory and peripheral muscles in rats. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153:1888-96.
- 11 van Balkon RHH, van Der Heijden HFM, van Moerkerk HTB, Veerkamp JH, Fransen JAM, Gisnel LA, et al. Effects of different treatment regimens of methylprednisolone on rat diaphragm contractility, immunohistochemistry and biochemistry. *Eur Respir J*. 1996;9:1217-23.
- 12 van Balbon RHH, Dekhuijzen PNR, Van Der Heijden HFM, Folgering HTM, Fransen JAM, van Herwaarden CLA. Effects of anabolic steroids on diaphragm impairment induced by methylprednisolone in emphysematous hamsters. *Eur Respir J*. 1999;13:1062-9.
- 13 Gayan R, Decramer M, The effect of corticotherapy on respiratory muscles. *Rev Mal Respir*. 1998;15(1):33-41.
- 14 Perez T. Clinical investigation of diaphragmatic function: relationships with the biology of muscle. *Rev Mal Respir*. 2000;17(2):591-6.
- 15 Noonan TJ, Best TM, Seaber AN, Garret Jr. WE. Identification of a threshold for skeletal muscle. *Am J Sports Med*. 1994;22:257-61.
- 16 Menezes DF. Aplicação do ultra-som na lesão muscular aguda [dissertação]. Ribeirão Preto: Escola de Engenharia de São Carlos e Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 1997.
- 17 Carvalho CMM. Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético [dissertação]. Ribeirão Preto: Escola de Engenharia de São Carlos e Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 2001.
- 18 Costa ASS, Dias JAL, Melo FEA, Guimarães SB. Propriedades biomecânicas do complexo labrum-glenóide bicipital superior submetido ao estresse mecânico. *Acta Cir Bras*. 2006;21(4):214.