

DOI: 10.1590/1809-2950/17484624022017

# Análise da função pulmonar e estrutura micromecânica após 14 dias de restrição de movimento em ratas

*Analysis of pulmonary function and micromechanics structure after 14 days of movement restriction in female rats*

*Análisis de la función pulmonar y estructura micromecánica después de 14 días de restricción en el movimiento en ratas*

Francisco Fleury Uchoa Santos Júnior<sup>1</sup>, Karla Camila Lima de Souza<sup>2</sup>, Daniel Silveira Serra<sup>3</sup>, Vânia Marilande Ceccatto<sup>4</sup>, Francisco Sales Ávila Cavalcante<sup>4</sup>

**RESUMO** | A imobilização é uma condição que compromete diversos segmentos e sistemas orgânicos, inclusive o sistema respiratório, levando a alterações estruturais e funcionais. O objetivo deste estudo foi analisar a função pulmonar e estrutura micromecânica após 14 dias de restrição de movimento de ratas. Foram utilizados catorze ratas Wistar com massa corporal entre 210 g ± 50 g, distribuídas em dois grupos, compostos por (n=7) cada grupo: Controle (C) e Imobilizado (I). O procedimento de imobilização envolveu abdômen (e últimas costelas), pelve, quadril e joelho em extensão, além de tornozelo em flexão plantar, por duas semanas. Após esse período de imobilização, foi realizada a análise da função pulmonar por ventilador mecânico para pequenos animais (flexiVent) e manobras de recrutamento alveolar (MR). E, posteriormente, foram retiradas tiras do pulmão de cada animal para analisar a micromecânica pulmonar. Para a análise estatística, utilizou-se o teste *t* não pareado com significância estatística ( $p < 0,05$ ), expresso como média ± erro padrão da média. O grupo I apresentou mudanças significantes nos parâmetros da resistência das vias aéreas ( $R_N$ ) pré-MR ( $C=0,067 \pm 0,003$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I=0,095 \pm 0,004$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0,05$ ) e histerisibilidade ( $\eta$ ) pré-MR ( $C=0,203 \pm 0,004$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I=0,248 \pm 0,013$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0,05$ ), que retornaram a seus valores

de normalidade pós-MR, considerando-se  $R_N$  pós-MR ( $C=0,064 \pm 0,003$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I=0,065 \pm 0,004$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0,05$ ) e  $\eta$  ( $C=0,209 \pm 0,005$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I=0,214 \pm 0,007$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0,05$ ). Conclui-se que a imobilização acarreta alterações funcionais reversíveis no sistema respiratório após 14 dias de restrição de movimento, o que é evidenciado pela redução de  $R_N$  e  $\eta$  pós-MR.

**Descritores** | Imobilização; Sistema Respiratório; Pulmão.

**ABSTRACT** | Immobilization is a condition that affects several segments and organic systems, including the respiratory system, leading to structural and functional alterations. The purpose of this study was to analyze pulmonary function and micromechanical structure after 14 days of movement restriction in rats. Fourteen female Wistar rats with body mass between 210 g ± 50 g were used, divided into two groups, composed of (n=7) each group: Control (C) and Immobilized (I). The immobilization procedure involved the abdomen (and last ribs), pelvis, hip and knee extension and the ankle in plantar flexion in the two week period. After the immobilization period, an analysis of the pulmonary function was performed using a mechanical ventilator for small animals, flexVent, and alveolar recruitment maneuvers. Subsequently, lung strips were removed

Estudo desenvolvido no Laboratório de Bioquímica e Expressão Gênica (Labiex) e no Laboratório de Biofísica da Respiração (LBR) da Universidade Estadual do Ceará (UECE) – Fortaleza (CE), Brasil.

<sup>1</sup>Docente do Centro Universitário Estácio do Ceará – Fortaleza (CE), Brasil.

<sup>2</sup>Doutorando da Universidade Estadual do Ceará (UECE) – Fortaleza (CE), Brasil.

<sup>3</sup>Doutoranda da Universidade Estadual do Ceará (UECE) – Fortaleza (CE), Brasil.

<sup>4</sup>Docente da Universidade Estadual do Ceará (UECE) – Fortaleza (CE), Brasil.

Endereço para correspondência: Francisco Fleury Uchoa Santos Júnior – Rua Eliseu Uchoa Beco, 600, Água Fria – Fortaleza (CE), Brasil – CEP: 60810-270 – E-mail: drfleuryjr@gmail.com – Fonte de financiamento: CAPES e FUNCAP – Conflitos de interesse: Os autores declaram não haver conflitos de interesse – Apresentação: jan. 2017 – Aceito para publicação: abr. 2017 – Aprovado Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Ceará (UECE) sob protocolo no 3576780/2014.

from each animal for pulmonary micromechanics analysis. Statistical analysis was performed using the unpaired *t* test with  $p < 0.05$ , expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean. Group I presented significant changes in the parameters of airway resistance ( $R_{aw}$ ) Pre RM ( $C = 0.067 \pm 0.003$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I = 0.095 \pm 0.004$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0.05$ ) and Hysteresivity ( $\eta$ ) Pre RM ( $C = 0.203 \pm 0.004$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I = 0.248 \pm 0.013$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0.05$ ), which returned to their normal values after RM.  $R_{aw}$  Post RM ( $C = 0.064 \pm 0.003$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I = 0.065 \pm 0.004$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0.05$ ) and  $\eta$  ( $C = 0.209 \pm 0.005$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I = 0.214 \pm 0.007$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0.05$ ). It is concluded that immobilization causes reversible functional changes in the respiratory system after 14 days of movement restriction evidenced by the reduction of  $R_N$  and  $\eta$  after RM.

**Keywords** | Immobilization; Respiratory System; Lung.

**RESUMEN** | La inmovilización es una condición que compromete diversos segmentos y sistemas orgánicos incluso el sistema respiratorio, llevando a alteraciones estructurales y funcionales. El objetivo de este estudio fue analizar la función pulmonar y estructura micromecánica después de 14 días de restricción en el movimiento de ratas. Fueron utilizados catorce ratas Wistar con masa corporal entre 210 g  $\pm$  50 g, distribuidas en dos grupos, compuestos por ( $n = 7$ ) cada grupo: Control

(C) y Inmovilizado (I). El procedimiento de inmovilización envolvió el abdomen (y últimas costillas), la pelvis, la cadera y la rodilla en extensión y el tobillo en flexión plantar el periodo de dos semanas. Después del periodo de inmovilización fue realizado el análisis de la función pulmonar por medio del ventilador mecánico para pequeños animales flexVent y manobras de recrutamiento alveolar (MR). Posteriormente, fueron retirados pedazos del pulmón de cada animal para análisis de la micromecánica pulmonar. Para el análisis estadística se utilizó la prueba *t* no pareada con significación estadística ( $p < 0.05$ ), expresada como media  $\pm$  error patrón de la media. El grupo I presentó cambios significativos en los parámetros de la resistencia de las vías aéreas ( $R_N$ ) pre-MR ( $C = 0.067 \pm 0.003$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I = 0.095 \pm 0.004$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0.05$ ) y histerisividad ( $\eta$ ) pre-MR ( $C = 0.203 \pm 0.004$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I = 0.248 \pm 0.013$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0.05$ ), que retornaron a sus valores de normalidad después de la MR.  $R_N$  post-MR ( $C = 0.064 \pm 0.003$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I = 0.065 \pm 0.004$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0.05$ ) y  $\eta$  ( $C = 0.209 \pm 0.005$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $I = 0.214 \pm 0.007$  cmH<sub>2</sub>O.s/mL,  $p < 0.05$ ). Se concluye que la inmovilización conlleva alteraciones funcionales reversibles en el sistema respiratorio, después de 14 días de restricción en el movimiento evidenciado por la reducción de la  $R_N$  y  $\eta$  después de la MR.

**Palabras clave** | Inmovilización; Sistema Respiratorio; Pulmón.

## INTRODUÇÃO

A imobilização é uma prática clínica utilizada usualmente em situações de trauma e/ou patologias álgicas visando ao restabelecimento funcional. Ambas as situações podem limitar habilidades plenas do paciente, como locomoção e outras atividades diárias da vida<sup>1,2</sup>.

Pequenos períodos de restrição de movimento, mesmo de curto prazo, podem acarretar diversos prejuízos à região imobilizada<sup>3</sup>, incluindo transtornos em diversos segmentos corporais e sistemas orgânicos, como comprometimentos circulatórios<sup>1</sup>, alterações ligamentares<sup>4</sup>, aumento do tecido conjuntivo<sup>5</sup>, edema<sup>6</sup>, rigidez articular<sup>4</sup>, hipotrofia e atrofia muscular<sup>7</sup>, como também redução na densidade mineral óssea<sup>3,8</sup>.

De modo geral, dependendo da região imobilizada e do tempo de restrição, o sistema respiratório pode ser comprometido. Esses danos na estrutura mecânica do diafragma<sup>6</sup> e conseqüente redução do movimento diafragmático e excursão torácica podem ocasionar

aumento da resistência mecânica e redução da ventilação pulmonar, gerando atelectasias e pneumonias<sup>9</sup>.

Diversos estudos abordam o impacto da imobilização no aparelho locomotor<sup>1-3,6,7</sup>, entretanto pouco se conhece sobre o sistema respiratório quanto a efeitos de aparatos que restrinjam o movimento do tronco. Nesse contexto, este estudo analisou a repercussão que a restrição do movimento abdominal a partir de um modelo experimental contendo múltiplas limitações motoras pode promover na estrutura e função do sistema respiratório, e se são reversíveis com manobra de recrutamento.

## METODOLOGIA

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Ceará (UECE), sob o Protocolo n° 3576780/2014. Foram utilizadas 14 ratas Wistar adultas jovens, com

massa corporal entre  $210 \pm 50$  g provenientes do Biotério do Instituto Superior de Ciências Biomédicas da UECE. Durante o período de imobilização, os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro (a cada 12h), em ambiente com temperatura controlada entre 22 a 25°C e com ração e água *ad libitum*.

### Protocolo de imobilização

As ratas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos contendo sete animais em cada, denominados: Controle e Imobilizado. O procedimento de imobilização foi realizado com esparadrapo impermeável (marca Cremer® com 5 cm de largura), que incluiu abdômen (e últimas costelas), pelve, quadril e joelho em extensão, além de tornozelo em flexão plantar. A pata direita dos animais foi enfaixada com tiras de esparadrapo comercial, de 5 cm de largura e 10 cm de comprimento. A estrutura de tiras de esparadrapo foi fixada com tiras extras no tronco sobre enfaixamento de bandagem no abdômen e na pelve do animal. As tiras foram substituídas ou reforçadas, quando danificadas. A imobilização foi mantida por 14 dias<sup>6</sup>.

### Adequação dos animais ao ventilador mecânico

A função pulmonar das ratas foi analisada em ventilador mecânico para pequenos animais (modelo flexiVent, SCIREQ, de Montreal, Canadá). Elas foram anestesiadas com pentobarbital sódico, 90 mg/kg, via intraperitoneal (IP), para posterior traqueostomia e, então, foram conectadas ao ventilador mecânico. Após 5 minutos de adaptação do animal, efetuou-se a paralisação da musculatura por injeção de brometo de pancurônio (2 mg/kg, IP) a fim de iniciar o protocolo experimental para função pulmonar. Os pulmões foram ventilados a 90 incursões respiratórias por minuto, apresentando volume corrente de 10 mL/kg, com limitação de pressão a 30 cmH<sub>2</sub>O e pressão positiva expiratória final (PEEP) de 3 cmH<sub>2</sub>O.

### Protocolo de medidas mecânicas

Para obtenção da medida de impedância do sistema respiratório ( $Z_{rs}$ ), foi utilizada perturbação *quick-prime*. A pressão e o fluxo obtidos a partir dessa perturbação foram utilizados para calcular a medida de  $Z_{rs}$ , a qual foi ajustada ao modelo de fase constante<sup>10</sup>. A partir

disso, foram determinados os seguintes parâmetros: resistência das vias aéreas ( $R_{N}$ ), resistência tecidual (G), elastância tecidual (H) e histeresividade ( $\eta$ ). Para obtenção da curva pressão-volume (PV), a pressão na traqueia foi elevada até 30 cmH<sub>2</sub>O em intervalos igualmente espaçados de pressão preestabelecidos, permitindo coletar medidas de complacência estática ( $C_{st}$ ), estimativa da capacidade inspiratória (CI) e cálculo da área da curva PV. O protocolo foi estipulado em doze perturbações e uma curva PV seguida de duas insuflações profundas ou manobras de recrutamento. Todo o procedimento durou 15 minutos.

### Micromecânica pulmonar

Após coletar os parâmetros ventilatórios, os animais foram sacrificados com uma dose letal de pentobarbital sódico (120 mg/kg, IP). A região toracoabdominal foi aberta para exposição dos órgãos internos. Em seguida, foram removidos *in bloc* coração e pulmões. Do parênquima pulmonar, foram retiradas tiras de aproximadamente 2x2 mm de secção transversal e 6 mm de comprimento, de forma que uma das extremidades da tira foi presa com cola à base de cianoacrilato ao atuador (Modelo 300B-LR, Aurora Scientific, de Ontario, Canadá) e a outra extremidade a uma base fixa e imersa em câmara para órgão isolado com solução de Krebs, aerada e com temperatura controlada a 37 °C. O comprimento da amostra foi ajustado até a força basal alcançar valor acima da gerada pelo peso da amostra, denominado de  $L_0$  (comprimento em repouso – mm).

O pré-condicionamento ocorreu por oscilações senoidais por 10 minutos a amplitude de 10% de  $L_0$  e frequência de 1 Hz até alcançar *loop* estável<sup>11</sup>. Após pré-condicionamento, a amostra foi ajustada novamente e o comprimento de referência ( $L_r$ ) medido com um paquímetro. O comprimento inicial ( $L_i$ ) foi ajustado para 15% do  $L_r$  e as amostras osciladas a uma amplitude de 2,5 % de  $L_i$  nas frequências de 0,1, 0,3, 1, 3 e 10 Hz, com 20 ciclos cada. Posteriormente,  $L_i$  foi ajustado para 25% de  $L_r$ , e o procedimento descrito foi repetido a fim de obter as medidas de elastância, resistência e histeresividade.

Para análise estatística, utilizou-se o teste *t* não pareado e Two-way Anova com pós-teste de Sidak com significância estatística ( $p < 0,05$ ). Os parâmetros citados foram expressos como média ± erro padrão da média.

## RESULTADOS

No intuito de analisar a função pulmonar pós-imobilização de pata dos grupos Imobilização (n=7) e Controle (n=7), realizou-se ensaios mecânicos para obter os valores de  $R_N$ , G, H,  $\eta$ ,  $C_{st}$ , CI e área da curva PV (Tabelas 1 e 2). A mecânica pulmonar mostrou que houve alterações estatisticamente significativas somente nos parâmetros da  $R_N$  e  $\eta$  (Tabela 2).

Tabela 1. Análise da função pulmonar

	Controle	Imobilização	Valor de p
Complacência estática (mL/cmH <sub>2</sub> O)	0,763±0,043	0,731±0,034	0,5667
Capacidade inspiratória (mL)	8,355±0,405	8,001±0,224	0,4514
Área da curva PV (mL cmH <sub>2</sub> O)	35,18±1,198	34,28±1,879	0,6901

PV: pressão-volume

Tabela 2. Recuperação das alterações na função pulmonar após a manobra de recrutamento

	Controle (Média±EPM)	Imobilização (Média±EPM)	Média da diferença (95% IC)
<b>Resistência de vias aéreas (cmH<sub>2</sub>O.s/mL)</b>			
Pré-MR	0,067±0,003	0,095±0,004*	-0,280 (-0,039 a -0,016)
Pós-MR	0,064±0,003	0,065±0,004	-0,001 (-0,013 a 0,011)
<b>Resistência tecidual (cmH<sub>2</sub>O.s/mL)</b>			
Pré-MR	0,626±0,019	0,656±0,031	-0,030 (-0,105 a 0,045)
Pós-MR	0,541±0,016	0,560±0,020	-0,019 (-0,094 a 0,056)
<b>Elastância tecidual (cmH<sub>2</sub>O.s/mL)</b>			
Pré-MR	3,064±0,110	3,080 ± 0,242	-0,016 (-0,546 a 0,514)
Pós-MR	2,551±0,092	2,653 ± 0,140	-0,102 (-0,632 a 0,428)
<b>Histeresividade (cmH<sub>2</sub>O.s/mL)</b>			
Pré-MR	0,203±0,004	0,248±0,013*	-0,045 (-0,072 a -0,018)
Pós-MR	0,209±0,005	0,214±0,007	-0,005 (-0,032 a 0,022)

EPM: erro padrão da média; IC: intervalo de confiança; MR: manobra de recrutamento. \*Teste Two-way Anova com pós-teste de Sidak de comparação múltipla; p<0,05

Os resultados referentes à análise da micromecânica do tecido pulmonar são ilustrados na Figura 1.

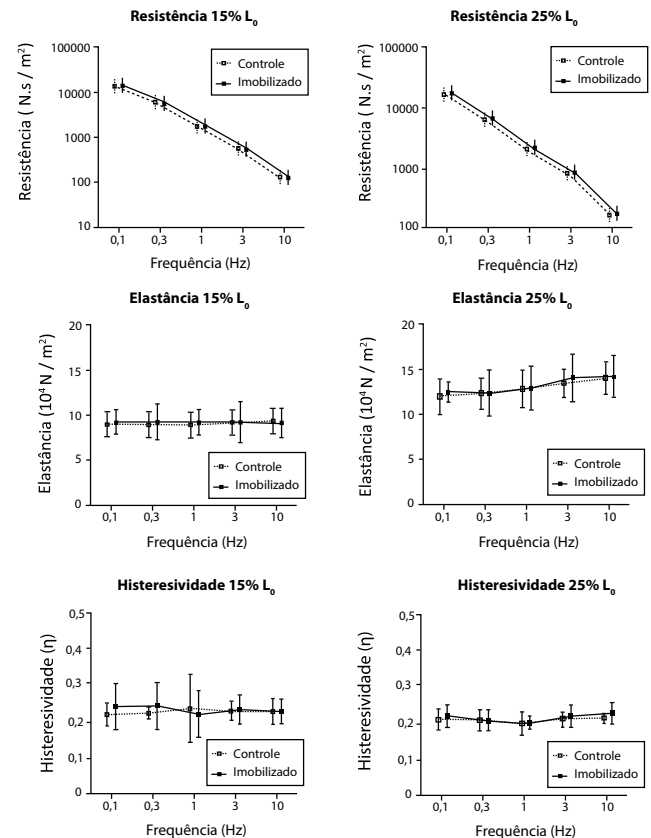


Figura 1. Micromecânica pulmonar. Resistência, elastância e histeresividade dos grupos Controle (n=7) e Imobilizado (n=7) em função das diferentes frequências (0,1, 0,3, 1, 3 e 10 Hz). Os valores estão expressos em média±erro padrão da média (p<0,001)

## DISCUSSÃO

Neste estudo, foram demonstradas alterações significativas nos parâmetros de resistência das vias aéreas ( $R_N$ ) e histeresividade ( $\eta$ ) após 14 dias de restrição de movimento com imobilização de pata e tronco, indicando alterações na função pulmonar. Segundo Bates<sup>12</sup>, o valor  $R_N$  tem sido usado como boa estimativa para avaliar a resistência total das vias aéreas centrais. É provável que a imobilização no tronco tenha ocasionado distorções nas vias aéreas centrais em virtude de possíveis flutuações de pressão no interior do parênquima pulmonar<sup>13</sup>, provavelmente gerando broncoconstrições e áreas de atelectasia. A alteração nas propriedades reológicas do tecido pulmonar<sup>12</sup>, como mudanças no diâmetro das vias aéreas influenciadas pela

geração de força a partir da contração do músculo liso<sup>14</sup>, efeito ilustrado por vários autores, pode ser considerada uma segunda possibilidade.

Uma segunda peculiaridade diz respeito ao aumento do valor de  $\eta$  na mecânica pulmonar. A histeresividade é um parâmetro calculado a partir da relação entre os parâmetros G e H e seu valor cresce à medida que o pulmão se torna mecanicamente heterogêneo, portanto, com a distribuição ventilatória irregular<sup>15,16</sup>. Esse fato pode justificar o aumento identificado no parâmetro de  $\eta$ , sugerindo, assim, presença de heterogeneidades ventilatórias relacionadas ao aumento do valor  $R_N$ .

Uma particularidade da manobra de recrutamento é sua capacidade de normalizar os valores  $R_N$  e  $\eta$ , conforme é possível observar na Tabela 2. Para compreender a normalização dos referidos resultados, possivelmente ocorreu estiramento físico da musculatura lisa após administração de uma insuflação profunda, visto que o músculo liso das vias aéreas centrais uma vez contritos não retornam a seu padrão de normalidade sem auxílio mecânico<sup>17</sup>.

Segundo o trabalho de Bates et al.<sup>18</sup> com camundongos, o estiramento muscular causado por aumento no volume pulmonar afetou o tônus muscular pelas vias neurais, ocasionando relaxamento e retorno aos padrões de normalidade. Kapsali et al.<sup>19</sup> reportaram efeito broncoprotetor no tecido pulmonar de sujeitos saudáveis após realização de manobra de recrutamento alveolar. Os autores reportam, ainda, que a broncoproteção é uma importante função fisiológica pulmonar, sendo que esses fatos podem corroborar com os achados deste estudo.

Referente à análise estrutural do parênquima pulmonar, observou-se na Figura 1 que não houveram alterações estruturais nos elementos constituintes da rede de fibras que compõem o tecido pulmonar, portanto, provavelmente não ocorreram mudanças na quantidade de fibras elásticas e colágenas, o que está de acordo com os resultados obtidos para os valores de G e H.

A resistência tecidual reflete as perdas energéticas geradas pela viscosidade pertinente à movimentação do pulmão e à elastância pulmonar, portanto, o caráter elástico do tecido<sup>12</sup>. Esses parâmetros não são independentes, ou seja, um aumento no valor de G está diretamente associado a um aumento proporcional no valor de H, associado às características elásticas do tecido pulmonar, que podem alterar diretamente os parâmetros de  $C_{st}$ , CI e área da curva PV, conforme Tabela 1.

Em dois estudos prévios com esse modelo experimental de restrição do movimento respiratório e o mesmo tempo de imobilização (14 dias), evidenciamos quadro de 14% de hipotrofia muscular diafragmática, identificado por histologia (coloração com hematoxilina e eosina) do tecido<sup>6</sup>, e redução do quantitativo de proteínas totais no diafragma<sup>1</sup>, suportando-se, assim, a existência de comprometimento da musculatura respiratória esquelética. Este trabalho, portanto, sugere que a condição descrita anteriormente com o modelo experimental utilizado neste trabalho provavelmente não comprometeu definitivamente a função ou a estrutura do parênquima pulmonar. Essas alterações provavelmente foram ocasionadas por possíveis áreas de colapso alveolar com redução da capacidade respiratória.

Nesse contexto, este estudo mostrou que a restrição da caixa torácica e da parede abdominal em um modelo animal de 14 dias de imobilização, o qual mimetizou uma condição de múltiplos segmentos corporais restritos, gerou alterações reversíveis na função pulmonar, sem alterar sua estrutura.

## CONCLUSÃO

As ratas submetidas às condições descritas de imobilização apresentaram alterações funcionais reversíveis no sistema respiratório. Essas alterações mostraram aumento da resistência das vias aéreas e histeresividade, sugerindo possíveis comprometimentos respiratórios em função da restrição de movimento.

## REFERÊNCIAS

1. Santos FFU Jr, Souza ALQ, Franco FGS, André NM, Ceccatto VM. Reabilitação diafragmática de ratos pós-imobilização com terapia aquática. *Fisioter Bras*. 2012;13(6):419-3.
2. Santos FFU Jr, Pires AF, Ribeiro NM, Mendonça VA, Alves JO, Soares PM, et al. Sensorial, structural and functional response of rats subjected to hind limb immobilization. *Life Sci*. 2015;137:158-63. doi: 10.1016/j.lfs.2015.07.020.
3. Vasconcelos APT, Santos FFU Jr. Alterações na densidade óssea pós-imobilização em ratos. *Rev Saúde Diálogo*. 2010;1(1):59-65.
4. Carvalho LC, Shimano AC, Picado CHF. Estimulação elétrica neuromuscular e o alongamento passivo manual na recuperação das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio imobilizado. *Acta Ortop Bras*. 2008;16(3):161-4. doi: 10.1590/S1413-78522008000300007.
5. Abdalla DR, Bertonecello D, Carvalho LC. Avaliação das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas

- imobilizado e submetido à corrente russa. *Fisioter Pesqui.* 2009;16(1):59-64. doi: 10.1590/S1809-29502009000100011.
6. Santos FFU Jr, Alves JSM, Machado AAN, Carlos PS, Ferraz ASM, Barbosa R, et al. Alterações morfológicas em músculo respiratório de ratos submetidos à imobilização de pata. *Rev Bras Med Esporte.* 2010;16(3):215-8. doi: 10.1590/S1517-86922010000300012.
  7. Alves JS, Leal-Cardoso JH, Santos FFU Jr, Carlos PS, Silva RC, Lucci CM, et al. Limb immobilization alters functional electrophysiological parameters of sciatic nerve. *Braz J Med Biol Res.* 2013;46(8):715-21. doi: 10.1590/1414-431X20132626.
  8. Volpon JB, Cecim PES, Miyase CI, Gava NF. O alendronato de sódio na prevenção da osteopenia secundária à imobilização gessada, em ratos: avaliação histomorfométrica. *Rev Bras Ortop.* 2008;43(10):442-51. doi: 10.1590/S0102-36162008001000004.
  9. Cazeiro APM, Peres PT. A terapia ocupacional na prevenção e no tratamento de complicações decorrentes da imobilização no leito. *Cad Ter Ocup. UFSCar.* 2010;18(2):149-67.
  10. Gomes RF, Shen X, Ramchandani R, Tepper RS, Bates JH. Comparative respiratory system mechanics in rodents. *J Appl Physiol.* 2000;89(3):908-16.
  11. Leite JH Jr, Rocco PR, Faffe DS, Romero PV, Zin WA. On the preparation of lung strip for tissue mechanics measurement. *Respir Physiol Neurobiol.* 2003;134(3):255-62. doi: 10.1016/S1569-9048(02)00217-3.
  12. Bates, JHT. Lung mechanics: an inverse modeling approach. Cambridge: Cambridge University Press, 2009.
  13. Salerno DF, Werner RA, Albers JW, Becker MP, Armstrong TJ, Franzblau A. Reliability of nerve conduction studies among active workers. *Muscle Nerve.* 1999;22(10):1372-9.
  14. Martin JG, Duguet A, Eidelman DH. The contribution of airway smooth muscle to airway narrowing and airway hyperresponsiveness in disease. *Eur Respir J.* 2000;16(2):349-54.
  15. Bates JHT, Rincon M, Irvin CG. Animal models of asthma. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2009;297(3):L401-10. doi: 10.1152/ajplung.00027.2009.
  16. Fredberg JJ, Ingram RH Jr, Castile RG, Glass GM, Drazen JM. Nonhomogeneity of lung response to inhaled histamine assessed with alveolar capsules. *J Appl Physiol.* 1985;58(6):1914-22.
  17. Wagers S, Lundblad LK, Ekman M, Irvin CG, Bates JH. The allergic mouse model of asthma: normal smooth muscle in an abnormal lung? *J Appl Physiol.* 2004;96(6):2019-27. doi: 10.1152/jappphysiol.00924.2003.
  18. Bates JH, Cojocar A, Lundblad LK. Bronchodilatory effect of deep inspiration on the dynamics of bronchoconstriction in mice. *J Appl Physiol.* 2007;103(5):1696-705. doi: 10.1152/jappphysiol.00698.2007.
  19. Kapsali T, Permutt S, Laube B, Scichilone N, Toghiani A. Potent bronchoprotective effect of deep inspiration and its absence in asthma. *J Appl Physiol.* 2000;89(2):711-20.