

UNIVERSIDADE METODISTA DE PIRACICABA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

**Avaliação quimio-metabólica da musculatura de ratos escolióticos
submetidos ao alongamento muscular**

Danilo Armbrust

2010

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DANILO ARMBRUST

**Avaliação quimio-metabólica da
musculatura de ratos escolióticos
submetidos ao alongamento muscular**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, da Universidade Metodista de Piracicaba, para obtenção do Título de Mestre em Fisioterapia. Área de concentração: Intervenção fisioterapêutica. Linha de pesquisa: Plasticidade Neuromuscular e Desenvolvimento Neuromotor.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva

PIRACICABA
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha Catalográfica

Armbrust, Danilo

Avaliação quimio-metabólica da musculatura de ratos escolióticos submetidos ao alongamento muscular. Danilo Armbrust – Piracicaba 2010.

57 p.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências da Saúde – Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia / Universidade Metodista de Piracicaba.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva

1. Escoliose. 2. Avaliação Quimio-metabólica. 3. Alongamento Muscular . I. Silva, Carlos Alberto. II. Universidade Metodista de Piracicaba, Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia. III. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais João e Magda, meus primeiros mestres, que sempre me apoiaram e nunca mediram esforços para que este sonho fosse realizado.

Serei eternamente grato a vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento Especial ao Prof^o Dr^o Carlos Alberto da Silva por orientar este trabalho com tanta dedicação e profissionalismo e pela ótima amizade desenvolvida desde a época da graduação até os dias de hoje; Obrigado por tudo Carlos, você sempre será um exemplo a ser seguido.

À Prof^a Denise Porces que me proporcionou o ingresso a docência. Muito Obrigado.

Aos meus pais pelo apoio incondicional ao longo de toda minha vida. Obrigado pelos sacrifícios realizados, pelos sonhos adiados, pelas ambições desfeitas, para que eu e meu irmão pudéssemos ter a educação que tivemos. Obrigado pelo carinho e pela compressão de vocês.

À minha querida afilhada Giovanna, por ser essa pessoa maravilhosa, cativante e amorosa. Te Amo Gi.

À toda família Lofiego Sanchez que abriram suas portas no momento em que eu mais precisava, em especial ao Leandrão que desde a época da graduação vem sendo um exemplo de superação, amizade e perseverança. A vocês, minha sincera gratidão.

Aos animais, que contra sua vontade, contribuíram com suas vidas para a realização deste trabalho. Meu simbólico agradecimento.

Aos meus avôs João, Raimunda, Iolanda e Batista que onde quer que estejam, tenho certeza que estão muito orgulhosos de mim. Obrigado e Saudades!

Ao meu irmão Daniel e minha cunhada Rita. Obrigado.

Aos alunos de iniciação científica Eder Arruda e Daniel Grassi, sem os quais meu trabalho teria no mínimo triplicado. Muito Obrigado.

À Deus, pelo dom da vida, pela saúde e acima de tudo, pela oportunidade de realizar este trabalho.

Às pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Muito Obrigado a todos!

*"Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos.
Fazer ou não fazer algo só depende de nossa vontade e perseverança".*

Albert Einstein

RESUMO

Escoliose é uma condição na qual a coluna vertebral sofre uma deformação estrutural seguida de alteração no padrão de ativação muscular que leva a um desequilíbrio muscular, podendo este ser o fator causal das deformidades. No intuito de obter a condição escoliótica para estudos, pesquisadores têm-se dedicado à testar modelos invasivos que necessitam de ações agressivas na obtenção da escoliose. Nesse sentido, o presente estudo consiste em implantar o quadro escoliótico de forma não invasiva e avaliar a biomecânica bem como os efeitos do alongamento muscular através da análise quimio-metabólica do tecido muscular. Tendo-se em vista que o alongamento muscular é caracterizado como um dos recursos cinesioterapêuticos mais utilizados na prática fisioterapêutica, faz-se necessário aferir sua potencialidade no que diz respeito à contenção da progressão escoliótica experimental. Para a realização do estudo, os animais foram distribuídos em três grupos (N=6): Controle (C), Escoliótico (E) e Escoliótico Alongado (EA). Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido do pós-teste de Tukey, $p < 0,05$. Os resultados mostraram que tanto o grupo E quanto o EA tiveram um comprometimento em seu perfil metabólico quando comparados ao C. Porém, a efetividade do alongamento é notada pelo menor comprometimento metabólico do grupo EA. Visto que o alongamento foi eficaz no intuito de minimizar as alterações metabólicas, bem, como a curvatura escoliótica, o alongamento merece grande destaque na prática clínica frente à condição escoliótica.

Palavras-Chave: escoliose, metabolismo, alongamento muscular.

ABSTRACT

Scoliosis is a condition in which the vertebral column undergoes a structural deformation followed by change in pattern of muscle activation that leads to muscle imbalance, which may be the cause of the deformities. In order to obtain the condition for scoliotic studies, researchers have been devoted to invasive test models that require aggressive actions in obtaining the scoliosis. Accordingly, the present study is to deploy the framework of scoliotic and non-invasively evaluate the biomechanics and the effects of muscle stretching through the chemo-metabolic analysis of muscle tissue. Considering that muscle stretching is characterized as a more kinesthetic resource used in physical therapy practice it is necessary to assess its potential with regard to containment of experimental scoliosis progression. For this study, the animals were divided into three groups (N = 6): control (C), scoliosis (S) and scoliosis Elongated (SA). For statistical analysis we used ANOVA followed by Tukey post-test, $p < 0.05$. The results showed that both the group Es and about the SA had a commitment to their metabolic profile when compared to C, however, the effectiveness of stretching is noted by the lower metabolic compromise of the SA group. Since the stretching was effective in order to minimize metabolic changes and the scoliotic curvature, stretching is noteworthy clinical practice in front of the scoliotic condition.

Keywords: scoliosis, metabolism, muscle stretching.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2.OBJETIVO.....	16
2.1 Objetivo Geral.....	16
2.2 Objetivo Específico.....	16
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Animais.....	17
3.2 Grupos Experimentais.....	17
3.3 Confecção do dispositivo de Policloreto de Vinil.....	17
3.4 Aplicação do Dispositivo.....	18
3.5 Alongamento.....	19
3.6 Mensuração da angulação escoliótica.....	20
3.7 Coleta dos músculos a serem analisados.....	20
3.8 Determinação do glicogênio muscular.....	21
3.9 Determinação da concentração de proteínas totais.....	21
3.10 Determinação do conteúdo de DNA.....	21

3.11 Análise da movimentação exploratória e ansiedade.....	21
3.12 Análise Estatística.....	24
4 RESULTADOS.....	25
4.1 Movimentação exploratória e ansiedade.....	25
4.2 Peso Corpóreo.....	26
4.3 Estudo Radiográfico.....	29
4.4 Estudo Radiográfico dos animais submetidos ao alongamento.....	34
4.5 Avaliação do Conteúdo de Glicogênio Muscular.....	35
4.6 Avaliação da Relação Proteína Total/DNA.....	39
5 DISCUSSÃO.....	41
6 CONCLUSÃO.....	49
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

De acordo com Penha *et al*, (2005), a coluna vertebral é o principal eixo de sustentação e equilíbrio do aparelho locomotor, tendo sua estabilidade dinâmica assegurada pela musculatura intrínseca e extrínseca. Os mesmos autores afirmam que alterações no sistema muscular, podem causar desordens posturais, sendo que, inúmeras são as alterações sofridas pela coluna, porém a escoliose é responsável pelo maior número de queixas ortopédicas entre crianças e adolescentes.

Escoliose é uma palavra que vem do grego *Skoliosis* e se emprega para designar qualquer curvatura lateral da coluna vertebral no plano frontal. Uma coluna considerada normal é reta quando observada na vista posterior, porém, se existir a presença de desvio lateral maior que 10º de rotação vertebral no plano axial e hiperlordose no plano sagital, pode se caracterizar como um quadro escoliótico (Ortiz, 1992; Marques, 2000).

Kisner e Colby (2005) alegam que, desde o período embrionário até a vida adulta, a coluna vertebral sofre várias modificações sendo influenciadas por vários fatores, tais como: genéticos, fisiológicos, psicológicos, experiências físico-motoras e vícios posturais, sendo que estes últimos merecem destaque por serem de maior influência na postura final do indivíduo.

Muito embora a etiologia da escoliose seja desconhecida, algumas hipóteses se baseiam em fatores de origem genética, esquelética, muscular, neuro-hormonal e fatores biomecânicos. Neste sentido, a hipótese diagnóstica mais aceita se dá sob fatores de origem musculoesquelética, onde há relatos de que frente ao processo escoliótico existe hipotonia e fraqueza muscular

difusa, predominante nos músculos respiratórios e paravertebrais (Goto et al., 2003 ; Roso et al., 2003)

A escoliose geralmente envolve a região torácica e lombar, podendo apresentar-se em "S", tipicamente em destros com uma curvatura para a direita na região torácica e esquerda na lombar, ou uma leve curvatura em "C" sinistro convexa na região toracolombar. Pode haver assimetria nos quadris, pelve e membros inferiores (Kisner e Colby, 2005).

No intuito de conter e/ou reverter a curvatura escoliótica, a fisioterapia aplica vários métodos e recursos dos quais se destacam: métodos Schroth e Klapp, exercícios físicos, estimulação elétrica dos músculos, uso de colete associado a exercícios e o alongamento muscular o qual tem apresentado maior aplicabilidade no que diz respeito ao tratamento da curvatura (Marques et al., 1996).

De modo geral, as técnicas de alongamento são aplicadas em músculos normais ou encurtados, tendo como objetivo a melhora da flexibilidade e são classificadas como: balística ou dinâmica, estática e facilitação neuromuscular proprioceptiva (FNP), sendo que a mais utilizada é a modalidade estática por apresentar-se eficaz no intuito de aumentar as amplitudes de movimento e ser de simples execução (Roberts e Wilson, 1999; Herzog, Schachar e Leonard, 2003).

Alguns estudos que tiveram o alongamento estático como protocolo, descreveram que os principais efeitos observados são: aumento macroscópico da amplitude de movimento articular seguido de alterações morfofuncionais, como o aumento de sarcômeros em série às miofibrilas, alteração na formação do complexo actomiosina, alteração da disposição das

fibras colágenas, alteração na conformação da titina e proteínas do costâmeros (Whatman, Knappstein e Hume, 2006; Beedle e Mann, 2007). Convém ressaltar que as alterações supracitadas, por sua vez, influenciam diretamente as propriedades mecânicas do tecido muscular, podendo alterar a dinâmica contrátil (Carvalho, Shimano e Volpon, 2002).

Na literatura, é possível aferir que os métodos experimentais, no intuito de desenvolver escoliose, dificultam a aplicação e teste de técnicas de intervenção, por serem todos de caráter invasivo. Nogami, Terashima e Tamaki (1977) administraram beta-aminopropionitrila intraperitoneal em ratos alterando os ligamentos vertebrais; Tanaka et al. (1982) produziram osteolatrismo com o fármaco carbazida; Sarwark, Dabney e Salzman (1988) estudaram trauma na coluna dos ratos; Joe (1990) estimulou eletricamente e unilateralmente a musculatura de ratos buscando gerar alterações na coluna vertebral; Kasuga (1994) fez sutura nos músculos próximos às vértebras limitando a movimentação; Stokes et al. (2002) comprometeram o crescimento dos condrócitos alterando mecanicamente as vértebras; Machida et al. (2005) fizeram pinealectomia nos ratos e sugeriram relações entre a concentração plasmática de melatonina e alterações posturais; Junko et al (2006) induziram a curvatura escoliótica em ratos reduzindo os níveis de melatonina e ainda, amputaram os membros anteriores para que o animal assumisse a postura bípede.

Nesse contexto, Arruda, Silva e Guirro (2008) obtiveram êxito em implantar a condição escoliótica de forma não invasiva, deixando caracterizado o perfil obtido como sendo em “C” sinistro convexa, nível tóraco-lombar, 45° de inclinação, acompanhada de expressiva redução no conteúdo

glicogênico, bem como na concentração de proteína total muscular.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Este estudo teve como objetivo induzir escoliose em ratos através de colete de policloreto de vinil (PVC) e, concomitante ao período de indução da alteração estrutural, aplicar um protocolo de alongamento, de modo que, após doze semanas de indução e intervenção fossem determinados parâmetros indicativos do “*status*” energético/funcional dos músculos

2.2 Objetivo Específico

Pretendeu-se realizar as seguintes avaliações (estudos):

- a. Estudo comportamental dos animais submetidos ao processo de indução da escoliose;
- b. Estudo radiográfico dos diferentes grupos para avaliar o comportamento da coluna na progressão da alteração escoliótica;
- c. Estudo das reservas glicogênicas de músculos da caixa torácica e paravertebrais
- d. Determinação da relação proteína total/DNA nos músculos da caixa torácica e paravertebrais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados ratos *Wistar* com 42 dias de vida (período de pós desmame), experimentados por 12 semanas e distribuídos em 3 grupos experimentais, como pode ser observado na tabela 1. Durante todo período experimental, os animais foram alimentados com ração e água *ad libitum*, sendo submetidos a ciclo fotoperiódico de 12h claro/escuro. Os cuidados experimentais seguiram recomendações do *Guide for Care Use of Laboratory Animals National Research Council*, (1996) e o desenvolvimento desse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), sob protocolo n.º010/07

3.2. Grupos Experimentais

Tabela 1. Distribuição dos animais em grupos experimentais.

GRUPOS	LEGENDA	N
CONTROLE	C	6
ESCOLIÓTICO	E	6
ESCOLIÓTICO SUBMETIDO A ALONGAMENTO	EA	6

3.3 Confeção do dispositivo de Policloreto de Vinil

Foram confeccionados moldes em filme de PVC com 0,5 mm de espessura. O dispositivo conta com duas circunferências para passagem de membros (figura 1A; B; C), sendo que, para não machucar o animal, essas circunferências foram revestidas com adesivo à base de solvente de borracha e resina sintética (demarcador de solo). Tanto na parte anterior, quanto na

parte posterior do dispositivo, foi colocado um ânulo de arame, para que fosse possível fixar um fio metálico de 0,5 mm de espessura com 6 cm de comprimento, que tem como objetivo, aproximar as cinturas de forma unilateral, instalando assim a curvatura escoliótica como mostra a figura 1D.

Por fim, destaca-se que o dispositivo é colocado em sistema de cinta regulável (figura 1C), fato este que permite um ajuste individual.

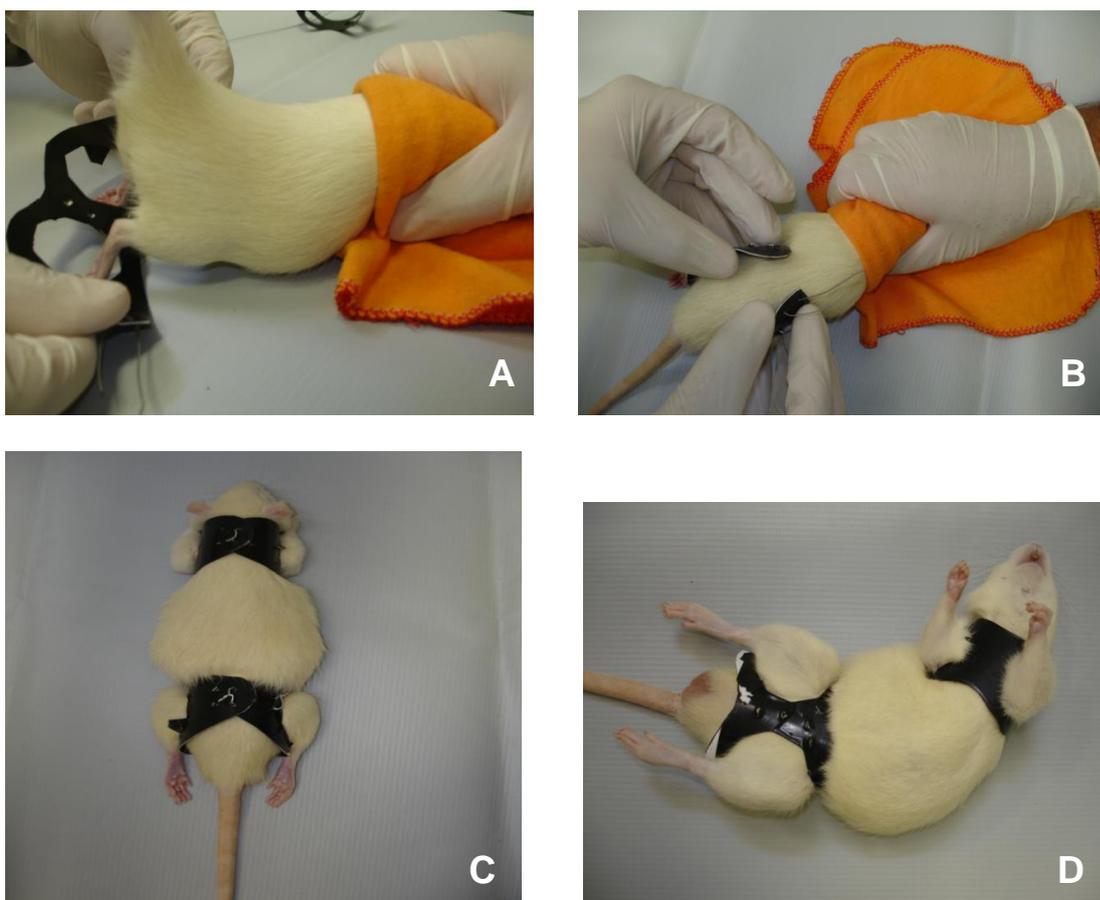


Figura 1. Fases da colocação do dispositivo ao corpo do animal (A; B; C) e animal com o dispositivo ajustado ao corpo (D).

3.4 Aplicação do Dispositivo

Os animais receberam o dispositivo de PVC na fase pós desmame (42 dias), de modo que a coluna fosse inclinada para a direita, fazendo-se assim uma escoliose sinistro convexa ou em “C” à direita. O dispositivo foi

trocado a cada 07 dias para até a 12^a semana de experimento, obedecendo o crescimento do animal.

3.5 Alongamento

No presente estudo, optou-se pela aplicação do alongamento estático por ser de realização passiva e de fácil aplicabilidade, visto este estudo ser pioneiro nesta área. O protocolo é descrito na tabela 2.

Tabela 2. Protocolo de alongamento utilizado no estudo.

RECURSO	SÉRIE	TEMPO	APLICAÇÃO SEMANAL	TOTAL EM 12 SEMANAS
Alongamento Estático	3	30 segundos de aplicação; 30 segundos de intervalo.	3 X	36 sessões de alongamento

A cada sessão de alongamento, o animal tinha o dispositivo removido para que o experimentador segurasse o animal pela cintura escapular e pélvica no sentido longitudinal, pressionando a convexidade toracolombar com os polegares, de modo que a coluna ficasse em uma angulação de aproximadamente 70° de inclinação e discreta flexão, contrária a inclinação induzida pelo dispositivo, conforme figura 2. Convém ressaltar que a mensuração da angulação do alongamento foi realizada com uso de goniômetro, sendo que o eixo foi posicionado sobre a vértebra vértice (junção das semi-retas) que teve a área de superfície tricotomizada. Imediatamente ao termino da sessão, o dispositivo de indução foi recolocado.

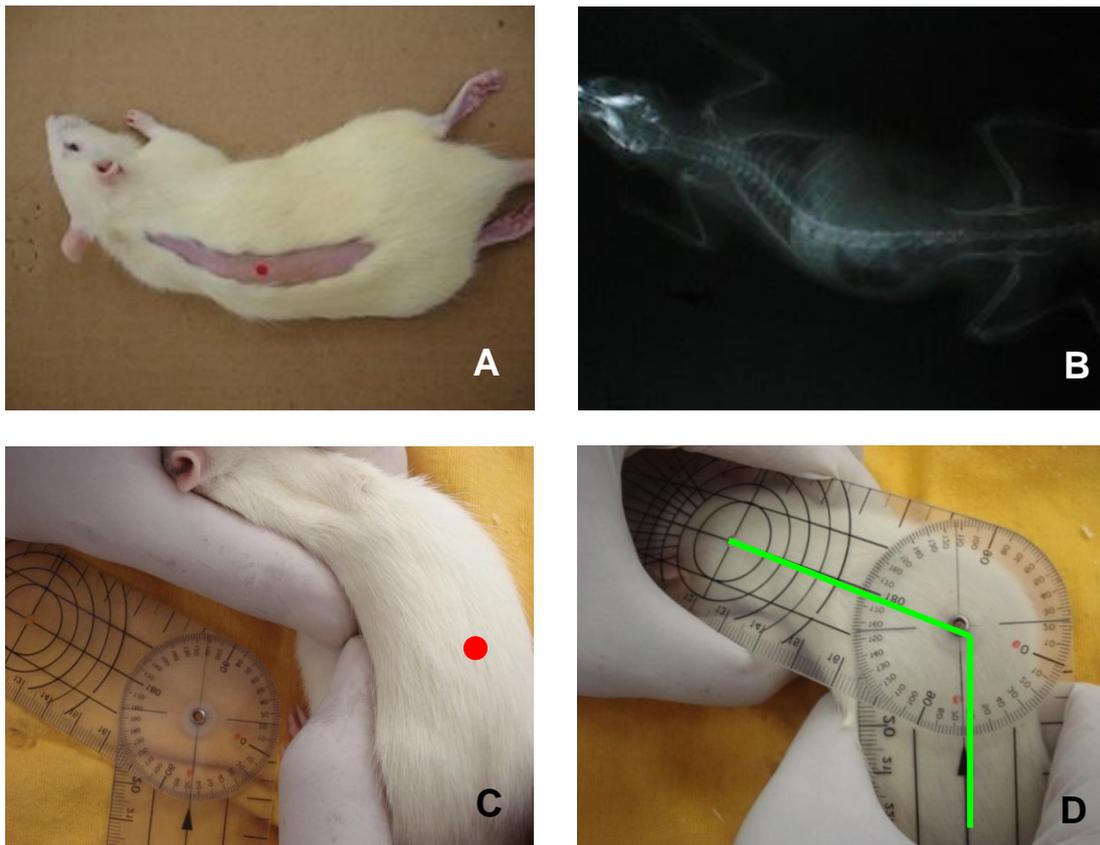


Figura 2. Procedimento realizado durante o processo de alongamento da musculatura do lado côncavo dos animais. Em A e B pode-se verificar a determinação da vértebra vértece “*in lócus*”. Em C e D mostra-se o método sendo aplicado em que a cintura inferior foi à base fixa e a cintura superior foi à parte móvel no intuito de alongar.

3.6 Mensuração da angulação escoliótica

Para obtenção dos dados referentes à angulação da curvatura foi utilizado o software ALCIMAGEM 2003.

3.7 Coleta dos músculos a serem analisados

Os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/Kg, i.p.) e fragmentos dos músculos peitoral, abdominal, intercostal e paravertebral

foram coletados de ambos os lados e prontamente encaminhados para avaliação bioquímica.

3.8 Determinação do glicogênio muscular

Os fragmentos dos músculos foram digeridos em KOH 30% a quente e o glicogênio precipitado a partir da passagem por etanol. Entre uma fase e outra da precipitação, a amostra foi centrifugada a 3000rpm durante 15 minutos e o glicogênio foi submetido à hidrólise ácida na presença de fenol, segundo a proposta de Siu et al. (1970). Os valores foram expressos em mg/100mg de peso úmido.

3.9 Determinação da concentração de proteínas totais

Utilizou-se kit de aplicação laboratorial LABTEST cujos valores foram expressos em mg/mL.

3.10 Determinação do conteúdo de DNA

Foi utilizado o método da difenilamina onde homogenato tecidual foi submetido à presença de uma solução de difenilamina e, posteriormente, a leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm segundo o método proposto por Giles e Myers (1965).

3.11 Análise da movimentação exploratória e ansiedade

Os animais foram expostos ao teste de campo aberto (*open field*) no início da noite, período de maior atividade da espécie, permanecendo no ambiente durante 3 minutos. O “open field” consiste em um quadrado com dimensão de

46x46x25 cm, divididos em 9 quadrados menores com dimensão de 225 cm² cada (figura 3). A observação foi direcionada à movimentação exploratória e adaptação do animal ao ambiente. Como parâmetro avaliativo foi utilizado a contagem de deslocamento à partir do posicionamento de três membros do rato em um quadrado, sendo que o número total de quadrados percorridos foi utilizado como índice de deambulação espontânea, conforme descrito por Royce (1977).

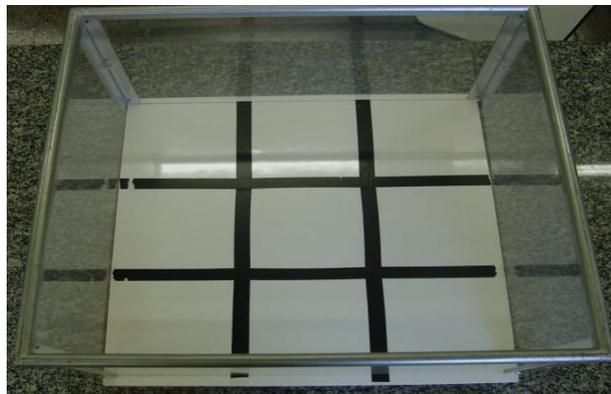


Figura 3. Imagem do *open Field*

Para avaliação do grau de ansiedade optou-se por utilizar o labirinto em cruz elevado. O teste foi realizado em um aparato que consiste de duas superfícies horizontais de acrílico, medindo 50x10 cm, justapostas pelas pontas, com bordas de acrílico de 1cm de altura (braços abertos), cruzados em ângulo reto com duas superfícies de igual tamanho, circundadas por paredes de 40 cm de altura (braços fechados) exceto na parte central onde os braços se cruzam, ressaltando que o aparato eleva-se a 50 cm do piso. Circundando os braços abertos há uma borda de acrílico de 1 cm de altura com a finalidade de evitar que os ratos caiam (vide figura 4).

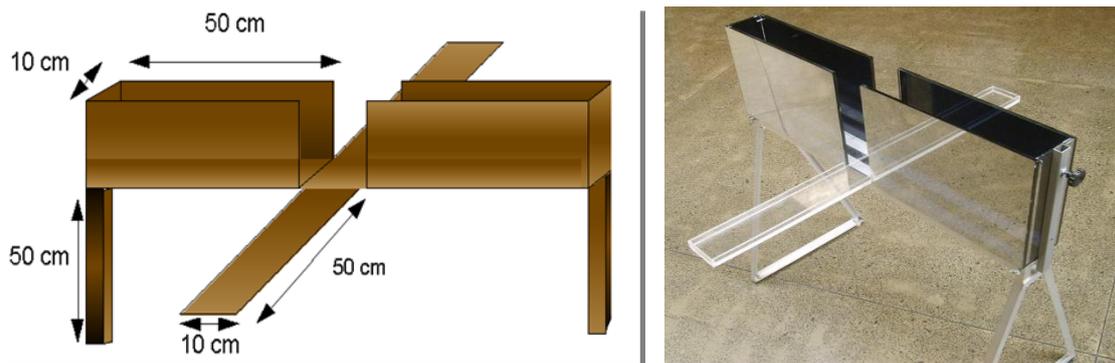


Figura 4. Labirinto em cruz elevado com suas dimensões.

No protocolo experimental, os animais foram colocados no centro do labirinto, de frente para um dos braços fechados e observados durante 5 minutos (Pellow et al., 1985; Marcondes et al., 2001). Foi registrado o tempo de exploração dos braços abertos e fechados e o número de entradas nos braços abertos e fechados. Uma entrada foi considerada quando o animal colocou as quatro patas em um braço aberto ou fechado (Pellow et al., 1985; Cruz et al., 1994).

Os resultados foram convertidos, posteriormente, em porcentagem de tempo de exploração dos braços abertos ($100 \times \text{tempo (s) nos braços abertos} / \text{tempo total de observação}$), porcentagem de entradas feitas nos braços abertos ($100 \times \text{n}^\circ. \text{ de entradas nos braços abertos} / \text{n}^\circ. \text{ total de entradas}$) e $\text{n}^\circ. \text{ de entradas feitas nos braços fechados}$. A porcentagem de tempo nos braços abertos é um índice de medo e ansiedade, enquanto o número de entradas nos braços fechados corresponde a um índice de atividade locomotora (Pellow et al., 1985; Cruz et al., 1994) Também a porcentagem de entradas nos braços abertos está relacionada tanto à atividade locomotora quanto à ansiedade (Cruz et al., 1994; Marcondes et al., 2001).

Os seguintes parâmetros propostos por Cruz et al. (1994) foram avaliados:

1) Número de vezes em que o animal chega ao final do braço aberto, o qual é inversamente proporcional ao seu nível de ansiedade e 2) Avaliação de risco - comportamento de conflito do animal medido pelo número de vezes que o animal se dirige ao centro do labirinto, mas não entra em outro braço. A avaliação de risco está diretamente relacionada com o nível de ansiedade.

3.12 Análise Estatística

Para a avaliação estatística dos dados foi utilizado inicialmente o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e posteriormente foram submetidos à ANOVA seguido de teste do pós-teste de Tukey, com nível de significância de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 Movimentação exploratória e ansiedade

Inicialmente realizou-se o teste de movimentação exploratória e os resultados demonstram que não houve diferença significativa entre os grupos analisados como mostra a figura 5.

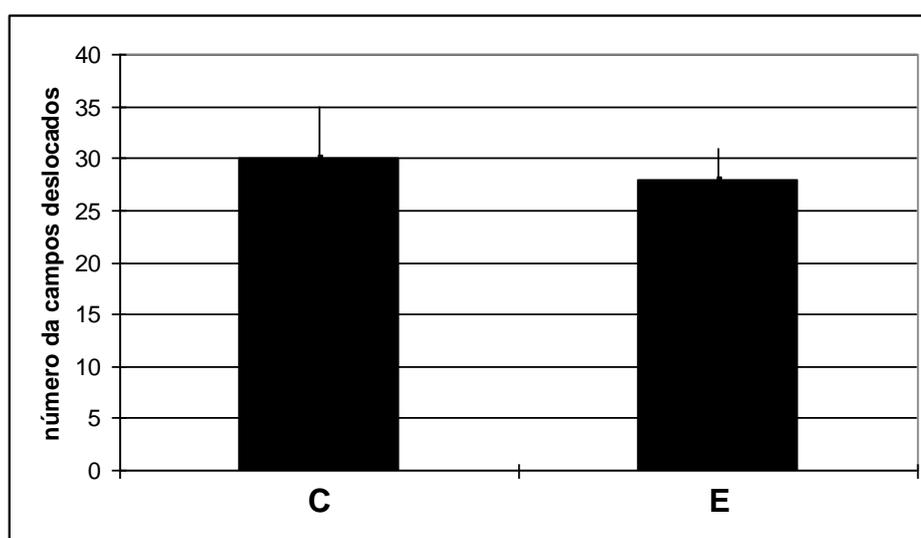


Figura 5 – Número de campos deslocados no teste de campo aberto dos grupos C e E. Os valores representam a média ± epm, n=6.

A seguir avaliou-se o comportamento dos animais no labirinto em cruz elevado e verificou-se que o grupo controle permaneceu 75,8% do tempo no braço fechado e 24,2% no braço aberto. A mesma análise realizada no grupo escoliótico mostra que eles permaneceram 67,2% do tempo no braço fechado e 32,8% no braço aberto. Com relação à avaliação de risco, os índices indicativos de entrada na interface entre os braços foram de $7,75 \pm 0,7$ vezes no

grupo controle e $6,86 \pm 1,3$ vezes no grupo escoliótico. A comparação estatística dos grupos experimentais não mostrou diferença significativa em nenhuma das variáveis analisadas como mostra a figura 6.

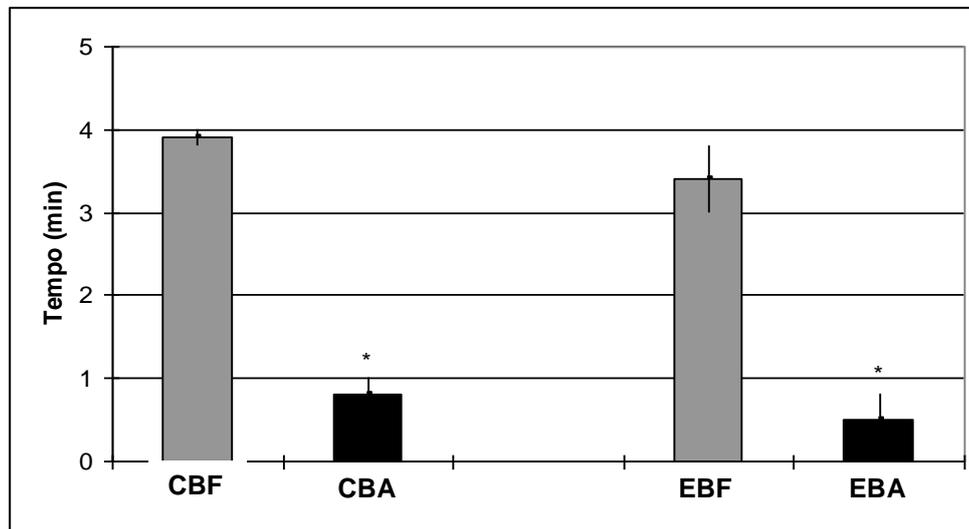


Figura 6 – Tempo (minutos) de permanência dos animais dos grupos controle (C) e escoliótico (E) nos braços fechado (BF) e aberto (BA). Os valores representam à média \pm epm, n=6.

4.2 Peso Corpóreo

Inicialmente, o estudo foi direcionado à avaliação da variação do peso corporal dos animais durante as 12 semanas de indução da escoliose. Observou-se que os ratos E que receberam o colete apresentaram pesos médios 29,4% menores se comparados ao grupo C, como pode ser observado na figura 7.

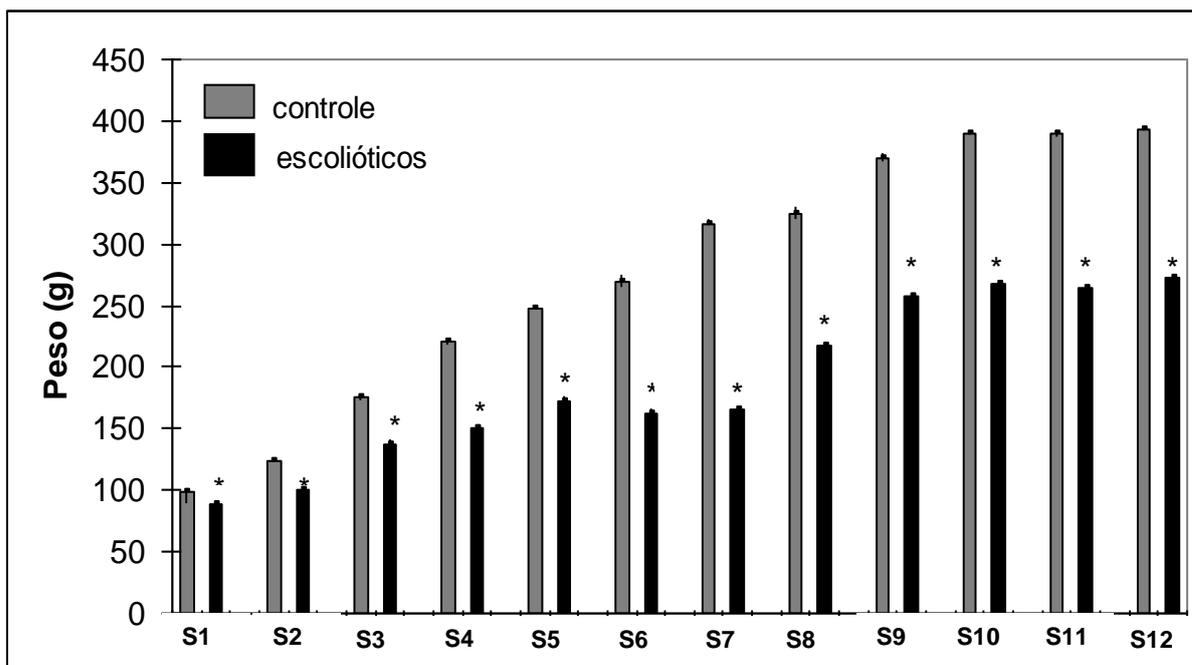


Figura 7. Peso (g) dos ratos controle (C) e escolióticos (E) durante o período da 1^o a 12^o semana. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.

A seguir, acompanhou-se a progressão do peso do colete, sendo observado um aumento progressivo deste acompanhando o crescimento dos animais, como pode ser visto na figura 8.

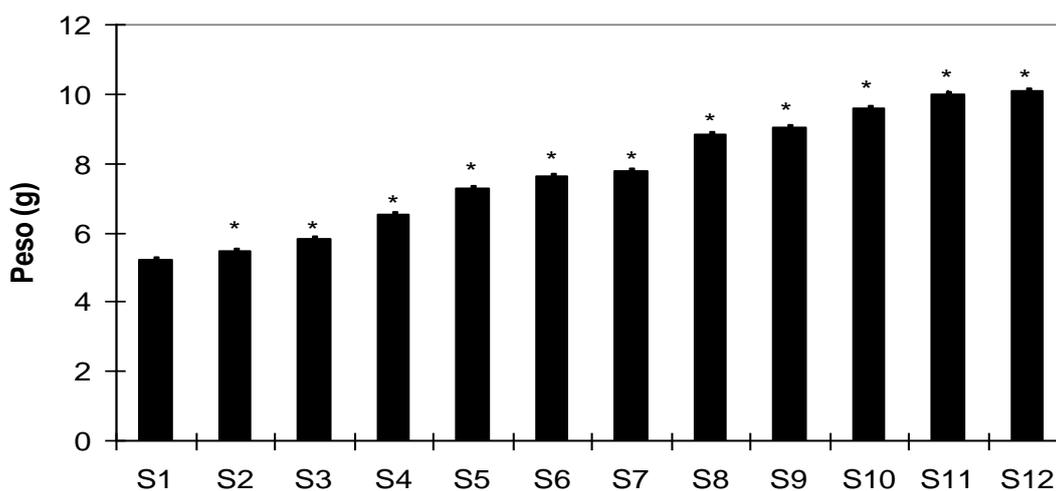


Figura 8. Peso (g) dos coletes de PVC durante o período da 1^o a 12^o semana (S). Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado à semana anterior.

Acompanhando a proposta experimental e no intuito de dirimir a dúvida de que o processo de indução da escoliose pode ter implicações interfaceadas com áreas do sistema nervoso central optou-se por avaliar a ingesta de água e de ração sendo constatado redução nos parâmetros de ingesta no grupo escoliótico como mostra a tabela 3.

Tabela 3. Valores médios de peso (g), glicemia (mg/dL), ingesta de água (mL) e consumo de ração (g) diária dos animais dos grupos C e E durante 5 dias de observação, n=6. *p<0,05 em relação ao controle.

	Controle	Escoliótico
Peso animal (g)	393,2 ±5,8	272,1 ±9,2*
Glicose (mg/dL)	86,4±4,6	96,4±5,5
Ingesta de água (mL)	25,74 ±4,1	18,52 ±1,6*
Ingesta de ração (g)	60,0 ±4,0	44,1 ±3,1*

4.3 Estudo Radiográfico

Dando seqüência a análise experimental, realizou-se um estudo do perfil radiográfico durante as 12 semanas da indução da escoliose, o qual esta abaixo sequencialmente apresentado.

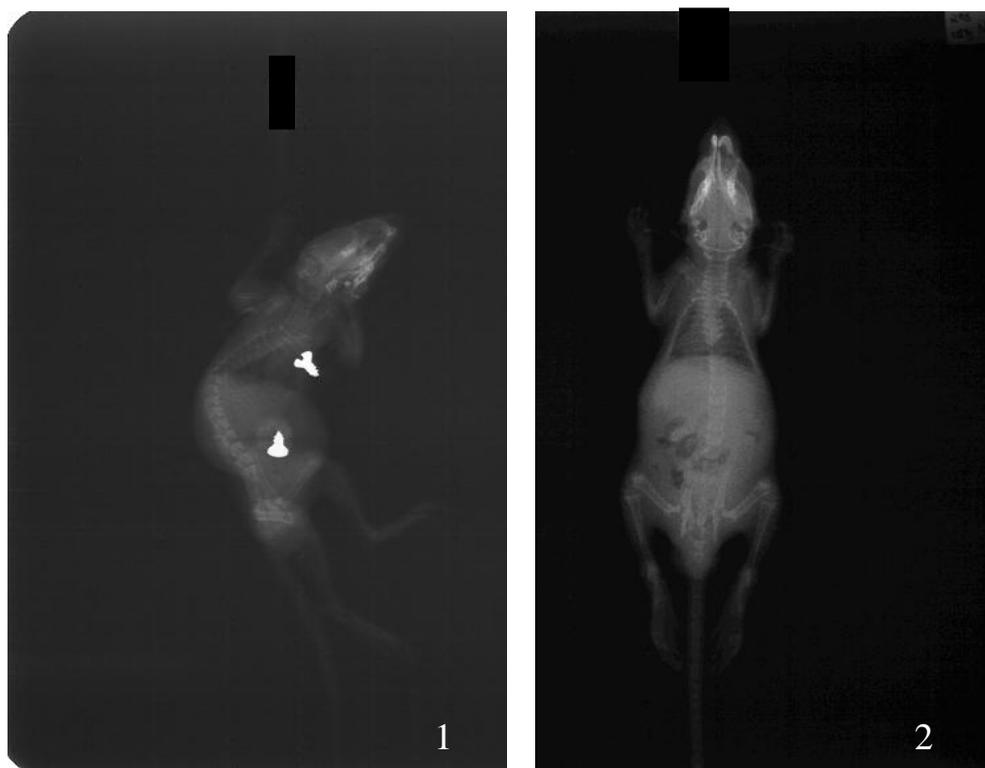


Figura 9. Animais no início do processo de indução da escoliose. Imobilizado 24h (1) e Controle (2).



Figura 10. Animal imobilizado na 2^o semana.

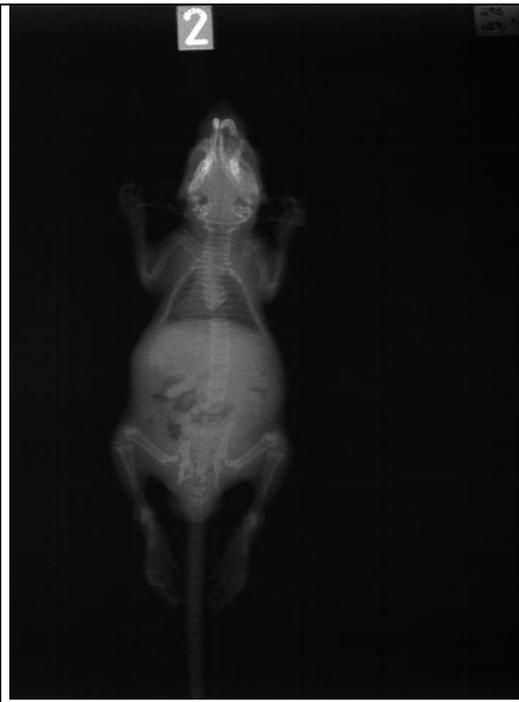


Figura 11. Animal controle na 2^o semana.



Figura 12. Animal imobilizado – 4^o semana.



Figura 13. Animal controle – 4^o semana.



Figura 14. Animal imobilizado – 6^o semana.



Figura 15. Animal controle – 6^o semana.



Figura 16. Animal imobilizado – 8^o semana (fio de aço para evidenciar localização da braçadeira)



Figura 17. Animal controle – 8^o semana.

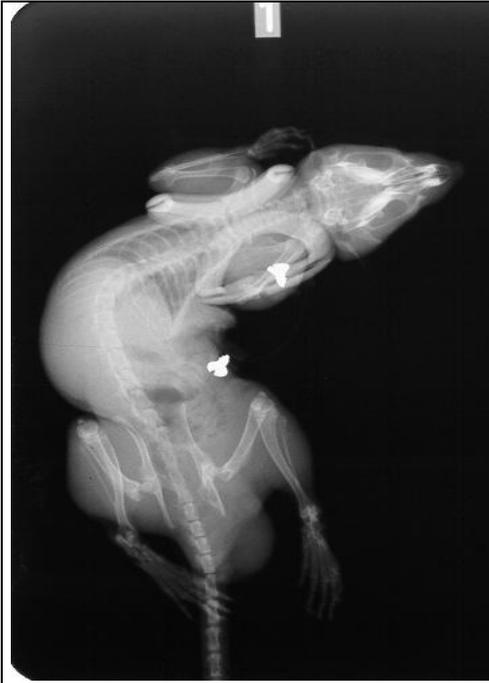


Figura 18. Animal imobilizado - 10^o semana.



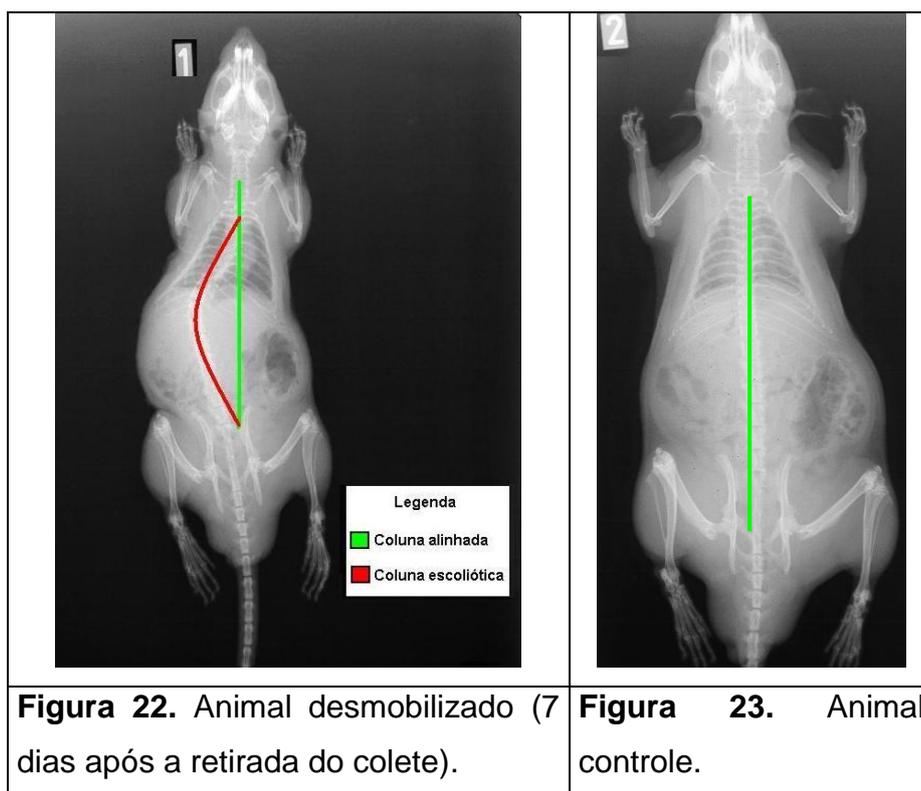
Figura 19. Animal controle – 10^o semana.



Figura 20. Animal imobilizado – 12^o semana.



Figura 21. Animal controle – 12^o semana.



As radiografias evidenciam a escoliose. No entanto, não há como mensurá-la de acordo com o Método Cobb devido às rotações da coluna lombar, bem como do desvio da cintura pélvica, o que forneceria ângulos não fidedígnos. Assim, optou-se por utilizar o programa AICIMAGEM para avaliação, sabendo-se que o método possui 2 etapas, sendo elas: primeira consiste em decidir-se quais são as vértebras terminais da curva. Essas vértebras terminais são os limites inferior e superior da curva que se inclina mais acentuadamente para a concavidade da curva; Segunda: Depois que essas vértebras são selecionadas, traça-se uma linha ao longo da placa terminal superior do corpo vertebral superior e ao longo da placa terminal inferior do corpo vertebral inferior. Logo, o ângulo mais importante é aquele entre essas duas linhas.

4.4 Estudo radiográfico dos animais submetidos ao alongamento

A análise radiográfica dos animais submetidos ao protocolo de alongamento foi realizada após 7 dias do término do processo de indução da escoliose acompanhada da terapia (12^o semana) e pode-se verificar que houve benefícios estruturais ligados à prática fisioterapêutica, uma vez que, ao final do estudo radiográfico o ângulo escoliótico foi de $23\pm 0,5$ graus, indicando redução de 34% se comparado aos animais que não receberam a terapia e exibiram um ângulo médio de 35 ± 5 graus, mensurados pelo *software* ALCIMAGEM (vide figura 24).



Figura 24. Radiografia de animais escolióticos submetidos a alongamento (EA) e escolióticos (E). Protocolo utilizado foi 3 séries, 30 segundos de aplicação e 30 segundos de intervalo, 3 x semanais durante 12 semanas.

4.5 Avaliação do conteúdo de Glicogênio Muscular

Iniciamos a avaliação das reservas glicogênicas musculares comparando o grupo controle com o escoliótico. Os dados mostram redução significativa nas reservas do grupo escoliótico atingindo valores 41% menores no músculo intercostal direito, 67% no intercostal esquerdo, 44% no peitoral direito, 60% no peitoral esquerdo se comparados ao controle, como mostra a figura 23. Com relação ao músculo abdominal observa-se que no lado côncavo houve redução de 41% e no lado convexo a redução foi maior atingindo 51%. Por outro lado, na musculatura paravertebral também foi verificado redução atingindo 60% e 64% respectivamente nos lados direito e esquerdo. Estes dados demonstram uma diferença funcional entre a manutenção das condições energéticas entre a interface côncava e convexa, como mostra a figura 25 A e B.

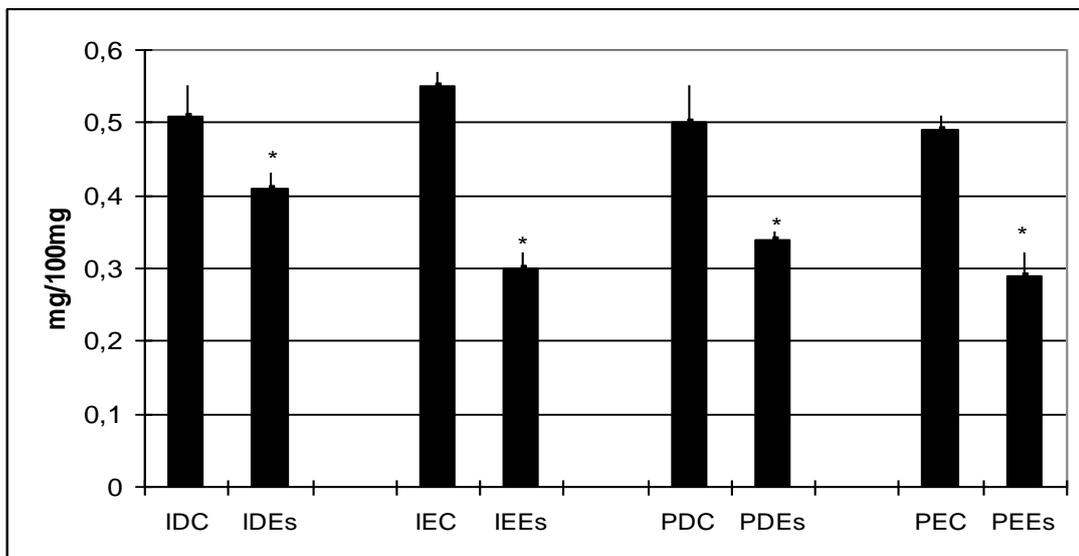


Figura 25 A. A concentração de glicogênio (mg/100mg) do músculo intercostal (I) e Peitoral (P) direito (D) e esquerdo (E) de ratos controle (C) e escolióticos (E). Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. * $p < 0,05$ comparado ao controle.

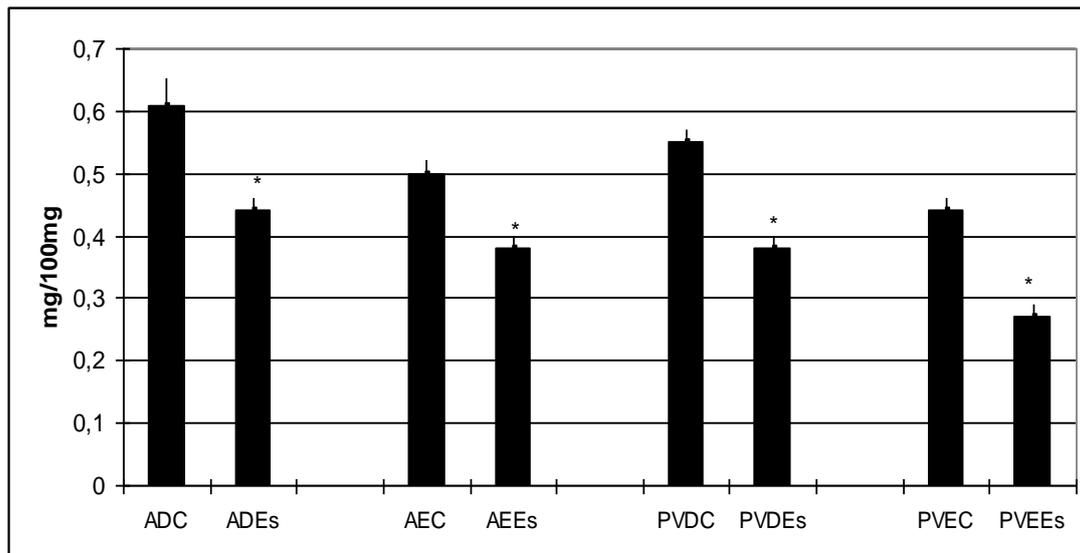


Figura 25 B. Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) do músculo abdominal (A), direito (D) e esquerdo (E) e paravertebral (PV) dos ratos controle (C) e escolióticos (Es) após 12 semanas do processo de indução da escoliose. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.

A seguir comparamos os músculos do lado côncavo ao convexo nos animais escolióticos foi verificado que na região côncava as reservas glicogênicas apresentaram-se expressivamente maiores se comparado ao lado convexo. Assim, as amostras musculares do lado direito foram 17% maiores no peitoral, 30% no intercostal, 16% no abdominal, 40% no paravertebral como mostra a figura 26.

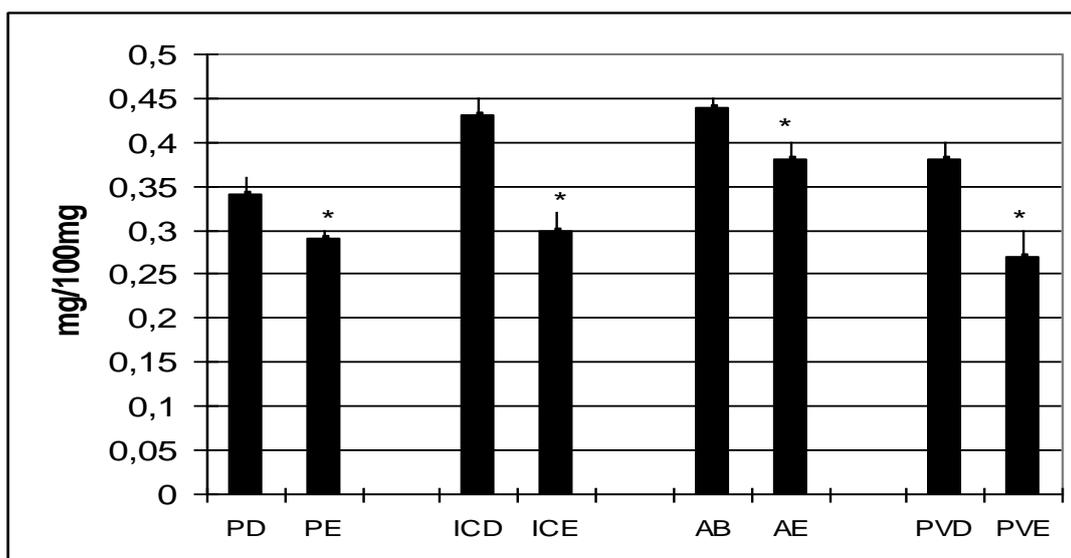


Figura 26. Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) do músculo peitoral (P), intercostal (IC), abdominal (A) e paravertebral (PV), direito (D) e esquerdo (E) dos ratos escolióticos após 12 semanas do processo de indução. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao outro lado.

A seguir, o mesmo perfil de análise foi aplicado ao grupo escoliótico submetido ao alongamento e ao compararmos os músculos do lado côncavo ao convexo foi verificado que no lado côncavo as reservas foram 23% maiores no peitoral, 24,5% no intercostal, 12,7% no abdominal e 22,6% no paravertebral (vide figura 27).

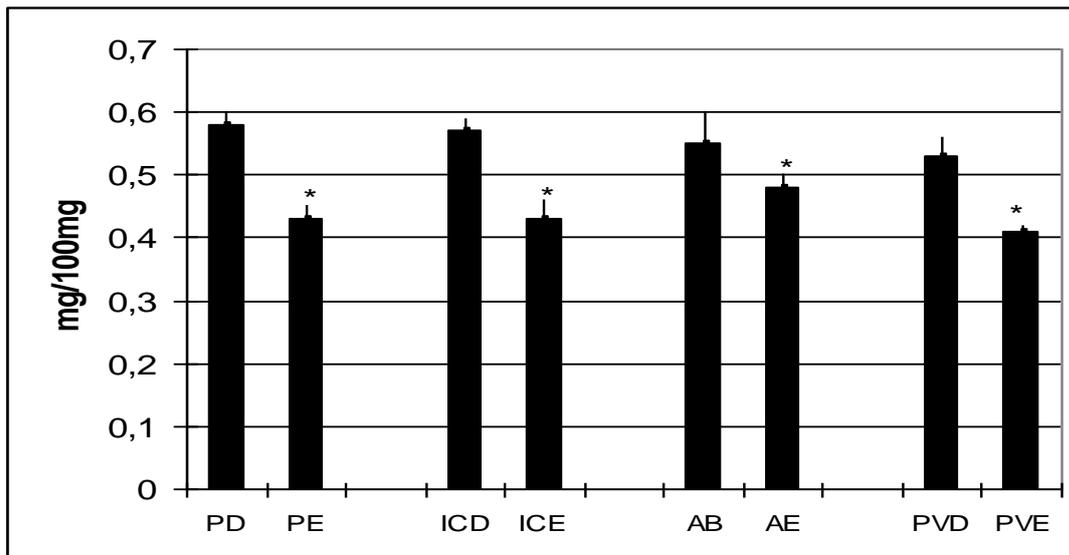


Figura 27. Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) do músculo peitoral (P), intercostal (IC), abdominal (A) e paravertebral (PV), direito (D) e esquerdo (E) do grupo escoliótico alongado após 12 semanas do processo de indução da escoliose. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao lado convexo.

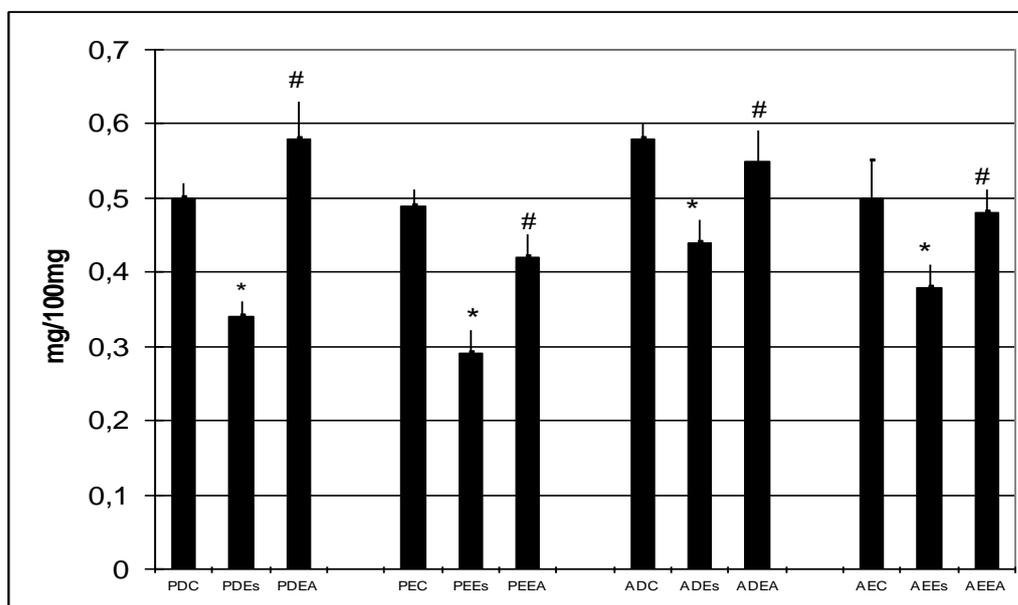


Figura 28. Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) dos músculos peitoral (P) e abdominal (A), direito (D) e esquerdo (E) dos grupos controle (C), escolióticos (Es) e escoliótico alongado (EA) após 12 semanas do processo de indução da escoliose. Os valores correspondem à

média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle e #p<0,05 comparado ao escoliótico.

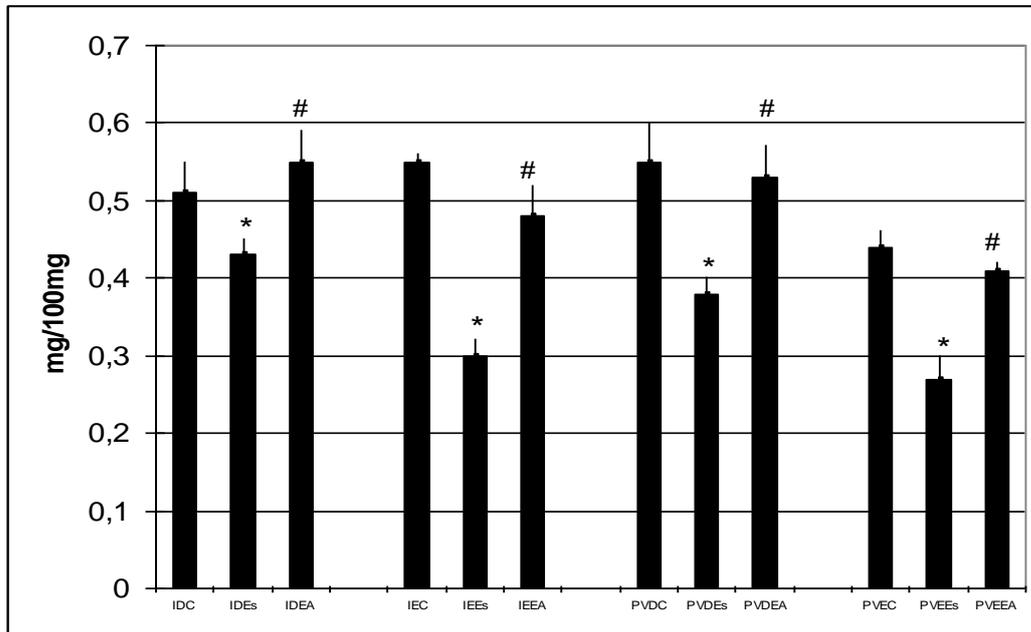


Figura 29. Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) dos músculos intercostal (IC) e paravertebral (PV), direito (D) e esquerdo (E) dos grupos controle (C), escolióticos (Es) e escoliótico alongado (EA) após 12 semanas do processo de indução da escoliose. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle e #p<0,05 comparado ao escoliótico.

4.6 Avaliação da relação Proteína Total/DNA

Em seguida avaliou-se a relação PT/DNA, o qual representa o índice indicativo do tamanho celular. O estudo foi iniciado na comparação dos animais C com os animais E e revelou uma expressiva redução no índice, atingindo 11% no músculo abdominal direito, 9% no abdominal esquerdo, 14% no intercostal direito, 18% no intercostal esquerdo, 7% no peitoral direito, 9% no peitoral esquerdo, 9% no paravertebral direito e 20% no músculo paravertebral esquerdo, como pode ser observado na tabela 4.

A seguir, comparou-se o grupo EA com o grupo E sendo observado índices significativamente maiores representados por valores 5% maiores nos músculos abdominal direito, 8% no abdominal esquerdo, 8% no intercostal direito, 15% no intercostal esquerdo, 5% no peitoral direito, 7% no peitoral esquerdo, 5% no paravertebral direito e 16% no músculo paravertebral esquerdo como mostra a tabela 4.

Cabe ressaltar que, após o alongamento, os músculos ainda permaneceram diferentes do grupo C apresentando valores de Proteína Total/DNA menores representados por 7% no músculo abdominal direito, 3% no abdominal esquerdo, 7% no intercostal direito, 6% no intercostal esquerdo, 3% no peitoral direito, 3% no peitoral esquerdo, 10% no paravertebral direito e 8% no músculo paravertebral esquerdo, como mostra a tabela 4.

Tabela 4. Relação proteína total/DNA obtida em diferentes músculos de ratos do grupo controle, escoliótico e escoliótico alongados. Os valores correspondem à média± epm, n=6. *p<0,05 em relação ao controle, #p<0,05 comparado ao alongado.

Grupos experimentais	Controle	Escoliótico	Escoliótico alongado
Abdominal Direito	3,49±0,02	3,10±0,06*	3,22±0,01*,#
Abdominal esquerdo	3,34±0,04	3,06±0,03*	3,30±0,02*,#
Intercostal direito	3,55±0,02	3,04±0,03*	3,28±0,01*,#
Intercostal esquerdo	3,40±0,03	2,77±0,02*	3,20±0,02*,#
Peitoral direito	3,28±0,03	3,06±0,03*	3,19±0,01*,#
Peitoral esquerdo	3,19±0,02	2,90±0,03*	3,10±0,01*,#
Paravertebral direito	3,41±0,03	3,22±0,03*	3,07±0,02*,#
Paravertebral esquerdo	3,29±0,01	2,62±0,03*	3,03±0,03*,#

5 DISCUSSÃO

As teorias sobre o comportamento animal se pautam na hipótese que as características biológicas/neurais são adquiridas como resultado de uma pressão seletiva exercida pela evolução biológica (Zangrossi et al., 1992).

Embora a expressão emocional varie de uma espécie para outra, comportamentos emocionais, como evitação do perigo ou aproximação de fontes de alimento, permanecem a mesma e constituem a base para a classificação das emoções ao longo da evolução biológica (Claustrat et al, 2008).

Quando um animal é exposto a um ambiente desconhecido, o comportamento expresso é gerado pela ativação do sistema septo-hipocampal que compara os dados sensoriais atuais que o hipocampo recebe do córtex entorrinal, com as previsões geradas no circuito de Papez (Papez, 1937), no qual um conjunto interligado de estruturas cerebrais desempenha um papel importante na elaboração das emoções.

No estudo realizado por Papez em 1937 foi sugerido que as informações sensoriais que chegam ao tálamo seguem rotas distintas, ou seja, destinam-se ao córtex cerebral, sendo responsável pelo componente cognitivo das emoções ou dirigem-se aos núcleos da base, embasando seu componente motor ou comportamental, ou ainda, são direcionadas ao corpo mamilar do hipotálamo, elaborando as manifestações neurovegetativas e endócrinas das emoções (Kapczinski, 2004).

Nesta avaliação experimental, considerou-se a porcentagem de tempo em que os animais permanecem nos braços abertos como índice de medo,

ansiedade e atividade locomotora, enquanto que o número de entradas nos braços fechados, corresponde ao índice de atividade locomotora (Cruz et al., 1994; Marcondes et al., 2001). De acordo com a proposta de Cruz et al. (1994), o tempo que o animal fica no braço fechado e o número de vezes em que o animal chega ao final do braço aberto é inversamente proporcional ao seu nível de ansiedade. Por outro lado, a avaliação de risco que é um comportamento de conflito do animal medido pelo número de vezes que o animal se dirige ao centro do labirinto, mas não entra em outro braço, está diretamente relacionada com o nível de ansiedade.

Com base nestes parâmetros foi observado que os grupos não diferiram e isso nos leva a considerar que os eventos que acompanham o processo de indução de escoliose com o colete de PVC não geram mudanças comportamentais significativas com visibilidade no teste do labirinto em cruz elevado.

O teste de campo aberto é um teste empregado na avaliação do comportamento exploratório de ratos, sendo validado desde a década de 70, enquanto teste de ansiedade e medida de atividade motora, pelo erguer-se, limpar-se e por respostas autonômicas, como defecação e micção (File e Wardill, 1975; Rex et al., 1996; Rebouças & Schmitt, 1997; Schmitt & Hiemke, 1998; Simon et al., 1994). De acordo com os parâmetros acima expostos, os grupos C e E também não diferiram quando expostos ao teste de campo aberto, demonstrando que o colete de policloreto de vinil não é uma condição que restringe o comportamento exploratório.

Um importante sistema cerebral está representado pela interação entre o hipotálamo medial, matéria cinzenta periaquedutal dorsal e pela amígdala.

Nele, processam-se os mecanismos associados à resposta incondicionada com especial referência a detecção de sinais de perigo e grau de ameaça para o organismo, ações ligadas ao controle da pressão arterial, da frequência cardíaca, piloereção, micção e defecação ou alteração no comportamento de ingesta, conjunto de respostas que acompanham os eventos característicos de medo e ansiedade (Brandão, 1995; Paulli et al., 2006).

Nesse contexto, foi observado que os índices de ingesta (ração e água), que refletem diretamente modificações na atividade de núcleos hipotalâmicos, mostraram-se alterados no grupo E. Assim, as respostas referentes ao deslocamento e as análises comportamentais não mostraram diferenças entre os grupos, indicando que a diminuição da ingesta pode estar relacionada à maior dificuldade de se conseguir o alimento em decorrência da restrição mecânica que a órtese impõe aos animais ou ainda pode refletir dor. Porém, para aprimoramento desta análise, outros estudos devem ser realizados.

De acordo com Arruda, Silva e Guirro (2008), há muito, a escoliose tem sido campo de estudo por diferentes cientistas em diferentes aspectos e em diferentes modelos experimentais, sendo que todas as metodologias existentes para tal finalidade trazem no seu bojo aspectos invasivos de difícil realização, o que dificulta ou mesmo inviabiliza uma avaliação quimio-metabólica.

Um ponto a se considerar é que os animais que utilizaram o dispositivo indutor de escoliose (Grupo E) apresentaram peso menor do que o grupo C, sendo pouco provável que o peso do dispositivo indutor possa ter influenciado diretamente esse resultado, uma vez que o dispositivo represente $4,3 \pm 0,2\%$ do peso do animal, isso levando em conta que esse parâmetro não foi significativo estatisticamente (Arruda, Silva e Guirro, 2008).

Possivelmente, os mecanismos associados ao processo de indução de escoliose, têm relação com a limitação funcional exercida pelo dispositivo indutor, de forma que, possam ocorrer alterações com reflexo nas respostas do sistema nervoso central, em especial no hipotálamo e, possivelmente, ligadas à área da fome e da ingestão, estando assim em concordância com Silva et al. (2008).

Em relação à biomecânica apresentada pelo modelo ressalta-se que os benefícios do alongamento possam refletir ajustes nas estruturas musculares, tendíneas, ligamentares e articulares, além de oferecerem estabilidade dinâmica à coluna vertebral, e são totalmente suscetíveis à melhora da flexibilidade que é o principal efeito do alongamento, visto que assim seja favorecida a capacidade de adquirir fibras musculares com melhor dinâmica contrátil no que diz respeito ao complexo actomiosina, possivelmente beneficiado pelo aumento dos sarcomeros em série (Alter, 1999; Branco et al, 2006).

Recentemente Grassi e Silva (2008), avaliaram a concentração de proteína total em músculos de ratos escolióticos verificando valores menores se comparado a animais não escolióticos. A este respeito merece destacar o fato que as medidas de proteína e DNA têm sido muito utilizadas em diferentes estudos para indicar tamanho e número de células num tecido. Assim a concentração de DNA indica número de células, enquanto que razões proteína/DNA ou peso/DNA são índices de tamanho celular (Albanes et al., 1990, Winick, et al., 1996). Nosso estudo corrobora com o estudo acima reiterando que no grupo EA, houve menor comprometimento indicando que o procedimento promoveu modificações na relação síntese/degradação protéica,

sugerindo a existência de fatores, ou seja, redução no processo de síntese ou predomínio de fatores indutores de proteólise. Convém ressaltar esta informação, uma vez que, no presente estudo, a angulação da curvatura foi de 35° e no estudo realizado por Grassi e Silva (2008), a angulação da curvatura foi de 25°.

Em relação ao recurso utilizado no presente estudo, sabe-se que a promoção de maiores níveis de flexibilidade ocorre pelo emprego sistematizado de estímulos provenientes de técnicas de alongamento, que quando aplicadas solicitam aumento da extensibilidade muscular por meio do aumento de sarcomeros em série, bem como de outras estruturas, mantidas por um determinado tempo, que em sua somatória podem induzir a um perfil químico-metabólico diferenciado do músculo exposto a esse estímulo, que por sua vez fica susceptível ao mecanismo de microlesão, estimulando assim a neovascularização e conseqüente melhora da nutrição tecidual (Whatman, Knappstein e Hume, 2006).

Em outro estudo, Grady e Saxena (1991), também foi demonstrado que 30 segundos de alongamento, realizado uma vez ao dia, em humanos, foi suficiente para aumentar e manter a ADM, porém os objetivos e os grupos musculares alongados devem ser levados em conta.

O consenso no que diz respeito ao alongamento se dá pelo estudo realizado por Bandy e Iron (1994) ao testarem o efeito de sessões de alongamentos mantidos por 15, 30 e 60 segundos, realizadas uma vez por dia em humanos. Esse estudo concluiu que 30 segundos de alongamento realizado apenas uma vez ao dia foi suficiente para aumentar a amplitude de movimento (ADM) nos músculos isquiotibiais de adultos jovens. Convém

ressaltar que não se observou diferença significativa quando o protocolo foi realizado duas vezes ao dia.

Na prática clínica, tem sido proposto que, para que ocorram aumentos significativos de ADM, o alongamento deve ser realizado cinco vezes por semana. No entanto, Frontera, Dawson e Slovik (1999) atestaram que, duas a três sessões semanais são suficientes para gerar ganhos de ADM e ainda após o ganho, uma sessão de alongamento semanal é eficiente para sua manutenção.

No que tange ao conteúdo muscular de glicogênio, sabe-se que este é um substrato energético que está diretamente ligado ao desempenho físico, ou seja, quando os estoques musculares se encontram em baixa, conseqüentemente o rendimento estará comprometido, sendo favorável ao estado de catabolismo. Por outro lado, quando as reservas musculares se encontram em alta, o desempenho será favorecido significativamente, sendo favorável ao anabolismo (Coderre et al., 2007).

No presente estudo observou-se que as reservas glicogênicas dos músculos respiratórios e paravertebrais, apresentaram redução tanto no grupo E, quanto no EA, evidenciando assim um comprometimento do perfil energético. Porém, no grupo submetido ao alongamento (EA) essa redução foi menos severa. Desta forma, é interessante ressaltar que o estímulo possa ter propiciado a aquisição de melhores condições metabólicas, uma vez que, o alongamento amplia os limites de amplitude das articulações, promove reorganização do tecido de sustentação dos ossos e cartilagens, principalmente de suas proteínas (colágeno e elastina), que são constantemente recicladas (Beedle e Mann, 2007).

Na literatura tem sido classicamente relatado que os músculos paravertebrais apresentam predomínio de fibras tipo I (vermelhas), as quais são predominantemente oxidativas (Lancha, 2002). Destaca-se que as baixas reservas de glicogênio marcam comprometimento no equilíbrio quimio-metabólico das fibras e pode estar ligado a diversos fatores que interferem na homeostasia dos processos que regulam a formação das reservas de substratos metabolizáveis.

Arruda, Silva e Guirro (2008) ressaltaram que o modelo experimental proposto para indução de escoliose, não está isento da hipótese de que a contenção gerada pelo dispositivo seja um processo gerador de desuso muscular.

O desuso é alvo de estudos realizados em diversas condições como períodos longos no leito, fixações de membros ou microgravidade ou frente à utilização de órteses, fatores que desencadeiam um estado catabólico nos músculos esqueléticos (Silva et al., 2006). Assim, as alterações metabólicas observadas nos músculos respiratórios e paravertebrais podem estar representadas pela ação de sistemas catabólicos que acompanham o processo do desuso.

Com vistas ao perfil endócrino, sabe-se que dentre os hormônios que participam da regulação e modulação do metabolismo de carboidratos da musculatura esquelética, a insulina é extremamente importante (Lancha, 2002).

Diversos autores estudaram os mecanismos desencadeados no músculo em desuso e verificaram redução na transdução do sinal insulínico, sugerindo déficit na ativação do receptor de insulina e nas enzimas ativadas a

partir deste, incluindo a fosforilação do IRS-1 (substrato 1 do receptor de insulina) e a ativação da PI3-K, diminuição na população dos transportadores de glicose (GLUT4) e quadro de resistência à insulina (Silva et al., 2009). Nesse sentido, os resultados contidos no presente estudo mostram uma expressiva redução nas reservas glicogênicas nos músculos respiratórios e paravertebrais dos animais que receberam o dispositivo mimetizando a condição de desuso gerado por outros métodos de imobilização.

Um recente estudo realizado por Arruda, Silva e Guirro (2008), subsidia a afirmação supracitada, uma vez que, atestaram um comprometimento na homeostasia metabólica avaliando o índice HOMA-IR, onde foi verificado que no grupo E, o índice estava reduzido indicando comprometimento na sensibilidade insulínica. Os mesmos autores sugeriram que o processo de indução de escoliose pode ser acompanhado de resistência insulínica, porém merece maiores estudos para melhor visibilidade desta proposta.

Cabe ressaltar que as relações fisiológicas e moleculares entre os fenômenos ligados à sensibilidade insulínica e o processo de indução de escoliose ainda merecem maiores estudos. No entanto, este é um estudo pioneiro em demonstrar as alterações quimio-metabólicas no modelo de indução de escoliose, frente à aplicação de um recurso cinesioterapêutico. As alterações aqui relatadas participam dos mecanismos de ajustes possivelmente induzidos pelo dispositivo e assim refletem uma interface anatomo-funcional que merece maior atenção e estudo.

6 CONCLUSÃO

Com vistas nas análises das radiografias, das reservas glicogênicas e da concentração de proteínas totais, sugere-se que alterações biomecânicas e modificações na homeostasia da musculatura analisada, acompanham o processo indutor da escoliose. No entanto, o protocolo de alongamento empregado nesse estudo surtiu efeito positivo ao passo que foi eficaz em promover melhora da biomecânica da coluna, bem como na ativação de vias ligadas à homeostasia, minimizando assim as alterações induzidas pela escoliose, uma vez que, a condição quimio-metabólica apresentada pelos animais que receberam alongamento foi a mais próxima da ideal.

Contudo, o alongamento é um recurso simples que merece maior atenção na prática clínica, sendo necessária a realização de maiores estudos clínicos com variação no tempo de aplicação do método para dar subsídios a uma aplicação terapêutica eficaz que visa à contenção e/ou regressão da curvatura escoliótica.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS*¹

Albanes SD, Salbe AD, Lavander DA, Tayllor PR, Nixon DW, Winick M. The effect of early caloric restriction on colonic cellular growth in rats. *Nutrition and Cancer*, Philadelphia. 1990; 13(1/2): 73-80.

Alter MJ. *Ciência da Flexibilidade*. 2ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul; 1999.

Arruda EJ. Perfil quimiometabólico de músculos esqueléticos de ratos submetidos a diferentes modelos de imobilização articular. In: 6º Mostra Acadêmica da UNIMEP - XVI Congresso de Iniciação Científica, 2008, Piracicaba. *Anais da 6º Mostra Acadêmica da UNIMEP*, 2008.

Arruda EJ, Silva CA, Guirro RRJ. Avaliação das reservas glicogênicas dos músculos peitorais e paravertebrais após indução de escoliose em ratos. In: 6º Mostra Acadêmica da UNIMEP - XVI Congresso de Iniciação Científica, 2008, Piracicaba. *Anais da 6º Mostra Acadêmica da UNIMEP*, 2008.

Bandy WD, Iron JM. The effect of time on static stretch on the flexibility of hamstring muscles. *Phys Ther*. 1994; 74(9): 845-852.

Beedle BB, Mann CL. No difference in pre- and postexercise stretching on flexibility. *J Strength Cond Res*. 2007; 3: 21-780.

¹ *. Baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors - Grupo de Vancouver; 2005. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Branco VR et al . Relação entre a tensão aplicada e a sensação de desconforto nos músculos isquiotibiais durante o alongamento. Rev. Bras. Fisioter. 2006; 10(4).

Brandão ML. Psicofisiologia. 1º ed. Rio de Janeiro, Ed. Atheneu,. 1995.

Carvalho CMM, Shimano AC, Volpon JB. Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético. Rev Bras Eng Bio. 2002; 18: 65-73.

Claustrat B, Valatx JL, Harthé C, Brun J. Effect of Constant Light on Corticosterone Rhythms Evaluated Using a Noninvasive Urine Sampling Protocol in the Rat. Horm Metab Res. 2008; 125:121-125.

Coderre L. et al. Regulation of glycogen concentration and glycogen synthase activity in skeletal muscle of insulin-resistant rats. Arch Biochem Biophys. 2007; 277(2): 1514-1523.

Cruz APM, Frei F, Graeff FG. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 1994; 49: 171-176.

File SE, Wardill AG. Validity of head-dipping as a measure of exploration in a modified hole-board. Psychopharmacologia. 1975; 44(1): 53-59.

Frontera WR, Dawson DM, Slovik DM. Exercise in rehabilitation medicine. USA: Human Kinetics. 1999.

Giles KW & Myers A. An improved diphenylamine method for the stimulation of deoxyribonucleic acid. *Nature*, 1965; 206: 93-99.

Goto M. et al. Buckling and bone modeling as factors in the development of idiopathic Scoliosis. *Spine*. 2003; 28(4): 364-70.

Grady JF, Saxena A. Effects of stretching the gastrocnemius muscle. *J Foot Ankle Surg*. 1991; 30(5): 465-469.

Grassi DO, Silva CA. Avaliação das Reservas Glicogênicas dos Músculos Respiratórios Durante o Desenvolvimento da Escoliose Através de Colete de PVC: Estudo em Ratos.. In: 6º Mostra Acadêmica da UNIMEP - XVI Congresso de Iniciação Científica, 2008, Piracicaba. Anais da 6º Mostra Acadêmica da UNIMEP, 2008.

Guide to the Care and Use of Experimental Animals, vol. 1, 2 ED Olfert, BM Cross, AA McWilliam - Canadian Council on Animal Care, Ottawa,1993.

Herzog W, Schachar R, Leonard TR. Characterization of the passive component of force enhancement following active stretching of skeletal muscle. *J Exp Biol*. 2003; 206: 3635-43.

Joe T. Studies of experimental scoliosis produced by electric stimulation. *Nippon Zasshi*. 1990; 57(5): 416-426.

Junko O. et al. Bipedal ambulation induces experimental scoliosis in C57BL/6J mice with reduced plasma and pineal melatonin levels J. Pineal Res. 2006; 40: 219-224.

Kapczinski F, Quevedo J, Izquierdo IL. Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos. 2º ed. Porto Alegre: Artmed; 2004.

Kasuga K. Experimental scoliosis in the rat spine induced by binding the spinous processes. Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi. 1994; 68(9): 789-807.

Kisner C, Colby LA. Exercícios terapêuticos: fundamentos e técnicas. 4ª ed. São Paulo: Manole, 2005.

Lancha, J. Nutrição e metabolismo aplicados à atividade motora. 2º ed Atheneu, , 2002.

Marcondes FK, Miguel KJ, Melo LL, Spadari-Bratfish RC. Estrous cycle influences the response of female rats in elevated plus-maze. Physiol Behav. 2001; 74(4-5): 435-440.

Marques AP. Cadeias Musculares. São Paulo: Manole, 2000.

Marques AP. et al. Scoliosis treated with Global Postural Reeducation. Rev. Fisioter. Univ. São Paulo. 1996; 3(12): 65-68.

Machida M. et al. Pathological mechanism of idiopathic scoliosis: experimental scoliosis in pinealectomized rats. Eur Spine J. 2005; 14(9): 843-848.

Nogami H, Terashima Y, Tamaki K. Congenital kyphoscoliosis and spinal cord lesion produced in the rat by beta-aminopropionitrile. *Teratology*. 1977; 16(3): 351-377.

Ortiz J. Semiologia da coluna vertebral. *Revista Brasileira de Ortopedia*. 1992; 27: 93-100.

Papez JW. A proposed mechanism of emotion. *Arch Neurol of Psychiatry*. 1937; 38: 725-743.

Pauli JR, Gomes RJ, Luciano E. Eje hipotálamo-pituitário: efectos del entrenamiento físico em ratas wistar com adminitración de dexametasona. *Rev Neurol* 2006; 42: 325-331.

Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rats. *J Neurosci. Meth*. 1985; 14: 49-67.

Penha PJ. et al. Avaliação postural em meninas de 7 a 10 anos. *Clinics*. 2005; 60(1): 9-16.

Rebouças RC, Schmidek WR. Handling and isolation in three strains of rats affect open field, exploration, hoarding and predation. *Physiol Behav*. 1997; 62 (5): 1159-1164.

Rex A, Sondern U, Voigt JP, Franck S, Find HS. Strain differences in fear-motivated behavior of rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1996; 54(1): 107-111.

Roberts JM, Wilson K. Effect of stretching duration on a active and passive range of motion in the lower extremity. *Br J Sports Med.* 1999; 33: 259-263.

Roso V. et al. Tratamento cirúrgico da escoliose na amiotrófica espinhal progressiva. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003; 61(3-A): 631-638.

Royce JT. On the construct validity of open field measures. *Psychol Bull.* 1977; 84: 1098-1106.

Sarwark JF, Dabney KW, Salzman SK. Scoliosis in the rat. Methodology, anatomic features. *Spine.* 1988; 13(5): 466-471.

Schmitt U, Hiemke EC. Strain differences in open-field and elevated plus-maze behavior of rats without and with pretest handling. *Pharmacol Biochem, Behav.* 1998; 59(4): 807-811.

Silva CA. et al. Assessment of rat behavior with induced scoliosis by polyvinil choride vest. *Journal Chinese Clinical Medicine.* 2008; 31: 621-626.

Silva CA. et al. Utilization of neuromuscular electric stimulation in the acute phase of ankle immobilization: Study in rats. *Journal Chinese Clinical Medicine.* 2009; 4: 249-257.

Silva CA, Guirro RRJ, Polacow MLO, Durigan JLQ. Proposal for rat hindlimb joint immobilization: orthosis with acrylic resin model. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2006; 39: 979-985.

Simon F, Baillou-Beaufils A, Fauveau V, De Santi-Martin J, Lousseart-Ajaka I, et al. Sensitivity of screening kits for anti-HIV-1 subtype O antibodies. *AIDS* 1994; 8(11): 1628-1629.

Siu, LO, Russell JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *Journal of Applied Physiology*, 1970.

Stokes IA. et al. Mechanical modulation of vertebral and tibial growth: diurnal versus full-time loading. *Study Health Technol Inform*. 2002; 91: 97-100.

Tanaka H. et al. The experimental study of scoliosis in bipedal rat. *Arch Orthop Trauma Surg*, 1982; 101(1): 1-27.

Zangrossi HJR, File SE. Behavioral consequences in animal tests of anxiety and exploration of exposure to cat odor. *Brain Res Bull*. 1992; 29(3-4): 381-388.

Whatman C, Knappstein A, Hume P. Acute changes in passive stiffness and range of motion post-stretching. *Physical Therapy in Sport*. 2006; 7: 195-200.

Winick M, Basel JA, Rosso P. Nutrition and cellular growth. M. Winick. In *Nutrition and development*; editor, John Willey 1972; 49 – 97.

Ceccotti HM, Sousa DD. Manual para normalização de dissertações e teses do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, UNIMEP; 2006. Disponível em <http://www.unimep.br/ppgft>