

UNIVERSIDADE METODISTA DE PIRACICABA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

Efeito biomecânico e químimetabólico do alongamento passivo em ratos
escolióticos

Eder João de Arruda

2012

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

EDER JOÃO DE ARRUDA

EFEITO BIOMECÂNICO E QUÍMIOMETABÓLICO DO ALONGAMENTO PASSIVO EM RATOS ESCOLIÓTICOS

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: Avaliação e Intervenção Fisioterapêutica.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva

PIRACICABA
2012

Ficha Catalográfica

Arruda, Eder João de

Efeito biomecânico e químiometabólico do alongamento passivo em ratos escolióticos. / Eder João de Arruda - Piracicaba, 2012. 72 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. Alongamento. 3. Ratos. 4. Metabolismo. I. Arruda,
Eder João. II. Título.

Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia



Os membros da Banca Examinadora da Defesa da Dissertação de Mestrado de EDER JOÃO DE ARRUDA, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, em Sessão Pública realizada em 16 de Fevereiro de 2012, consideraram o candidato aprovado.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva
UNIMEP

Prof^a. Dra. Delaine Rodrigues Bigaton
UNIMEP

Prof^o. Dr. Gabriel Borges Delfino
UFSCAR

Dedico esse trabalho a Deus, a minha família, aos que sofrem com escoliose e a todos os pesquisadores que irão usar essa obra como base para novas descobertas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente ao “Pai” nosso que estas no céu, em todos os lugares e SEMPRE ao meu lado.

Agradeço em especial, a uma das pessoas que mais tem me ajudado em terra...Profº Dr. Carlos Alberto da Silva, ou simplesmente Carla! Ele que é Amigo, Parceiro de omelete, Exemplo de pessoa e profissional! Ele que me contaminou com os fascínios da pesquisa e universo de possibilidades! Ele que mostrou que a fisiologia não é da forma que gostaríamos! Ele me ensinou que dificuldade faz parte de um Kit chamado sucesso! Carlos... fica meu agradecimento fraternal, associado ao reconhecimento de que sou hoje, aquilo que você acreditou que um dia eu poderia ser! Obrigado por acreditar no potencial das pessoas! Aproveito para pedir desculpas pelos cabelos que fiz cair nesses anos de caminhada, desde a iniciação até agora no mestrado! O carinho, respeito e admiração que sinto por você é fora das possibilidades humanas! Obrigado de coração amigo Carlos!

Agradeço imensamente ao Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições de Ensino Particulares (PROSUP), oferecido pela Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Sou grato a minha família, por todo amor, união, sustentação, compreensão e solidariedade.

Pai...obrigado pela força! Sempre se esforçou para que eu pudesse ter melhores condições!

Irmãos...vocês são gigantes que me impulsionam e encorajam!

Cleusa....você é a mulher mais fantástica que conheço! Obrigado por ter assumido o papel de mãe da melhor forma! Fez isso muito bem!

Dra. Caroline Soares...você me ajudou muito! Diria que foi fundamental nesse passo que dei!

Expresso gratidão a família Chaves, em especial a Taila Chaves...uma pessoa fantástica em todos os sentidos!

Tenho que expressar minha admiração e gratidão a todos os professores que tive no mestrado. Mais do que conhecimento científico, me mostraram que o mais básico de um bom pesquisador, é a paciência e humildade.

Aos colegas de mestrado, meu muito obrigado pelas experiências compartilhadas!

Um cara brilhante e de futuro promissor... André Mascaram, aluno de iniciação científica que foi meu braço direito! Se alguém questionar-me se conheço o André? Definirei como um Jovem que nem imagina quantos frutos irá colher da árvore que plantou! Obrigado irmão.

Minha gratidão se deve também a todos os funcionários da UNIMEP. Obrigado!

Meus amigos de graduação Daniel (Zico) e Jefferson (Japa), que me impulsionaram a mergulhar de cabeça no mundo da iniciação científica!

Agradeço a todos os professores da graduação, que me proporcionaram uma formação sólida e estruturada.

Grande parceiro Maurílio, mesmo quando eu ainda estava no último ano da graduação, demonstrou confiança ao me inserir na docência em nível técnico. Deu certo!

Agradeço meus colegas de trabalho na supervisão de estágio e docência: Angélica, André, Arthimis, Andreza, Kelly, Jú, Tais, Rogérios (Neto e Von Zuben), Lydiana e Larissa. De forma especial agradeço a professora Janice Campos Lima, que me inseriu na docência em nível superior.

Agradeço aos ratos e a todos os animais que diariamente contribuem para a evolução da ciência, a fim de favorecer a vida humana.

Por fim, agradeço novamente a Deus, por ter me proporcionado a carreira docente, de modo que assim eu possa vivenciar a maravilhosa possibilidade de conviver com pessoas das mais diferentes esferas, desde o aluno pouco interessado ao livre docente muito empenhado.

“Trate um homem como ele é e ele permanecerá como é. Trate um homem como ele pode e deve ser, e ele assim será como poderá e deverá ser”

Johann Wolfgang von Goethe

RESUMO

Escoliose é uma condição caracterizada por uma disfunção da coluna vertebral em caráter tridimensional, sendo que afeta crianças e adolescentes no mundo todo. Caso não seja tratada desde o início, torna-se uma condição altamente incapacitante. O objetivo do presente estudo foi induzir escoliose em ratos por meio de metodologia não invasiva por seis e 12 semanas, a fim de se conhecer as alterações angulares da coluna, os comportamentos exploratório, ansiogênico, e metabólico que acompanham o quadro escoliótico, frente a 10 sessões de alongamento passivo. Os animais foram distribuídos em cinco grupos (n=6), a saber; controle (C6) e escoliótico 6 semanas (E6), controle (C12), escoliótico 12 semanas (E12) e escoliótico alongado (EA12). Os animais escolióticos receberam o dispositivo indutor, que foi trocado semanalmente até o fim do período de indução. Somente o grupo EA12 foi submetido ao alongamento passivo, consistido de 10 sessões (dias), sendo três séries de 30 segundos (s), com 10 s de intervalo. Foi realizada inclinação e flexão para o lado convexo da curvatura, que foi avaliada em exames radiológicos. A exploração e ansiedade foram avaliadas no campo aberto e labirinto em cruz elevado. A fisiologia do sistema cardiovascular foi avaliada em exame eletrocardiográfico. Os peptídeos hipotalâmicos (NPY e PMOC) também foram avaliados, para identificar alteração no centro da fome. O glicogênio muscular foi avaliado pelo método do fenol sulfúrico. O peso corporal dos animais E6 foi em média 16% menor que o C6, sendo que o E12 foi 18% menor comparado ao C12. Os comportamentos ansiolítico e exploratório não apresentaram diferença. Em relação à angulação da escoliose, os grupos E6, E12 e EA12 apresentaram angulação de 45°, 56° e 21° respectivamente. O eixo elétrico ventricular apresentou um desvio de 11° por conta da escoliose, sem alteração funcional. Na avaliação metabólica, o grupo E6 apresentou reservas (côncavo/convexo) glicogênicas em média 26% ($0,55 \pm 0,4\text{mg}/100\text{mg}$ C6 x $0,41 \pm 0,5\text{mg}/100\text{mg}$ E6) menor comparado ao C6. Nesse sentido, o E12 comparado ao C12 apresentou comprometimento em média 44% ($0,45 \pm 0,4\text{mg}/100\text{mg}$ C12 x $0,30 \pm 0,5\text{mg}/100\text{mg}$ E12), sendo que a convexidade foi comprometida de forma mais severa. Por outro lado, o grupo EA12 não apresentou diferença quando comparado ao C12 ($0,45 \pm 0,4\text{mg}/100\text{mg}$ C12 x $0,49 \pm 0,4$ EA12), sendo que comparado ao E12 houve elevação em média de 39% nas reservas glicogênicas. Em relação aos valores de proteína total, os grupos escolióticos apresentaram maior comprometimento na concavidade. Não houve diferença no índice de ingesta e nem na concentração de peptídeos hipotalâmicos (NPY ou PMOC). Conclui-se que a escoliose em caráter experimental é acompanhada de comprometimento do sistema muscular, que pode ser minimizado por meio do alongamento muscular.

Palavras-Chave: Escoliose, ratos, alongamento, músculo, metabolismo.

ABSTRACT

Scoliosis is a condition characterized by a three-dimensional spinal dysfunction, and affects children and adolescents worldwide. If not treated since the beginning, it is a highly disabling condition. The aim of this study was to induce scoliosis in rats using non-invasive method for six and 12 weeks, to know the angular changes of the spine, exploratory, anxiogenic and metabolic behaviors, that come the scoliotic table, compared to 10 sessions of stretching passive. The animals were divided into five groups (n = 6), control (C6), 6 weeks scoliotic (E6), control (C12), 12 weeks scoliotic (E12) and scoliotic stretched (EA12). The scoliotic animals received the device inductor, which was changed weekly until the end of the induction period. Only the group EA12 was subjected to passive stretching, consisting of 10 sessions (days), three sets of 30 seconds (s), with 10 s intervals. It was performed inclination and flexion for the convex side of curvature, which was assessed by radiological exams. The exploration and anxiety were assessed in open field and elevated plus maze, the physiology of the cardiovascular system was evaluated in electrocardiographic examination. The hypothalamic peptides (NPY and PMOC) were also evaluated to identify changes in hunger center. Muscle glycogen was evaluated by the phenol sulfuric metho. The body weight of the E6 animals was 16% lower than the C6, and the E12 animals was 18% lower compared to C12. The antigenic and exploratory behavior did not differ. In relation to angle of scoliosis, the E6, E12 and EA12 groups showed angulation of 45, 56 and 21 respectively. The ventricular electrical axis has a deviation of 11 ° because of the scoliosis, but did not alter the function. In the metabolic evaluation, the E6 group showed glycogen reserves (concave / convex) 26% (0.55 ± 0.4 mg/100 mg C6 x 0.5 ± 0.41 mg/100 mg E6) lower compared to C6. E12 compared to C12 showed impairment 44% (0.45 ± 0.4 mg/100 mg x C12 E12 0.30 ± 0.5 mg/100 mg), and the convexity was more severely compromised. On the other hand, the EA12 group showed no difference when compared to C12 ($0.45 \pm 0.4 \pm 0.49$ mg/100 mg x C12 0.4 EA12), and compared to E12 there was an increase of 39% in glycogen reserves. In relation to the amounts of total protein, the groups scoliotic had more impairment in concavity. There was no difference in the rate of intake, nor in gene expression in the hypothalamus. It was concluded that experimental scoliosis is accompanied by involvement of the muscular system, which can be mitigated and reversed through muscle stretching.

Keywords: scoliosis, rats, stretching, muscle, metabolism.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivo Específico	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Parecer do Comitê de Ética	21
3.2 Desenvolvimento	21
3.3 Grupos Experimentais	21
3.4 Modelo Indutor de Escoliose	22
3.5 Aplicação do Dispositivo	24
3.6 Instalação da Curvatura	24
3.7 Pesagem	26
3.8 Comportamento exploratório e determinação da ansiedade	26
3.9 Análise eletrocardiográfica	27
3.1.1 Radiografia	29
3.1.2 Alongamento	29
3.1.3 Mensuração da curvatura escoliótica	31
3.1.4 Controle de Ingesta	31
3.1.5 Eutanásia	32
3.1.6 Glicogênio Muscular	32
3.1.7 Concentração de Proteínas Totais	32
3.1.8 Determinação da concentração de peptídeos hipotalâmicos	32
3.1.9 Análise Estatística	33
4 RESULTADOS	34
4.1 Peso corporal	34

4.2	Peso do dispositivo	34
4.3	Avaliação da exploração e ansiedade	35
4.4	Exames radiológicos	36
4.5	Angulação da cifose	38
4.6	Exame radiológico pós alongamento	39
4.7	Exame eletrocardiográfico	41
4.8	Glicogênio Muscular	42
4.9	Concentração de Proteínas Totais	45
4.1.1	Controle de ingesta	46
4.1.2	Expressão gênica	47
5	DISCUSSÃO	48
6	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXO 1	71
	ANEXO 2	72

1 INTRODUÇÃO

Escoliose é uma condição potencialmente progressiva, caracterizada pela deformidade da coluna vertebral, que sofre alteração em caráter tridimensional, com desvios no plano frontal, sagital e transversal, sendo que essas alterações podem se apresentar de forma bastante variável. Isso faz com que sejam necessários estudos em diferentes esferas, no intuito de auxiliar na melhor compreensão dos mecanismos envolvidos no início, progressão, contenção e reversão da curvatura, além de ser base para tratamentos conservadores ou cirúrgicos (Ni et al., 2010).

Cerca de 3% da população mundial classificada como adolescente está susceptível aos efeitos prejudiciais que a escoliose pode instalar. Dentre esses efeitos, destacam-se o comprometimento na homeostasia do sistema cardiorrespiratório, desequilíbrio na ação integrada entre os músculos do dorso, seguido de outras alterações orgânicas que tem merecido cada vez mais atenção por parte das políticas públicas de saúde, com a justificativa de se elucidar estratégias de tratamento conservador nos casos de escoliose (Zaborowska-Sapeta et al., 2011).

Sabe-se que o principal critério de diagnóstico para escoliose, se dá por meio de exame radiológico, no qual deve ser observado se a coluna apresenta inclinação maior que 10° no plano frontal. No que diz respeito à incidência e prevalência, trata-se de uma condição que acomete cerca de 3% da população (criança/adolescente) mundial, sendo prevalente no gênero feminino (Trobisch, Suess e Schwab, 2010).

Os sinais e sintomas mais comuns em crianças e adolescentes são: dor nas costas, discrepância dos membros, deformação da superfície dorsal,

seguida de transtornos psicológicos. Em adultos, além da deformidade na superfície corpórea tem sido relatado dor nas costas, que interfere diretamente na qualidade de vida. Sabe-se ainda, que a progressão da deformação pode culminar em comprometimento cardiopulmonar, haja vista as relações anatômicas das estruturas envolvidas (Rowe et al., 2006; Liu et al., 2010; Neira et al., 2011).

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

Segundo sua etiologia, a escoliose pode ser classificada em estrutural (idiopática) e não estrutural (possível fato causal). Uma curvatura estrutural é fixa e não se altera com a flexão lateral do tronco, sendo que existe rotação vertebral e alteração na conformação torácica (gibosidade), de modo que a progressão seja mais severa. Por outro lado, a escoliose não estrutural apresenta correção mediante flexão lateral do tronco, podendo ser causada por assimetria de membros inferiores, espasmo ou dor muscular, compressão de raiz nervosa, traumatismos e maus hábitos posturais (Bonorino, Borin e Silva, 2007).

Em relação ao grau de angulação da curvatura escoliótica, curvas com até 20° são consideradas como leve, curvas entre 20° e 45°, são consideradas moderadas, sendo que curvas com mais de 45° são consideradas como escoliose grave, passível de intervenção cirúrgica (Neira et al., 2011).

Muito embora a maioria das escolioses sejam classificadas como idiopáticas, estudos atribuem três vertentes como fator causal: neuro-hormonal, genética e músculo esquelética (Zaborowska-Sapeta et al., 2011).

Nesse contexto, independentemente do fator causal, Shi et al. (2011) atestam que cerca de 48% de voluntários escolióticos que passaram por intervenção conservadora apresentaram contenção na progressão da curvatura, fato este que elucida a eficácia e significância do tratamento conservador, mesmo nos casos em que a etiologia não está bem definida.

Por se tratar de uma condição de caráter potencialmente progressiva, o diagnóstico precoce antes de ocorrer a rotação vertebral significativa poderá prevenir ou minimizar as complicações que se instalam com a progressão. Assim, são necessários estudos que viabilizem meios de intervir precocemente (Somazz, 2005).

Dentre os tratamentos disponíveis nos casos de escoliose, o ato cirúrgico pode ser uma experiência traumática, visto que tal procedimento ocorre na infância ou adolescência e pode interferir na qualidade de vida (brincadeiras) da criança/adolescente. Assim, é instigante que intervenções não invasivas sejam mais exploradas e estudadas, uma vez que os resultados alcançados por essa modalidade podem ser satisfatórios (Rigo e Grivas, 2010; Aleissa et al., 2011).

Arruda, Silva e Guirro (2008), destacaram que a escoliose tem sido alvo de estudo por diferentes cientistas, em diferentes aspectos de análise e em diferentes modelos experimentais. No entanto, todas as metodologias de indução de escoliose existentes na literatura apresentam-se com caráter invasivo. Assim, nota-se variações apenas quanto ao grau de complexidade metodológica. Tal fato, além de dificultar a replicação de novos estudos, ainda pode comprometer investigações de ordem químiometabólica.

No que diz respeito aos métodos de desenvolvimento da escoliose experimental em animais, a literatura apresenta estudos que se basearam apenas

na curvatura. Assim, dentre os estudos realizados para se obter um modelo escoliótico, é possível constatar uso de fármacos e químicos para deformar os tecidos (Nogami, Terashima e Tamaki, 1977; Tanaka et al., 1982).

No intuito de desenvolver a curvatura escoliótica, outros estudos utilizaram sutura muscular e estimulação elétrica unilateral na coluna de ratos (Sarwark et al., 1988; Joe, 1990; Kasuga, 1994). Destaca-se ainda o estudo de Stokes et al. (2002), que comprometeram o crescimento dos condrócitos, feito esse que gerou alterações mecânicas nas vértebras.

Ainda mais invasivos, são os estudos que realizam pinealectomia (retirada da glândula pineal) e também amputação dos membros anteriores para induzir a postura bípede (Machida et al., 2005; Oyama et al., 2006). O estudo de Liu et al. (2011), realizou sutura muscular e ainda amputação dos membros anteriores e da cauda.

Janssen et al, (2011) investigaram metodologias voltadas para indução de escoliose na condição experimental. Nesse sentido, galinha, coelho e rato são os animais em que a condição escoliótica é investigada mais frequentemente. No entanto, primatas, ovelhas, porcos, cabras, vacas, cães e rãs, também são usados no intuito de se estudar a escoliose. O mesmo estudo dividiu os procedimentos em pré natal e pós natal, sendo que a maioria foi realizado no período pós, de modo que o procedimento de indução mais usual tem sido a imobilização (fixação de estruturas dinâmicas) associada a outros procedimentos invasivos como, sutura de músculo e retirada de estruturas ósseas.

Em análise da literatura, é possível observar que a indução da curvatura escoliótica, em sua totalidade apresenta-se de forma invasiva. Outro ponto importante se deve a questão da reversão (tratamento) da curvatura, fato

este que tem se revelado escasso na condição experimental, conforme o estudo de Janssen et al. (2011).

No intuito de conter e/ou reverter a curvatura escoliótica, a fisioterapia trata a escoliose com diferentes modalidades terapêuticas, como; o método Klapp, reeducação postural global (RPG), hidroterapia, eletroterapia, pilates, exercícios de fortalecimento e alongamento. Dentre as formas de tratamento, o alongamento tem apresentado maior efetividade na prática clínica. No entanto, estudos atestam que a reversão da curvatura exige tratamento intenso, em torno de seis horas por dia, de quatro a seis dias por semana (Penha et al., 2005; Weiss e Goodall, 2008; Iunes et al., 2010).

Dentre os efeitos fisiológicos e clínicos do alongamento, destacam-se a síntese protéica (sarcômeros), melhora da vascularização, alívio de dor, hipertrofia muscular e liberação de fatores de crescimento, mesmo nos casos susceptíveis ao catabolismo (imobilização/desnervação). Destaca-se ainda, que o alongamento pode minimizar a proliferação de tecido conjuntivo após períodos de restrição funcional (Yang et al., 1997, Konno et al., 2008).

Alguns estudos aplicaram o alongamento estático como protocolo de tratamento e observaram: aumento macroscópico da amplitude de movimento articular, seguido de alterações morfofuncionais, como o aumento de sarcômeros em série, melhor disposição na formação do complexo actomiosina, alteração da disposição das fibras colágenas, alteração na conformação da titina e proteínas do sarcômeros (Whatman, Knappstein e Hume, 2006). Convém ressaltar que as alterações supracitadas, por sua vez, influenciam diretamente as propriedades mecânicas do tecido muscular, podendo alterar a dinâmica contrátil (Peviani et al. 2007).

Carvalho, Shimano e Picado (2008), estudaram a recuperação das propriedades mecânicas de músculos imobilizados, sendo que evidenciaram a restituição das propriedades mecânicas por meio do alongamento, no limite de proporcionalidade, rigidez e resiliência a padrões controle.

Sweeting et al. (2011), realizaram uma revisão sistemática com o intuito de investigar a aplicação do alongamento manual a fim de combater a inflamação (tendão, fascia e músculo), encurtamento (muscular) e fibrose (fascial e muscular) presentes na fascite plantar. Convém ressaltar, que algumas terapêuticas tiveram o alongamento enquanto recurso coadjuvante. No entanto, o alongamento enquanto único recurso terapêutico foi eficaz em atenuar de forma satisfatória o quadro clínico nas condições supracitadas.

Constata-se que é crescente o número de intervenções terapêuticas que utilizam o alongamento enquanto principal recurso ou mesmo como um recurso coadjuvante no tratamento de diversas patologias de ordem osteomioarticulares (Coutinho et al., 2006; Konno et al., 2008). Assim, torna-se de grande importância conhecer seu potencial efeito no modelo (animal) escoliótico, haja vista que não se encontram na literatura estudos que induziram e trataram a condição escoliótica de forma não invasiva.

Entende-se que a escoliose em caráter experimental configura-se como um estado favorável ao catabolismo do tecido muscular em condição experimental, sendo que o alongamento pode minimizar e/ou reverter os processos catabólicos que se instalam na condição de restrição, hipoatividade ou desuso (Konno et al., 2008).

Com vistas aos outros estudos que desenvolveram escoliose de forma invasiva, o presente estudo objetiva atestar a efetividade da metodologia em

induzir escoliose e aplicar o alongamento enquanto intervenção terapêutica no intuito de reverter às condições apresentadas na escoliose experimental. Assim, presume-se que o alongamento possa se refletir de forma positiva nos animais escolióticos.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar e validar o modelo de indução de escoliose experimental em ratos, nos períodos de seis e 12 semanas de indução da curvatura.

2.2 Objetivo Específico

Avaliar a efetividade de 10 sessões diárias de alongamento passivo aplicado na escoliose sinistro convexa em ratos, após 12 semanas de indução.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Parecer do Comitê de Ética

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), sob protocolo nº. 024/2006 – adendo, 2009).

3.2 Desenvolvimento

O estudo se divide em duas fases assim definidas: Primeiramente foi realizada a avaliação após seis semanas de indução da curvatura (aproximadamente 45°) escoliótica, haja vista que a literatura apresenta seis semanas como o tempo mínimo para que se obtenha um modelo experimental de forma invasiva. Na segunda fase foram realizadas avaliações de forma mais abrangente após 12 semanas de indução e 10 dias de alongamento dos animais escolióticos.

3.3 Grupos Experimentais

Foram utilizados 30 ratos da linhagem *wistar*, que foram submetidos ao processo de indução de escoliose a partir do 42º dia de vida (período pós-desmame), com período de 6 e 12 semanas de experimentação. Durante o período experimental, os animais foram alimentados com ração (Purina para roedores) 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). Para o

desenvolvimento experimental os animais foram distribuídos em grupos conforme tabela 1.

Tabela 1: Distribuição dos animais em grupos experimentais.

Grupos Experimentais	N
Controle 6 semanas (C6)	06
Escoliótico 6 semanas (E6)	06
Controle 12 semanas (C12)	06
Escoliótico 12 semanas (E12)	06
Escoliótico alongado 12 (EA12)	06

3.4 Modelo Indutor de Escoliose

Placas de policloreto de vinil (PVC) com espessura de 0,50 mm foram utilizadas para a montagem dos modelos, visto que esse material confere grande flexibilidade ao dispositivo indutor de escoliose, além de facilitar o ajuste ao corpo do animal e ser leve.

O dispositivo indutor de escoliose foi desenhado, recortado, perfurado com caneta de baixa rotação acoplada a um sistema de desgaste e encapado com fita isolante da marca 3M, no intuito de minimizar o atrito do dispositivo com o corpo do animal.

Com base na morfologia do animal, a parte anterior do dispositivo foi menor tanto no tamanho, quanto na circunferência de passagem dos membros. Por outro lado, a parte posterior teve as circunferências maiores e contou com pequenos orifícios centrais, cuja finalidade foi favorecer a drenagem de urina e evitar irritação cutânea (figura 1 A e B).

A colocação do dispositivo foi realizada por meio de um sistema de cinta regulável, que permite melhor ajuste, de acordo com a morfologia de cada animal (figura 1 C e D).

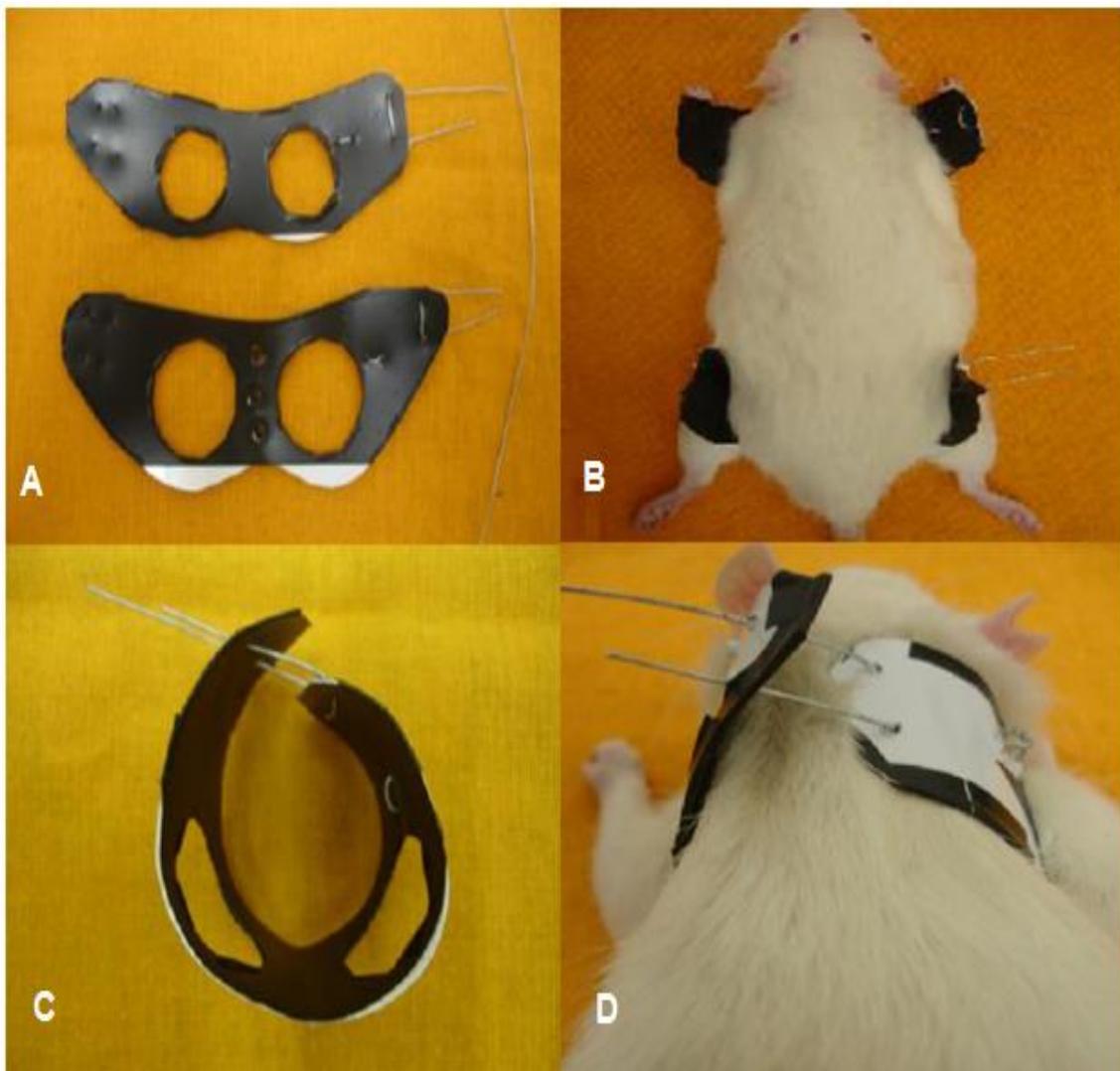


Figura 1: Dispositivo anterior e posterior (A), ajuste ao corpo do animal (B), sistema de cinta regulável (C e D).

3.5 Aplicação do Dispositivo

Tanto na parte anterior quanto na parte posterior do dispositivo, colocou-se um anulo de arame no lado direito, para que fosse fixado um fio metálico de 0,30 mm de espessura e 10 cm de comprimento, no intuito de induzir a curvatura escoliótica à direita (figura 2 E e F).

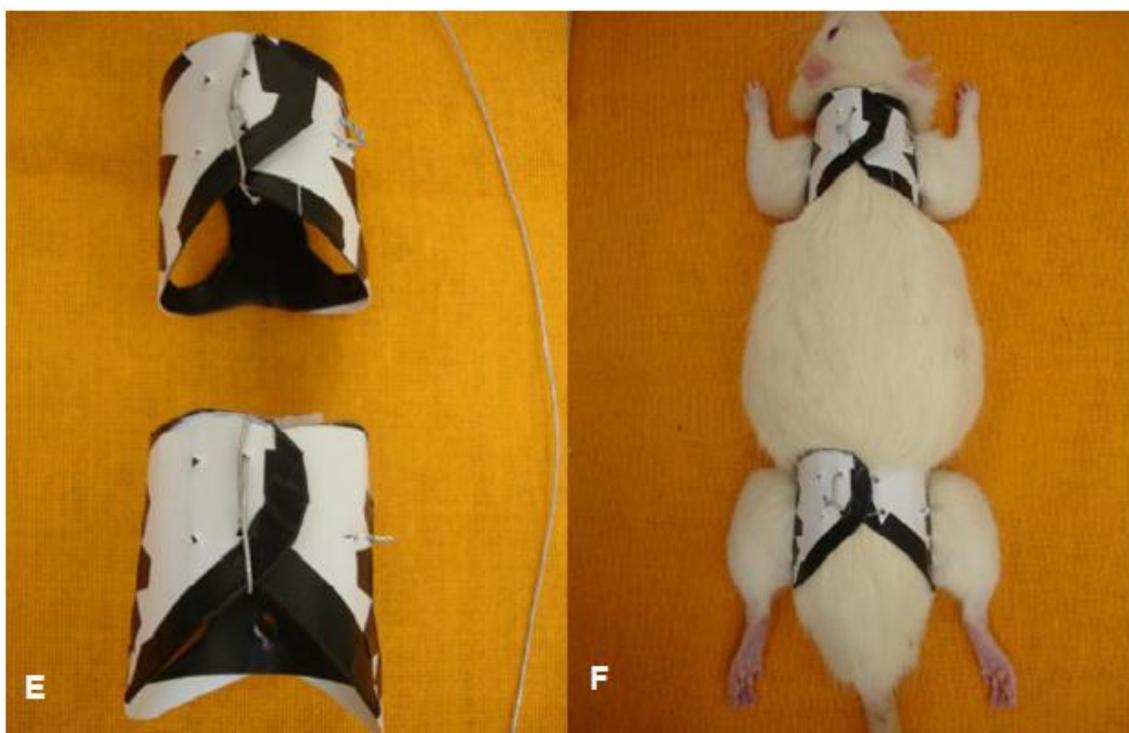


Figura 2: Parte anterior e posterior do dispositivo fechado em sistema de cinta regulável (E), com destaque para o lado direito, que conta com o anulo de arame para a passagem da haste que induz a curvatura, após o dispositivo estar ajustado ao corpo do animal (F).

3.6 Instalação da Curvatura

Os animais receberam o dispositivo indutor de escoliose, na fase pós desmame (42 dias), sendo realizada uma inclinação da coluna de aproximadamente 55° para o lado direito, de modo a induzir uma escoliose

sinistro convexa ou em “C” à direita (figura 3: G e H). A angulação foi estabelecida com régua, de modo que cada 0,5 cm de aproximação das cinturas corresponde a aproximadamente 20° de inclinação. O dispositivo foi trocado a cada 07 dias, por um novo e maior, de acordo com o crescimento do animal, sendo mantido até a 6ª ou 12ª semana de experimento.

Na figura 3 I pode-se observar o animal com o dispositivo adaptado ao corpo, durante atividade de deambulação.

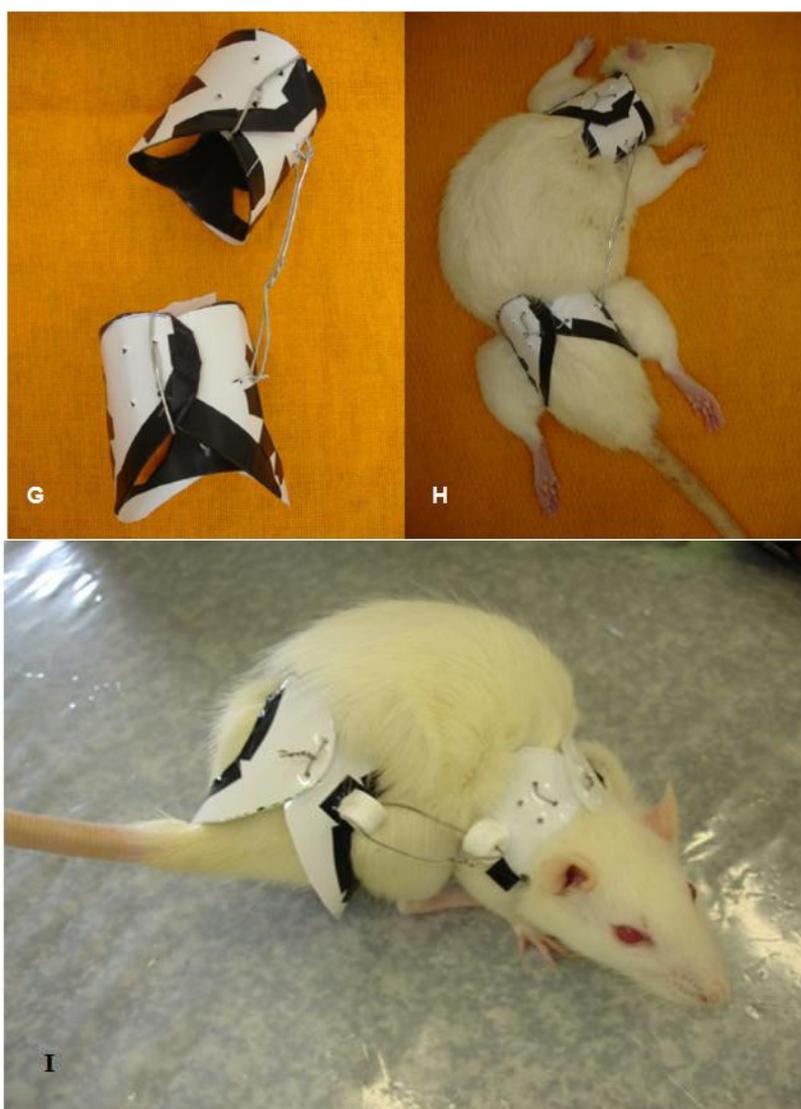


Figura 3: Dispositivo indutor pronto (G) e adaptado ao corpo do animal (H), seguido da condição de deambulação (I).

3.7 Determinação do peso corporal

Semanalmente, os dispositivos e os animais foram pesados, para que fosse relacionado o peso do animal com o peso do dispositivo. A pesagem foi realizada por meio de balança digital da marca FILIZOLA[®].

3.8 Comportamento exploratório e determinação da ansiedade

Os testes comportamentais foram aplicados na 11^a semana de indução, com o animal portando o dispositivo. O procedimento foi realizado após as 18 horas, por ser considerado o período de maior atividade da espécie. Os animais foram filmados por 3 minutos durante a exposição ao teste de campo aberto (*Open Field*). Assim, foi possível avaliar o comportamento exploratório segundo a proposta de Royce (1977), que estabelece o número de campos deslocados no período, considerando-se um campo deslocado quando o animal colocar três membros na área demarcada. O campo aberto, bem como o animal na condição de teste, podem ser observados na figura 4 A e B.

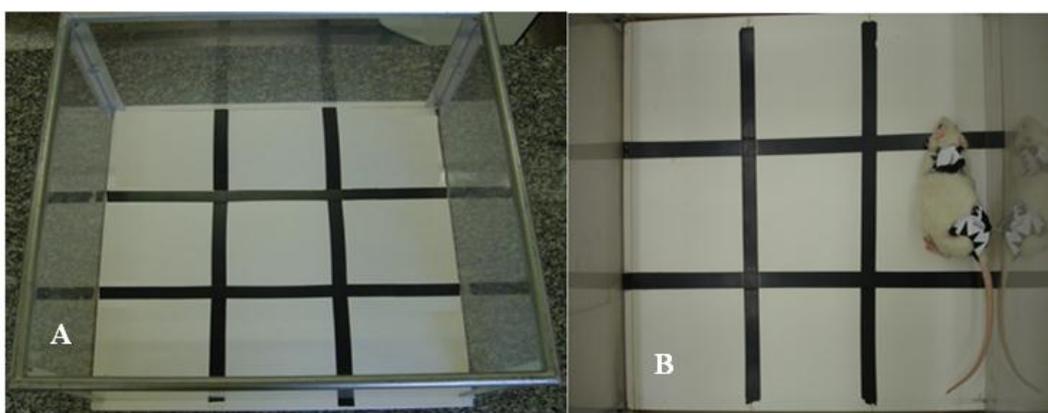


Figura 4: Campo aberto (A) e animal em teste (B).

Para avaliação do estado de ansiedade, utilizou-se o teste de labirinto em cruz elevado (LCE), que consiste em expor o animal á um labirinto elevado a 50 cm do solo, sendo formado por dois braços fechados com paredes laterais e dois braços transparentes e sem paredes, conforme observado na figura 5 A e B. A tendência fisiologia da espécie é que os animais permaneçam maior parte do tempo nos braços fechados, enquanto ambiente protegido. Assim, considera-se a porcentagem de preferência (tempo gasto) pelos braços abertos e pelos fechados um índice fidedigno de ansiedade: quanto maior o nível de ansiedade, menor a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos (Cruz, Frei e Graeff, 1994).

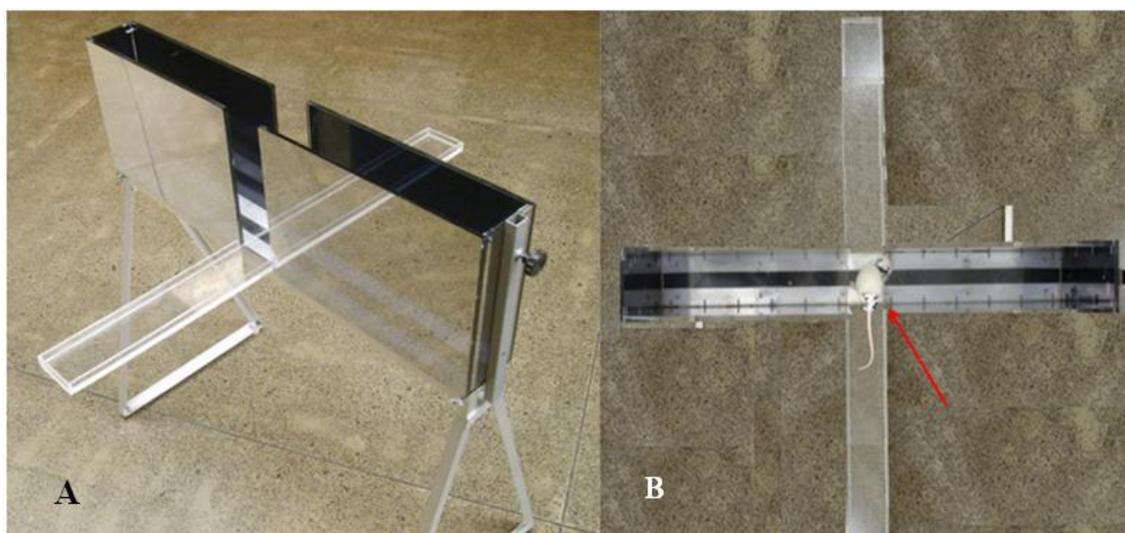


Figura 5: Labirinto em cruz elevada usado na avaliação do grau de ansiedade (A); animal em situação experimental (B).

3.9 Análise eletrocardiográfica

Para a avaliação das ondas e intervalos eletrocardiográficos, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg/ip), mantidos em posição

supina, com respiração espontânea durante o registro do ECG (Figura 6). Os eletrodos foram conectados aos canais do computador (Heart Ware System) e registradas três derivações bipolares (DI, DII e DIII) e nas três derivações amplificadas (aVR, aVL e aVF), com sensibilidade N e velocidade de 50 mm/segundo. O intervalo QT foi medido em dez batimentos consecutivos, do início do complexo QRS ao ponto de retorno da onda T isométrica definido como segmento TP. O intervalo QT foi corrigido pela frequência cardíaca usando a fórmula de Bazett ($QTc = QT / \sqrt{RR}$). As análises foram feitas por um único avaliador para minimizar as divergências na medida da dispersão.

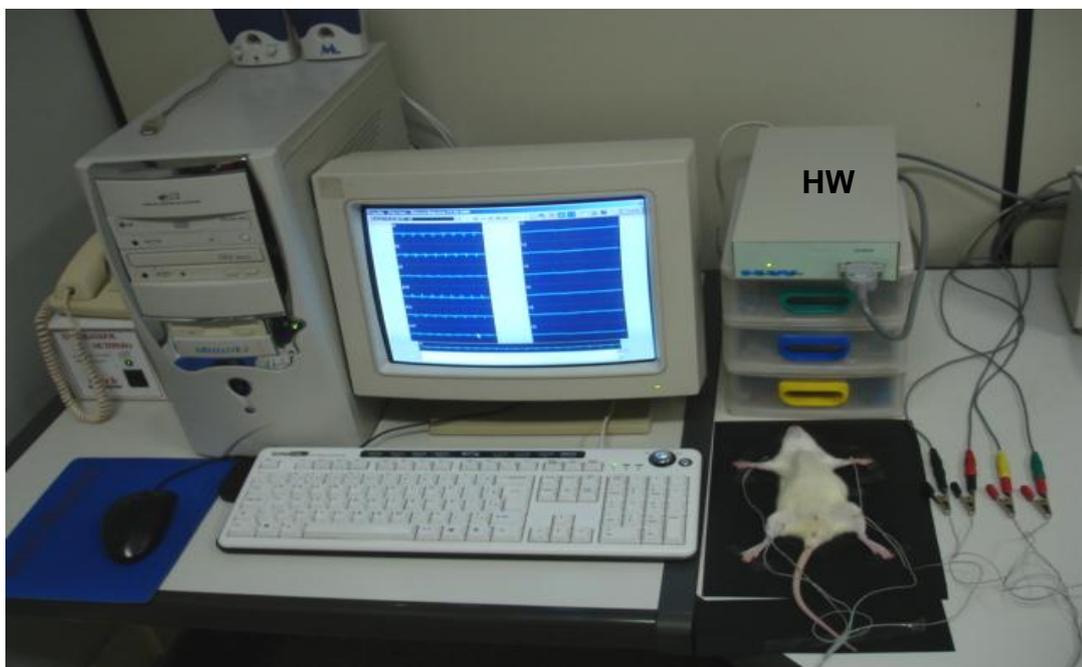


Figura 6: Sistema de captação dos sinais eletrocardiográfico através do ECG – Heart Ware 98 (HW).

3.1.1 Análise Radiográfica

Os parâmetros para realização dos exames radiográficos foram: distância foco-chassi 75 cm, intensidade 50 Kvp (quilovoltagem pico) e 6 impulsos de tempo de exposição.

Os grupos experimentais de seis semanas passaram por exposição radiográfica na sexta semana. Por outro lado, os grupos experimentais de 12 semanas, foram submetidos a duas exposições ao exame, sendo que a primeira ocorreu na 12^a semana (imediatamente a retirada do dispositivo) e a segunda, ocorreu após 10 dias de alongamento, o que perfaz um tempo de 13 semanas e três dias de experimentação.

Convém ressaltar que para a realização dos exames, os animais tiveram os dispositivos removidos e foram sedados com Ketamina-Xilazina (35 mg/kg peso e 4 mg/kg peso, i.m).

3.1.2 Alongamento

Somente seis animais passaram por esse procedimento, sendo denominados de grupo escoliótico 12 semanas alongado (E12A). Convém ressaltar que, para a realização desse procedimento, os animais não foram sedados e/ou anestesiados, visto que a ação de um fármaco poderia influenciar diretamente no tônus muscular e na resposta ao alongamento.

No presente estudo, optou-se pela aplicação do alongamento estático, por ser de realização passiva e fácil aplicabilidade. O alongamento aplicado no presente estudo, esta apresentado na tabela 2.

Tabela 2 – Protocolo de alongamento utilizado no estudo.

RECURSO	SÉRIE	TEMPO	PERÍODO
Alongamento passivo estático	3	30 s de aplicação e 10 s de repouso	10 dias

A cada sessão de alongamento, o animal teve o dispositivo removido, para que o experimentador segurasse o animal pelas cinturas escapular e pélvica no sentido longitudinal, pressionando a convexidade toracolombar com os polegares, de modo que a coluna ficasse em uma angulação de +/- 70° de inclinação e discreta flexão, posição contrária a inclinação induzida pelo dispositivo conforme pode ser observado na figura 7.

A aplicação e mensuração da angulação do alongamento foi realizada sempre pelo mesmo experimentador, com uso de goniômetro, o qual teve o eixo posicionado no vértice da curvatura estabelecida anteriormente em exame radiológico.

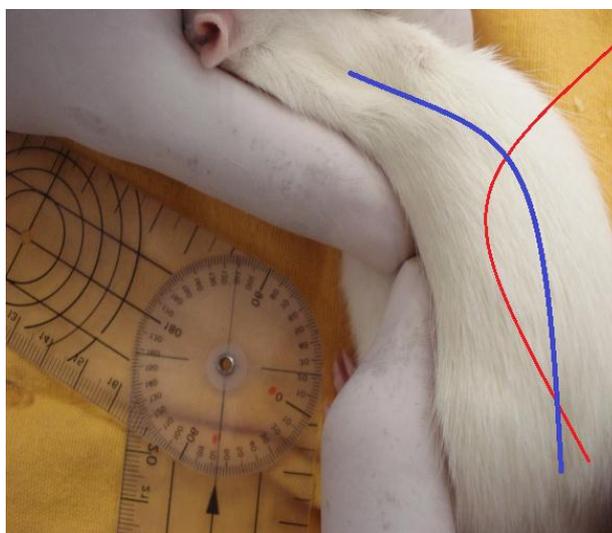


Figura 7: Aplicação do alongamento passivo nos animais escolióticos, durante 10 dias seguidos, após a retirada do dispositivo na 12ª semana. Observa-se duas curvas, sendo uma da posição escoliótica (vermelha), e a outra representa a inclinação induzida pelo alongamento (azul).

3.1.3 Mensuração da curvatura escoliótica

Para obtenção da angulação da curvatura escoliótica, os exames radiológicos foram digitalizados e submetidos à análise no software ALCIMAGEM 2003. Assim, o vértice da curvatura foi o primeiro ponto a ser marcado (A1), de modo que a partir desse ponto, duas retas foram traçadas no sentido cranial (A2) e caudal (A3). No lado côncavo da curvatura é que se obteve a angulação escoliótica, de modo que o valor foi obtido a partir da subtração de um ângulo de 180° , conforme figura 8.

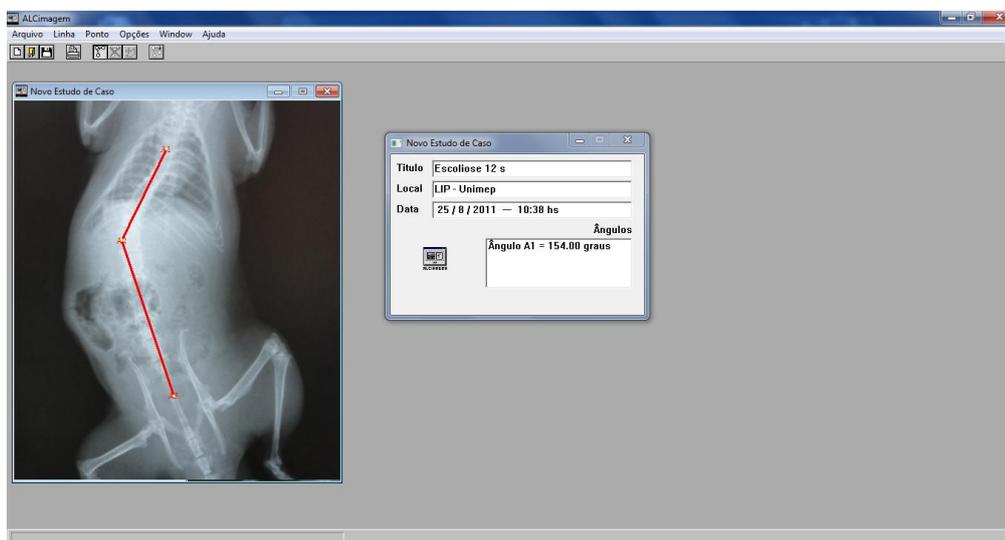


Figura 8: Obtenção dos dados referente à angulação da curvatura escoliótica.

3.1.4 Controle de Ingesta

Na 11^a semana de estudo, a água e a ração foram adicionadas a gaiola em horário previamente determinado e pesadas 24 horas após, por cinco dias consecutivos.

3.1.5 Eutanásia

Os animais foram submetidos à eutanásia por meio da decapitação.

3.1.6 Glicogênio Muscular

Amostras dos músculos peitoral, paravertebral, intercostal, abdominal e diafragma, foram coletadas após eutanásia e submetidas à digestão em KOH 30% a quente e o glicogênio foi precipitado a partir da passagem por etanol a quente. Entre uma fase e outra da precipitação, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm durante 15 minutos e o glicogênio foi submetido à hidrólise ácida na presença de fenol, segundo a proposta de Siu, Russeau e Taylor (1970). Os valores foram expressos em mg/100 mg de peso úmido.

3.1.7 Concentração de Proteínas Totais

Foi utilizado o Kit PROTAL da Laborlab®, com os valores sendo expressos em mg/100mg.

3.1.8 Determinação dos peptídeos hipotalâmicos NPY e POMC

Após eutanásia, o hipotálamo dos animais foram extraídos e submetidos a homogeneização em tampão de extração, à 4 °C, utilizando-se para isso um homogeneizador tipo Polytron PTA 20S (modelo PT 10/35; Brinkmann Instruments, Westbury, NY) operado em velocidade máxima por 30 segundos. Os fragmentos celulares foram então centrifugados (15.500 x g, 20 minutos, 4 °C) para remoção do material insolúvel e o sobrenadante foi utilizado para o ensaio. Parte deste foi utilizado para determinação do conteúdo das proteínas totais através do método fotolorimétrico de Biureto, enquanto que a outra parte foi

submetida à imunoprecipitação e *immunoblotting* com anticorpos específicos para neuropeptídeos hipotalâmicos. Este experimento foi realizado em parceria com o Laboratório de Sinalização Insulínica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp.

3.1.9 Análise Estatística

Foi realizada inicialmente pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov seguido de ANOVA e teste de Tukey. Em todos os cálculos foi fixado um nível crítico de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 Peso corporal

O peso corporal dos grupos experimentais foram avaliados durante seis e 12 semanas de experimentação. Foi observado que até a sexta semana de estudo, o peso corporal do grupo escoliótico apresentou-se em média 16% menor quando comparados ao grupo controle. Por outro lado, o grupo escoliótico 12 semanas apresentou em média peso 18% menor se comparado ao grupo controle (figura 9).

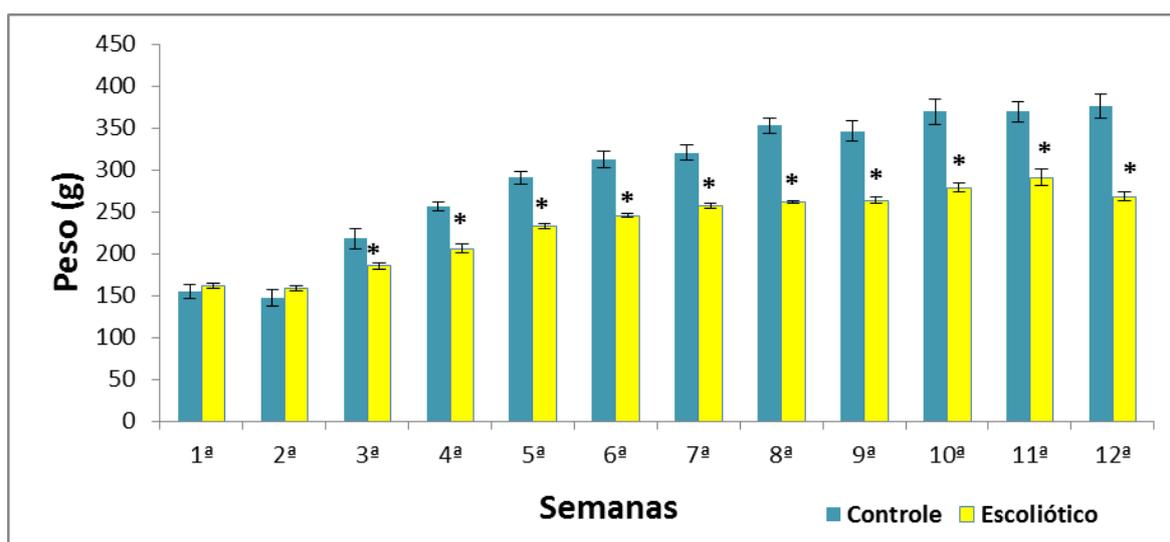


Figura 9: Peso corporal dos animais (g), referente aos grupos controle e escoliótico, representados da 1ª até a 12ª semana. Os valores são expressos em média \pm epm, n=6. *p < 0,05 se comparado ao controle.

4.2 Peso do dispositivo

Durante 12 semanas de indução de escoliose, o peso do dispositivo mostrou-se em média $4,3\% \pm 0,2$ do peso do animal, conforme mostra a figura 10.

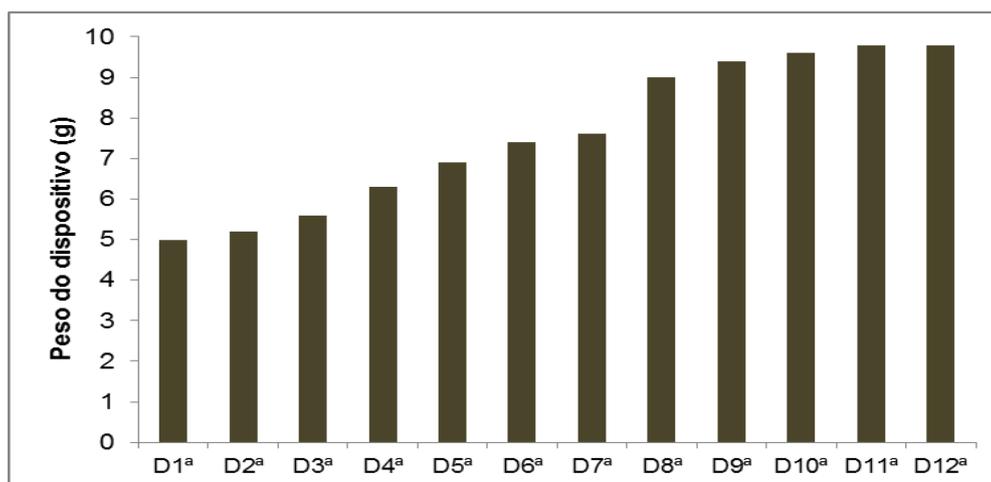


Figura 10: Peso médio em gramas (g) dos dispositivos (D) utilizados durante a indução da curvatura escoliótica, da 1ª à 12ª semana.

4.3 Avaliação da exploração e ansiedade

Na avaliação da atividade exploratória foi observado que ambos os grupos deslocaram-se em média 25 campos, não havendo diferença significativa, conforme pode ser visto na figura 11.

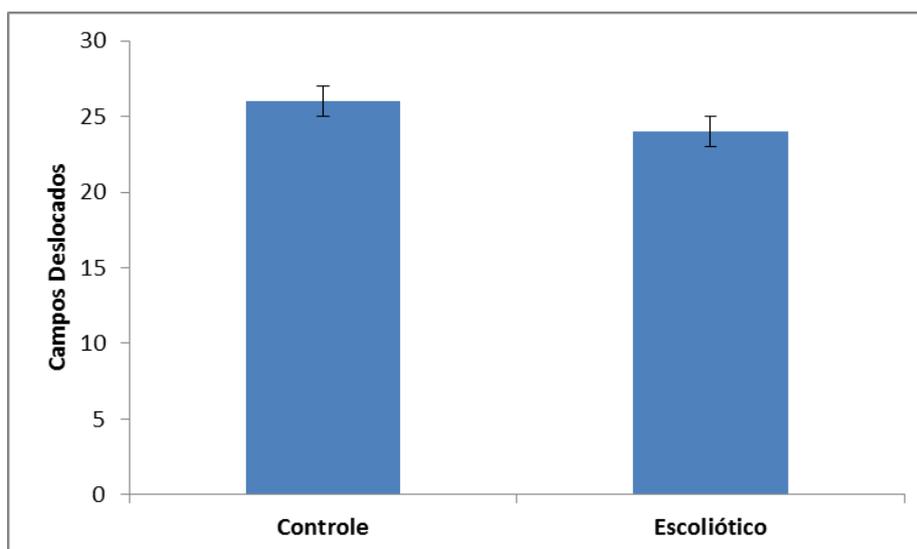


Figura 11: Número de campos deslocados na avaliação exploratória dos grupos Controle e Escoliótico. Os valores estão expressos em média \pm epm, n=6.

Em relação ao teste de ansiedade realizado pelo método do labirinto em cruz elevado, não foi observado diferença significativa no percentual do tempo de permanência em cada braço do aparato, como mostra a figura 12.

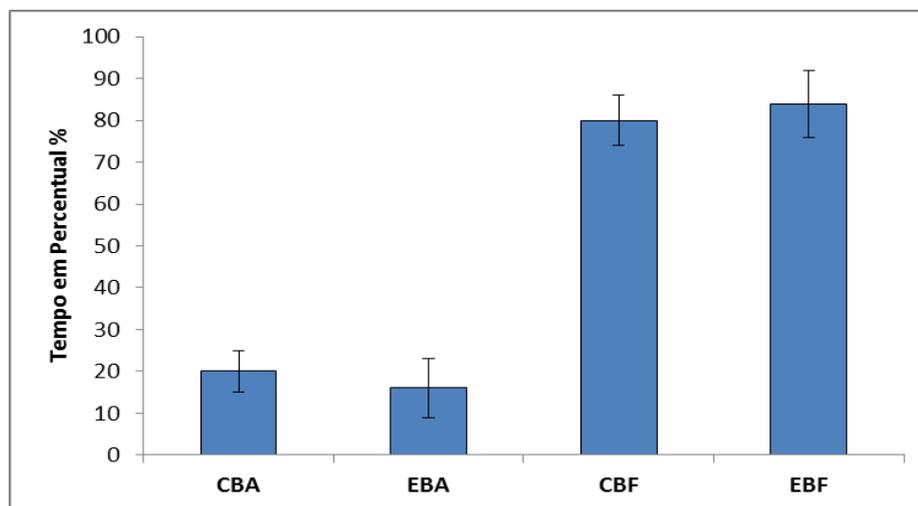


Figura 12: Porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos (BA) ou fechados (BF) dos grupos controle (C) e escoliótico (E). Os valores estão expressos em média \pm epm, n=6.

4.4 Exames radiológicos

A análise radiográfica mostrou que na 6^a semana do processo de indução da escoliose foi constatada angulação de 45° (*p < 0,05 comparada ao C6) e curvatura de 55° na 12^a semana de estudo (*p < 0,05) comparada ao C12. A diferença angular de E12 e EA12 foi de 19% (#p < 0,05) comparada ao E6. Convém ressaltar que os dados apresentados pelos grupos de 12 semanas, são referentes ao período pré-intervenção.

Tabela 3: Angulação escoliótica dos grupos controle e escoliótico seis semanas (C6 e E6), controle, escoliótico e escoliótico alongado 12 semanas (C12, E12 e EA12), de modo que *p < 0,05 difere do controle (C6 e C12), e #p < 0,05 difere do E6.

Grupos	C6	E6	C12	E12	EA12
Rato 1	3°	42°	4°	53°	57°
Rato 2	0°	48°	2°	54°	60°
Rato 3	4°	46°	0°	56°	52°
Rato 4	3°	43°	2°	58°	55°
Rato 5	0°	47°	0°	54°	58°
Rato 6	0°	45°	0°	56°	56°
Média e Desvio padrão	1.5° ± 1	45° ± 2	1.2° ± 1	55° ± 2	56° ± 2
Valor de p		<0,05*		<0,05*,#	<0,05*,#

No que tange ao processo de indução da curvatura escoliótica no período de seis semanas, pode-se observar na figura 13 a inclinação da coluna.



Figura 13: Exames radiográficos dos animais controle (C6) e escoliótico (E6), ao fim de seis semanas de indução da curvatura.

No mesmo sentido de análise, observa-se que os grupos submetidos ao desenvolvimento da escoliose no período de 12 semanas (sem intervenção) apresentaram maior severidade na angulação da curvatura, como mostra a figura 14.

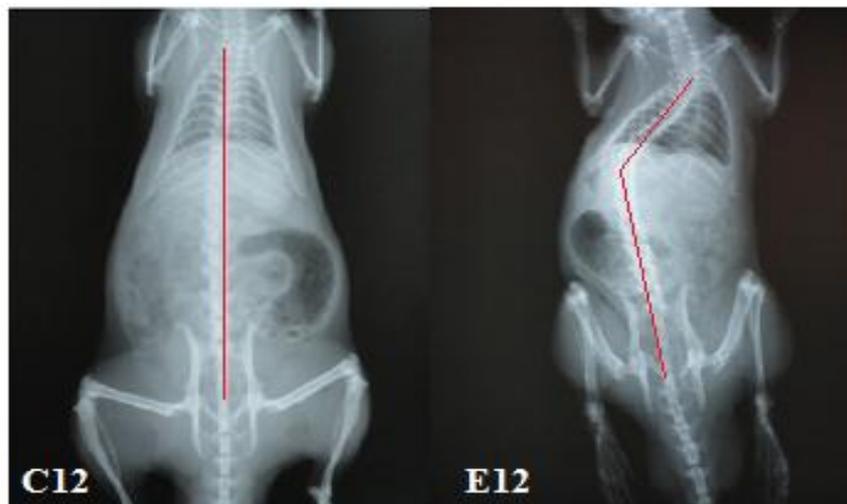


Figura 14: Exames radiográficos dos grupos controle (C12) e escoliótico (E12), na 12^a semana de estudo.

4.5 Angulação da cifose

Foi analisada ainda a angulação da cifose na 12^a semana de estudo, e como mostram as figuras 15 A e B, o grupo E12 apresentou cifose acentuada e mais severa ($136^{\circ} \pm 2.2$ C12 x $103^{\circ} \pm 2.6$ E12), sendo que essa diferença foi de 33° ($p < 0,05$).

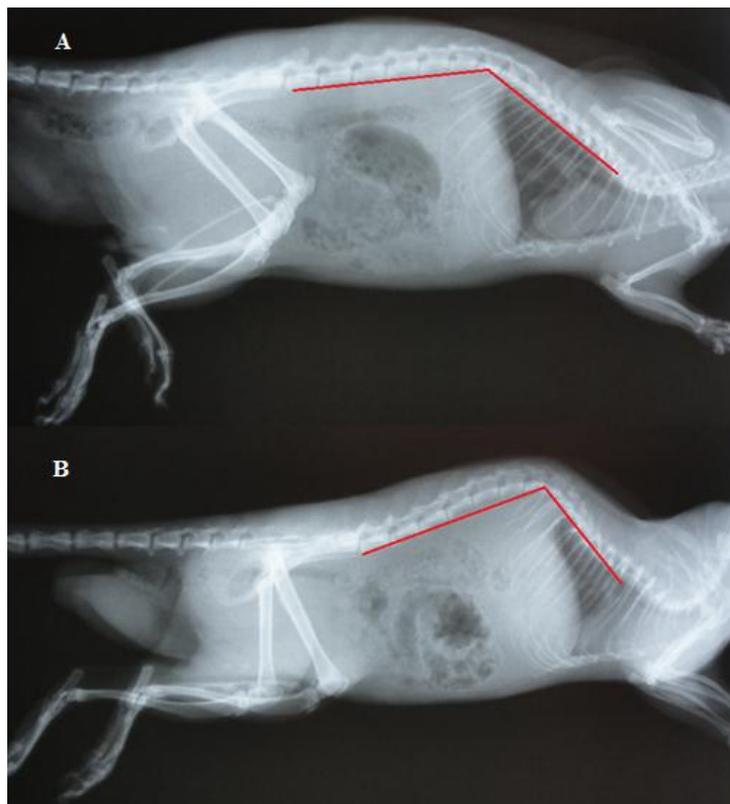


Figura 15: Exame radiológico em perfil, dos grupos C12 (A) e E12 (B).

4.6 Exame radiológico pós alongamento

Com base na tabela 4 observa-se que todos os grupos submetidos a indução da curvatura escoliótica apresentaram-se diferente do controle, tanto na pré quanto na pós intervenção. No entanto, após os 10 dias de retirada do dispositivo indutor (E12) ou 10 dias de alongamento (EA10), ambos os grupos apresentaram-se diferentes do E12 e EA12 pré intervenção, de modo que a angulação apresentou redução de 26% (E12 e EA12 pré x E12 pós) e 60% (E12 e EA12 pré x EA12 pós). Convém ressaltar que o grupo EA12 pós, quando comparado ao E12 pós, apresentou redução angular de 47%.

Tabela 4: Angulação escoliótica dos animais dos grupos controle (C12), escoliótico sem o dispositivo (E12) e escoliótico alongado (EA12), nos períodos pré e pós intervenção, sendo * $p < 0,05$ * diferente do C12, # $p < 0,05$ diferente do E12 e EA12 pré intervenção e € $p < 0,05$ diferente do E12 pós intervenção.

Grupos	C12	E12	EA12	E12	EA12
		Pré intervenção	Pré intervenção	Pós intervenção	Pós intervenção
Rato 1	3°	53°	57°	40°	21°
Rato 2	2°	54°	60°	37°	25°
Rato 3	5°	56°	52°	43°	17°
Rato 4	2°	58°	55°	41°	19°
Rato 5	0°	54°	58°	39°	23°
Rato 6	0°	56°	56°	42°	25°
Média e Desvio padrão	2°±1	55°±2	56°±2	41°±2	22°±3
Valor de p		<0,05*	<0,05*	<0,05*,#	<0,05*,#,\u20ac

Ainda no aspecto da angulação, a figura 16 possibilita a visualização das diferentes angulações obtidas no período pós intervenção.

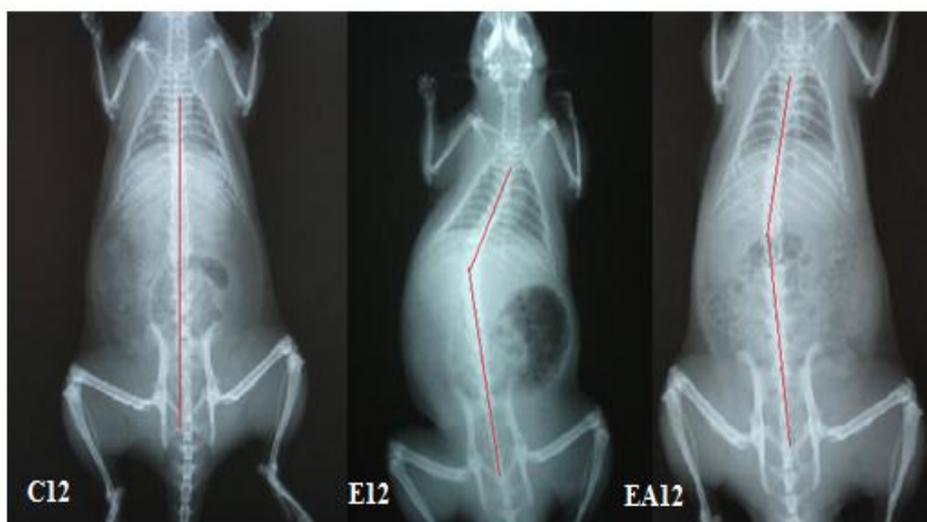


Figura 16: Imagens da mensuração da angulação da coluna dos grupos controle (C12), escoliótico sem dispositivo por 10 dias (E12) e escoliótico alongado por 10 dias (EA12).

4.7 Exame eletrocardiográfico

A avaliação eletrocardiográfica (ECG) foi realizada na 11ª semana de estudo, condição na qual os animais apresentavam-se na última semana de indução da curvatura escoliótica. Nesta avaliação foi verificado que a frequência cardíaca (bpm) não apresentou diferença significativa entre os grupos sendo de 151 ± 30 bpm no C12 e 169 ± 22 bpm no E12.

Dentro do perfil de análise cardíaca, determinou-se o eixo elétrico ventricular por meio do SÂQRS, onde foi verificado a angulação de $88^\circ \pm 3$ no controle (C12) e $99^\circ \pm 2^\circ$ no escoliótico (E12), o que indica um desvio de 11° ($p < 0,05$) em decorrência da escoliose (figura 17).

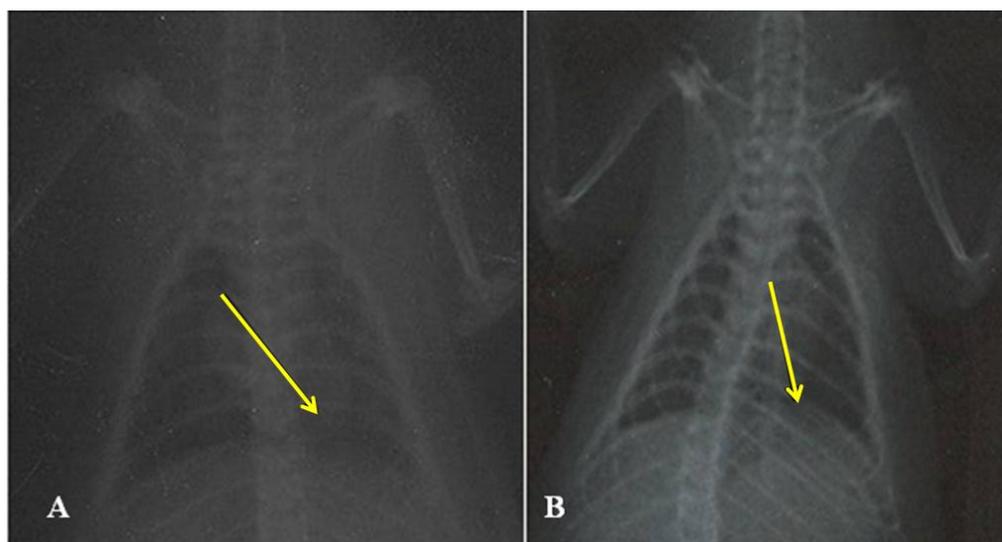


Figura 17: Posição anatômica do coração no grupo controle (A) e escoliótico 12 semanas (B). A seta representa o eixo médio do coração.

Ao analisar outros parâmetros eletrocardiográficos, constatou-se que não houve diferença entre os grupos na duração da onda R ou no intervalo PR. Assim, a duração foi representada por $34 \pm 7,5$ ms no grupo C12 e $29,2 \pm 2,0$ ms no E12. No que diz respeito ao intervalo PR, obteve-se os valores de $42 \pm 3,0$ ms no grupo C12 e $45 \pm 4,0$ ms no E12.

Em relação ao tempo do intervalo QRS (ms), nota-se que o grupo C12 apresentou $59 \pm 7,4$ ms, enquanto que o grupo E12 apresentou valor de 69 ± 1.1 ms, sendo que este padrão não apresentou alteração. O mesmo perfil foi observado ao se avaliar o intervalo QTc (a partir da correção pela fórmula de Bazett), que apresentou 203 ± 6.5 ms no grupo C12 e $216 \pm 5,5$ ms no grupo E12.

4.8 Glicogênio Muscular

Os dados a respeito da avaliação das reservas glicogênicas dos grupos controle (C6) e escoliótico (E6) seis semanas mostraram que o grupo E6 apresentou redução significativa de 16% no músculo peitoral direito e 30% no músculo peitoral esquerdo. O músculo intercostal, também apresentou redução glicogênica de 22% no direito e 36% no esquerdo. O músculo paravertebral apresentou redução de 24% no no direito e 29% no esquerdo, conforme pode ser observado na figura 18.

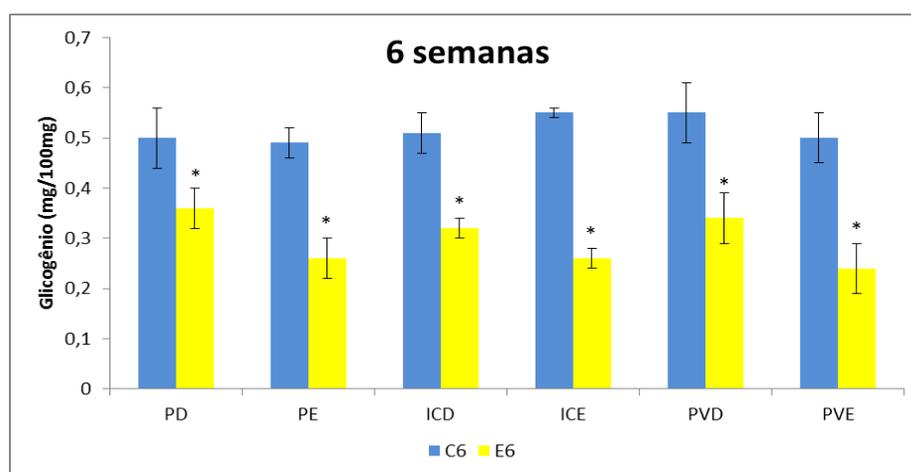


Figura 18: Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) dos músculos; peitoral (P), direito (D) e esquerdo (E), intercostal (IC) e paravertebral (PV), dos grupos controle (C6) e escoliótico (E6) seis semanas. Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. *p < 0,05 comparado ao controle.

Com base nos animais cuja experimentação seguiu o período de 13 semanas e três dias (12 semanas de indução, seguido de 10 dias de alongamento). Assim, o músculo peitoral direito não apresentou diferença entre os grupos. Nesse sentido, o músculo peitoral esquerdo do grupo escoliótico alongado (EA12), não apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo controle (C12). Por outro lado, na comparação dos grupos EA12 e E12, o grupo EA12 apresentou reserva glicogênica 12% maior, conforme figura 19.

Ao analisar o músculo intercostal direito foi observado que o grupo E12 apresentou reservas glicogênicas 12% menor, quando comparada ao C12. Já o grupo EA12 apresentou valores 7% maiores que o controle e 18% maiores que o escoliótico (figura 19).

No músculo ICE, as reservas glicogênicas foram 26% menores no E12 quando comparado ao C12. Por outro lado, os animais que passaram pelo procedimento de alongamento (EA12) apresentaram reservas glicogênicas 24% maiores em relação ao E12, sendo que não há diferença do C12 (figura 19). Convém ressaltar, que a concavidade estava à direita e à convexidade à esquerda.

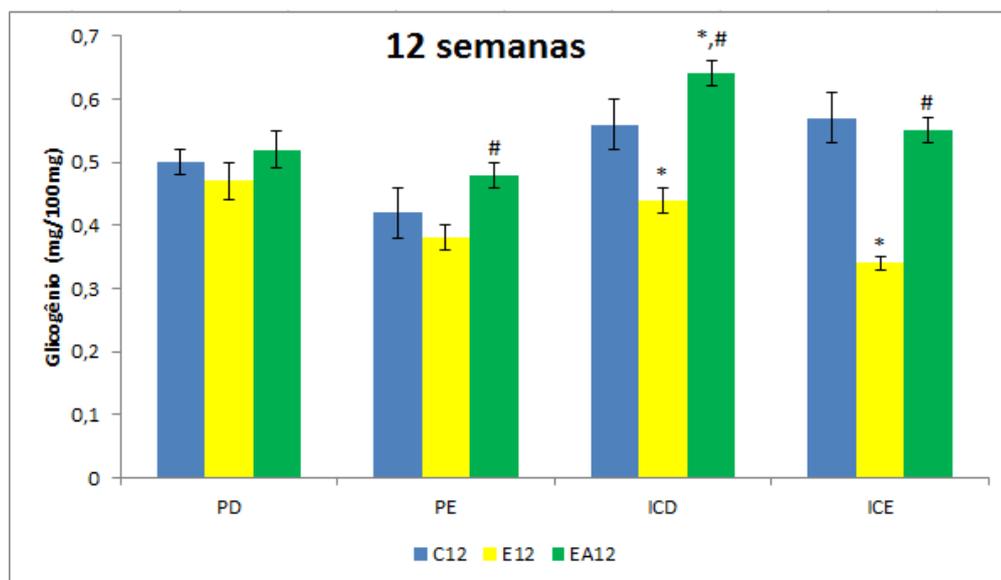


Figura 19: Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) dos músculos; peitoral (P), direito (D) e esquerdo (E), e intercostal (IC) dos grupos controle 12 semanas (C12), escoliótico 12 semanas (E12) e escoliótico alongado (EA12). Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. *p < 0,05 comparado ao C12 e #p < 0,05 comparado ao E12.

Tendo como base a concavidade (direita) e convexidade (esquerda) da curvatura escoliótica, analisaram-se os músculos paravertebral (PV) direito (D) e esquerdo (E), bem como o músculo diafragma (DIAF) dos grupos C12, E12 e EA12. O músculo PVD não demonstrou diferença entre C12 e E12, sendo que o grupo EA12 apresentou valores de 12% e 10% maiores em comparação com os grupos C12 e E12 respectivamente. No músculo PVE o grupo E12 apresentou redução de 14% em relação ao C12, sendo que o mesmo músculo do grupo EA12 apresentou-se de forma similar ao C12, conforme figura 20.

O músculo diafragma também foi analisado, sendo constatada redução de 18% no grupo E12. Em contrapartida, o grupo EA12 apresentou as reservas glicogênicas em elevação de 10% comparada ao C12 e 26% comparada ao E12 (figura 20).

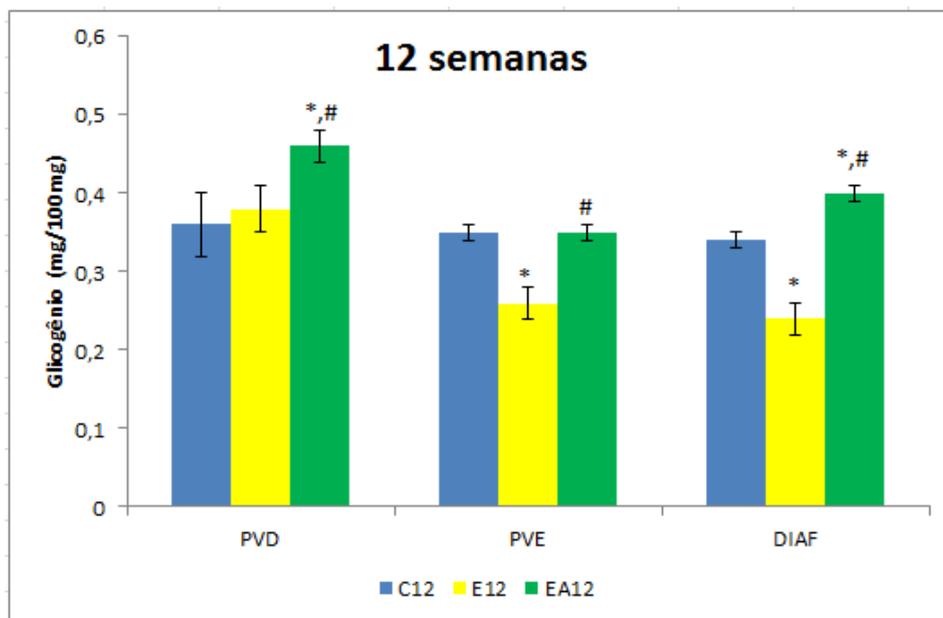


Figura 20: Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) dos músculos; paravertebral (PV), direito (D) e esquerdo (E), bem como o músculo diafragma (DIAF) dos grupos controle 12 semanas (C12), escoliótico 12 semanas (E12) e escoliótico alongado (EA12). Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. * $p < 0,05$ comparado ao C12 e # $p < 0,05$ comparado ao E12.

4.9 Concentração de Proteínas Totais

Na avaliação da concentração de proteínas totais nos músculos da caixa torácica e paravertebrais, observou-se que o grupo E12 apresentou valores em média 11% menores ($p < 0,05$) comparado ao C12. Já o grupo EA12 apresentou valores em média 5% menores que o C12. Por outro lado, o grupo EA12 apresentou valores em média 6% maiores que o E12, conforme tabela 5.

Tabela 5 - Concentração muscular de proteína total (mg/100mg) dos grupos controle (C12), escoliótico (E12) e escoliótico alongado (EA12). O lado esquerdo é convexo e o direito é côncavo. Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. *p < 0,05 comparado ao controle e #p < 0,05 comparado ao escoliótico.

Músculos	C12	E12	EA12
Abdominal	3,49 \pm 0,02	3,19 \pm 0,06*	3,39 \pm 0,01* [#]
Diafragma	3,88 \pm 0,02	3,63 \pm 0,02*	3,67 \pm 0,03*
Intercostal Direito	3,45 \pm 0,02	3,04 \pm 0,03*	3,36 \pm 0,01* [#]
Intercostal Esquerdo	3,46 \pm 0,03	2,87 \pm 0,02*	3,09 \pm 0,02* [#]
Peitoral Direito	3,28 \pm 0,03	3,06 \pm 0,03*	3,29 \pm 0,01 [#]
Peitoral Esquerdo	3,69 \pm 0,04	2,93 \pm 0,03*	3,10 \pm 0,01* [#]
Paravertebral Direito	3,41 \pm 0,03	3,22 \pm 0,03*	3,47 \pm 0,03 [#]
Paravertebral esquerdo	3,39 \pm 0,01	3,12 \pm 0,03*	3,32 \pm 0,03* [#]

4.1.1 Controle de ingesta

A avaliação do índice de ingesta dos grupos estudados, não mostrou diferença no consumo líquido ou sólido nos escolióticos se comparados ao grupo controle, como mostra a tabela 6.

Tabela 6: Controle da ingesta sólida (g) e líquida (ml) dos grupos controle (C12), escoliótico (E12) e escoliótico alongado (EA12), na 11ª semana de estudo. Os valores estão expressos em média \pm epm com significância de p<0,05, n=6.

Ingesta	C12	E12	EA12
Água (ml)	35.3 \pm 4.2	30 \pm 3.3	31 \pm 2.2
Ração (g)	68.4 \pm 3.4	64.2 \pm 2.5	63.3 \pm 3.2

4.1.2 Peptídeos hipotalâmicos

A fim de se correlacionar uma possível causa central (hipotálamo) ao não aumento de peso, dois peptídeos (NPY e POMC) foram quantificados em animais que foram submetidos a indução da curvatura até 12 semanas, não havendo diferença entre controle e escoliótico (tabela 7).

Tabela 7: Quantificação da expressão gênica (NPY e POMC) em hipotálamo dos grupos controle e escoliótico, 12 semanas. Os valores estão expressos em média \pm erro padrão da média, sendo considerado $p < 0,05$, $n=6$.

	Controle	Escoliótico
NPY	1,0 \pm 0,05	1,0 \pm 0,06
POMC	1,0 \pm 0,02	1,04 \pm 0,03

5 DISCUSSÃO

Estudos sobre escoliose na condição experimental podem ser de grande importância no que diz respeito a projeção de estudos em humanos. Assim, Gorman e Briden, (2009) reforçam o fato de que a escoliose não é exclusiva dos humanos e nem tão pouco da postura bípede, haja vista que mamíferos, onívoros, répteis e anfíbios podem apresentar essa condição. No entanto, ainda sim alguns estudos empregam modelos extremamente invasivos, que se esforçam em estimular o desenvolvimento da escoliose por meio da postura bípede (Liu et al. 2011).

O modelo de indução aplicado no presente estudo é considerado simples comparado a outros modelos experimentais apresentados na literatura. Tal fato merece destaque, uma vez que, o desenvolvimento de um modelo de escoliose não invasiva é favorável ao fator replicabilidade em todas as fases do estudo, conforme pode ser observado no presente estudo.

Um fato importante a ser destacado sobre a metodologia, se deve a relevância da indução da curvatura escoliótica, haja vista que os métodos descritos na literatura, além de serem invasivos, não apresentam similaridade na forma de aplicação, uma vez que a mesma metodologia pode não ser replicada da mesma forma, de modo que o caráter invasivo influencia diretamente na replicação do modelo (Janssen et al., 2011).

No que diz respeito ao tempo (seis e 12 semanas) de indução da curvatura escoliótica empregado no presente estudo, Sarwak et al. (1988) alegaram que no período de seis semanas já se tem a curvatura escoliótica, sendo que a partir da 12ª semana de estudo a curvatura não progride mais, uma vez que isso foi observado em condição de caráter invasivo. Embora não seja um

estudo atual, é o mais completo e preciso em descrever a metodologia, haja vista que os animais foram acompanhados da 1ª à 15ª semana de estudo, em diferentes angulações de curvatura.

Silva et al. (2008) empenharam-se em desenvolver uma metodologia não invasiva em forma de coletes (anterior e posterior) aplicados até a 6ª e até a 12ª semana, que resultou em curvatura escoliótica sinistro convexa. Convém ressaltar, que os dispositivos foram trocados semanalmente, a fim de acompanhar o desenvolvimento corporal do animal, fato este que não é possível em casos cirúrgicos (invasivos). No presente estudo, a mesma metodologia foi realizada com sucesso.

Com foco no peso dos animais, constatou-se que os grupos escolióticos, tanto os de seis, quanto os de 12 semanas, apresentaram peso menor. É importante salientar que isso não se refere à perda de peso, uma vez que em nenhum momento os animais escolióticos apresentaram-se com peso corpóreo superior ao controle.

Por outro lado, tem-se o peso do dispositivo que equivale a apenas 4,3% do peso corporal do animal, de modo que seja improvável esse peso induzir a maior gasto energético devido a sustentação do dispositivo. Outro ponto importante se deve a correlação do peso do dispositivo com a aplicação prática, visto que Ueno et al. (2011) refere que o peso máximo do material transportado não deve ultrapassar 5% e 10% do peso corporal de crianças em idade pré-escolar e em nível de 1º grau respectivamente, haja vista que é nessa fase em que as alterações de ordem patológica podem ser mais facilmente induzidas ou potencializadas.

No que se refere ao peso corporal, o índice de ingesta também não apresentou diferença entre os grupos avaliados na 11ª semana de indução escoliótica. Nem mesmo em nível hipotalâmico foi constatada alteração na concentração do NPY e POMC, que poderia ser a justificativa para a causa do não aumento do peso, uma vez que esses peptídeos são marcadores de ingesta alimentar.

Presume-se que o comportamento do peso corporal possa ser originário de alterações no trato gastroentérico ou de modulação nas funções reguladoras dos processos envolvidos na absorção, isso em consideração que a parte posterior do dispositivo exerce pressão na região abdominal. Esta hipótese se embasa no estudo de Al-Jandal et al. (2011), estudo em que os autores sugerem que alterações na absorção intestinal podem interferir diretamente no peso corporal.

Os dados referentes à avaliação comportamental não demonstraram diferença entre os grupos controle e escoliótico. Dessa forma, descarta-se a ação do modelo enquanto restritiva de deslocamento ou gerador de ansiedade, fato este que corrobora com outros estudos (Silva et al., 2008; Arruda, Silva, Guirro 2009).

O exame radiológico digital ou convencional é considerado um importante recurso, por ser à base da avaliação e acompanhamento da angulação escoliótica. No entanto, é sabido que a exposição constante a radiação pode prejudicar sistemas orgânicos e desencadear mutações genéticas, bem como neoplasias (Navarro et al., 2008; Gotfryd et al., 2011). Tal fato reitera a necessidade de minimizar a exposição e até mesmo explorar outras formas de avaliação.

A fim de obter uma análise fidedigna, o presente estudo mensurou as curvaturas escoliótica no software Alcimagem. Convém ressaltar que, muito embora Vrtovec, Pernus e Likar, (2009), apontem que ainda não há consenso no que diz respeito à quantificação da rotação vertebral, o presente estudo atesta rotação vertebral, com base no estudo de Sarwak et al (1988), que justificaram a existência de rotação vertebral no modelo animal, ao correlacionarem a curvatura escoliótica com as articulações costovertebrais.

Do ponto de vista biomecânico e funcional, a metodologia de indução mostrou-se eficaz, ao passo que tanto o grupo seis semanas, quanto o grupo 12 semanas apresentaram curvatura escoliótica em “C” sinistroconvexa, em nível toracolombar.

O grupo submetido à indução escoliótica por seis semanas, apresentou angulação de $45^{\circ} \pm 2.8$, que se manteve mesmo após a retirada do dispositivo. No estudo de Sarwak et al., (1988) a angulação obtida após esse mesmo período foi de 30° . É importante ressaltar que, o mesmo estudo utilizou de metodologia invasiva e atestou que a severidade da curvatura é diretamente proporcional ao tempo de indução.

Um diferencial relevante a destacar, é que a metodologia aplicada por Arruda, Silva e Guirro (2008), e replicada no presente estudo, de uma forma simples permite graduar a angulação da curvatura, por meio da aproximação das cinturas escapular e pélvica, de modo que esse procedimento se desenvolve em um tempo mínimo de seis semanas.

Cunha, Rocha e Cunha (2009), demonstraram que o padrão ouro na mensuração da escoliose tem sido o ângulo de *Cobb*, que é realizado a partir de exame radiológico. No entanto, visto o tamanho, bem como a morfologia das

estruturas do animal, no presente estudo optou-se por usar o programa ALCimagem 2.1, por se assemelhar com a metodologia *Cobb* e oferecer menor margem de erro.

Referindo-se a angulação da curvatura escoliótica, estudos apontam que escolioses maiores que 45° , são consideradas graves e não apresentam resultados satisfatórios frente à intervenção não invasiva, sendo assim, a indicação é cirúrgica (ZABOROWSKA-SAPETA et al., 2011; SARWAHY et al., 2011).

Contrariamente aos estudos supracitados, na avaliação da angulação na 12ª semana de indução, constatou-se $55^\circ \pm 2$, que após 10 dias sem o colete passou para $40^\circ \pm 3.2$. Por outro lado, o grupo EA12 que apresentou angulação de $56^\circ \pm 2$, imediatamente a retirada do dispositivo (12ª semana), após 10 dias consecutivos de sessões de alongamento em três séries, uma vez ao dia com ênfase na concavidade, na reavaliação apresentaram angulação de $22^\circ \pm 3$, ou seja, reversão de 34° . Tal fato expõe que uma escoliose antes considerada grave, em 10 sessões de alongamento passou para moderada com tendência a ser leve.

Um dos fatores que indicam a intervenção invasiva em casos de escolioses com mais de 45° , se dá em torno do sistema cardiorrespiratório, uma vez que, quanto maior a angulação da curvatura, maior é o comprometimento desse sistema. Isso se deve a conformação da caixa torácica e sua relação com as vértebras torácicas, que na condição escoliótica podem sofrer rotação e alterar as dinâmicas ventilação/perfusão (Liu et al., 2010; Neira et al., 2011).

O sistema cardiorrespiratório tem sido alvo de investigações frente a escoliose, pelo fato de que as estruturas envolvidas na deformação estão diretamente correlacionadas anatomicamente e funcionalmente (Rowe et al.,

2006). Nesse sentido, Liu et al. (2010), por meio de um estudo retrospectivo no período de 2007 a 2009, atestaram anormalidades cardíacas no eletrocardiograma em 36% dos indivíduos com escoliose idiopática, sendo a regurgitação tricúspide tida como anormalidade funcional mais comum (11,3%), enquanto que a comunicação interatrial apresentou-se como a anormalidade estrutural mais comum (8,7%).

O estudo supracitado aponta que muito provavelmente, o indivíduo escoliótico que tenha alteração cardíaca, após intervenção cirúrgica para correção da curvatura poderá apresentar descompensação no sistema cardíaco, fato este que deve ser levado em conta quanto a real necessidade da intervenção cirúrgica. Destaca-se ainda, que nos casos de escoliose em que o sistema cardiovascular for examinado, a ecocardiografia é mais indicada por ser mais precisa que o eletrocardiograma.

Ao se investigar a funcionalidade do coração no presente estudo, nota-se que houve alteração no eixo elétrico ventricular, condição potencialmente induzida pela curvatura escoliótica. No entanto, não houve diferença na frequência cardíaca e nem na propagação dos sinais elétricos do coração.

O aspecto metabólico da musculatura também foi alvo de investigações, sendo que no período de seis semanas, as reservas glicogênicas dos músculos peitorais, intercostais e paravertebrais do grupo escoliótico apresentaram redução média de 26%. Convém ressaltar que o hemitórax esquerdo (convexo) apresentou redução em maior severidade. Muito provavelmente, isso ocorreu devido a tensão passiva gerada pelo distanciamento entre as cinturas (escapular e pélvica), haja vista que por seis semanas o animal permaneceu com a coluna inclinada para o lado direito (côncavo).

O fato de que no período de seis semanas, os animais escoliótico apresentaram reservas glicogênicas reduzidas em menor severidade no hemicorpo direito (côncavo), é sugestivo que o tecido muscular tenha ativado mecanismos de adaptação com características de menor gasto energético, haja vista a capacidade plástica desse tecido.

É importante salientar que o músculo esquelético é dotado de uma capacidade estrutural e metabólica de se adequar as mais diversificadas condições impostas. Isso faz com que o músculo esquelético seja visto como o tecido mais mutável do corpo humano (Small et al., 2008).

Com base em estudo sobre escoliose em caráter experimental, Bylund et al. (1987), induziram escoliose em coelhos e constaram alterações miopáticas no lado côncavo e neuropáticas no lado convexo. Os animais escolióticos ainda apresentaram menor porcentagem de fibra tipo I em ambos os lados, sendo que essa alteração foi atribuída a deformidade. É importante salientar, que no estudo supracitado a metodologia foi invasiva, mas não foi expressa de forma clara.

No estudo de Werneck et al. (2008), a escoliose experimental foi desenvolvida em coelhos por meio da costotransversectomia, sendo que a vertebra T 8 foi tida como vértebra vértice. Nos achados histoquímicos e morfológicos, destaca-se que na convexidade houve proliferação de conjuntivo e reação inflamatória, seguida de isquemia. Dessa forma, os autores apontam que frente ao quadro escoliótico, o tecido muscular pode sofrer alterações importantes induzidas por isquemia. Isso pode ter influenciado o comportamento das reservas glicogênicas dos grupos escolióticos do presente estudo.

Do mesmo modo, estudos apontam que indivíduos escolióticos podem apresentar anormalidade na tipagem das fibras musculares, bem como no

metabolismo muscular. No entanto, ainda há dificuldade em estabelecer parâmetros no aspecto metabólico. Tal condição pode interferir nas dinâmicas energéticas da musculatura, com efeito na eficiência neuromuscular, condição apontada por estudos de eletromiografia (Gaudreault et al., 2005).

No mesmo sentido de investigação, Bassini et al. (2008) utilizaram a eletromiografia de superfície para avaliar a eficiência neuromuscular e fadiga muscular nos músculos extensores lombares de indivíduos com escoliose. Dessa forma, foi possível observar que indivíduos escolióticos apresentaram menor eficiência neuromuscular e nível de força 42,6% menor comparada ao grupo controle. Surpreendentemente, o grupo escoliótico apresentou simetria na ativação neuromuscular entre os lados direito e esquerdo (côncavo/convexo), seguido de maior resistência à fadiga, fato este que contrariou os pressupostos previamente estabelecidos.

Na avaliação das reservas glicogênicas de amostras bilaterais dos músculos; peitorais, intercostais, paravertebrais e amostra única do músculo diafragma de ratos submetidos à indução de escoliose por 12 semanas, seguido de 10 dias sem uso do dispositivo, os músculos: intercostal direito (côncavo) e esquerdo (convexo), paravertebral esquerdo (convexo) e diafragma (DIAF) apresentaram glicogênico reduzido de forma mais severa. Isso evidencia a alteração metabólica do tecido muscular na condição escoliótica, que se mostrou em média 17,5% mais comprometida quando comparada ao controle.

Dessa forma, o comportamento metabólico da musculatura apresentado pelos animais dos grupos escoliótico (EA e EA12), certamente foi uma resposta a modificações do comprimento muscular, haja vista que isso pode alterar o ponto ótimo em que o músculo gera tensão máxima, conforme

apresentado pelo estudo de Savelberg e Meijer, (2003), que avaliaram a musculatura de ciclistas em diferentes condições do ciclo contração/relaxamento.

Em relação a análise de proteína total, embora o músculo diafragma tenha apresentado menores valores em ambos os grupos escolióticos comparados ao controle, é importante destacar que não houve diferença E12 e EA12. No que diz respeito aos demais músculos analisados, tanto o grupo E12 quanto o EA12 apresentaram valores reduzidos em maior severidade do lado esquerdo (côncavo), sendo que conseqüentemente o lado direito apresentou-se menos comprometido.

Esses achados merecem destaque, uma vez que a relação comprimento tensão pode explicar o fato de um músculo alongado (convexo) ser favorável a síntese proteica. Porém, isso não necessariamente significa que essa condição é favorável ao melhor aporte energético (Aquino et al., 2007; Udaka et al., 2008).

Há décadas já é sabido que alterações do comprimento muscular estão associadas a deslocamentos da curva comprimento-tensão. Assim, o clássico estudo de Tabary et al. (1972) apresentou que o tecido muscular de animais, quando imobilizados em posição encurtada apresentam redução de 40% do número de sarcômeros em série, sendo que quando imobilizados em posição alongada demonstraram aumento de 19% do número de sarcômeros em série.

Muito embora o presente estudo não tenha avaliado tipagem de fibra muscular, é importante expor alguns achados da literatura, uma vez que a estabilidade dinâmica da coluna depende de músculos, cujas funções determinam seu metabolismo (Arruda, Silva e Guirro, 2008).

O estudo de Joe (1990), consistiu em desenvolver escoliose em ratos, por meio da estimulação elétrica, condição que resultou em curvatura de 18°, ao fim de três semanas de estimulação. Observou-se que no lado estimulado (côncavo), houve aumento significativo de fibras tipo I, sendo que a convexidade apresentou maior quantidade de fibras do tipo II. Isso sugere que tal condição possa ter sido acompanhada de alteração metabólica, conforme os achados do presente estudo.

Em relação a tipagem de fibra muscular, a análise histoquímica da musculatura paravertebral de coelhos apresentou proliferação de conjuntivo, infiltrado de tecido adiposo, excesso de núcleo central, reação inflamatória, seguida de hipertrofia de fibras tipo I e II em ambos os lados da coluna (côncavo/convexo). Esse estudo cogitou a hipótese de que a metodologia (transversectomia) de indução foi responsável por esses achados (Werneck et al., 2008). Vale destacar que Arruda, Silva e Guirro, (2008) apontam que o tipo de fibra pode determinar o metabolismo.

Visto as deformidades, bem como as alterações sistêmicas que a escoliose pode causar, é mais do que necessário intervir de forma precoce e eficaz. Nesse sentido, a literatura tem apresentado terapêuticas não invasivas, que mesmo nas escolioses mais graves possibilitam o retardo de uma intervenção cirúrgica. Destaca-se ainda, que as terapêuticas mais eficazes tem sido as associadas ao alongamento e estabilização (Small, Naughton e Matthews, 2008; Zaborowska-Sapeta et al., 2011).

O alongamento enquanto recurso terapêutico apresenta-se bastante eficaz, haja vista que o alongamento estático e passivo tem sido amplamente aplicado na prática clínica, pelo fato de que o principal objetivo é aprimorar a

excursão dos músculos relacionados a determinadas articulações (Kisner e Kolby, 2005).

Enquanto recurso terapêutico, o presente estudo utilizou do alongamento muscular aplicado de forma passiva ou estática, com destaque ao fato de que os animais não foram sedados ou anestesiados, de modo que o animal foi coberto por uma flanela, tendo o goniômetro enquanto instrumento de mensuração da inclinação durante o alongamento.

No que diz respeito ao lado côncavo e convexo, estudos prévios demonstraram que o músculo esquelético é dotado de uma capacidade plástica que pode aumentar ou reduzir seu tamanho em comprimento. Com atenção na redução do comprimento muscular, é necessário elucidar que a manutenção na posição encurtada pode favorecer o aparecimento de contraturas musculares (Endlich et al., 2009). Dessa forma, os animais submetidos a indução escoliótica podem estar sujeitos a alterações desencadeadas pela redução do ciclo alongamento/encurtamento.

Gomes et al. (2004), atestam que contratura muscular é o encurtamento de um músculo ou de outros tecidos moles que cruzam uma articulação, fato este que resulta em limitação da mobilidade articular e consequente hipotrofia muscular. Nesse contexto, sugere-se que no presente estudo os achados referentes a proteína total, se devem a contratura e não a imobilização.

Como exposto anteriormente, houve reversão na angulação da curvatura escoliótica do grupo escoliótico alongado (EA12), que foi submetido ao alongamento estático por 10 dias após a retirada do dispositivo na 12ª semana. Nesse sentido, o glicogênio muscular do grupo EA12 demonstrou melhores

condições quando comparado aos grupos C12 e E12, visto que os valores foram em média 9% e 18% maiores respectivamente. Destaca-se que a maior diferença entre EA12 e C12, se deu no músculo paravertebral direito (côncavo). Na comparação do EA12 com o E12 foi aferido teor glicogênico 26% maior (EA12) no músculo diafragma.

Outro fato relevante a ser discutido sobre o alongamento, se deve a sua aplicabilidade, que independe de recursos como gelo e/ou calor, uma vez que o resultado final será o aumento da flexibilidade (Signori et al., 2008). Isso deve ser pontuado de forma positiva, visto que torna o recurso ainda mais viável do ponto de vista econômico.

De forma consensual, a literatura é vasta quanto aos efeitos da imobilização/contensão no tecido muscular, que responde com hipotrofia, alterações metabólicas, bioquímicas e estruturais, tudo isso culminando em alteração funcional da musculatura envolvida. Nesse sentido, a estrutura e função dos músculos esqueléticos estão atreladas pela atividade proprioceptiva, inervação motora, carga mecânica imposta ao tecido, ciclos de estiramento/encurtamento e mobilidade articular. O comprometimento de um dos fatores citados, certamente irá impactar em atividade catabólica que culmina em hipotrofia/atrofia (Ferreira et al., 2004).

Nota-se que a metodologia aplicada no desenvolvimento da curvatura escoliótica, interfere diretamente na atividade proprioceptiva, ciclos de encurtamento/estiramento e mobilidade articular. É nesse contexto que a atividade exploratória deve ser ressaltada, haja vista que os pontos acima não interferiram na funcionalidade (exploração) do animal.

O comportamento das reservas glicogênicas do músculo diafragma, apresentou-se menor (E12 x C12) comparado ao controle. Isso certamente é reflexo do procedimento de indução da curvatura por meio da contensão. Porém, os animais submetidos ao alongamento apresentaram melhores condições, uma vez que a coluna em menor angulação pode favorecer o trabalho diafragmático.

Santos Junior et al. (2010), avaliaram o músculo diafragma de ratos submetidos à imobilização da pata posterior, por um período de 14 dias. Ao fim do período, os pesquisadores encontraram redução do peso muscular diafragmático e alteração morfométrica em caráter catabólico. É importante ressaltar, que no presente estudo o músculo diafragma apresentou menor reserva glicogênica (E12), sendo que mediante a aplicação do alongamento passivo (EA12), esse músculo apresentou-se em melhores condições até mesmo comparado ao controle. Isso reforça que o alongamento pode ativar sistemas anticatabólicos.

A surpreendente melhora encontrada no grupo EA12, pode ter embasamento no estudo de Peviani et al. (2007), que avaliaram 10 sessões intermitente de alongamento passivo do músculo sóleo. Dessa maneira, foi constatada elevação na expressão gênica do fator miogênico de diferenciação (myoD), juntamente com elevação na expressão da miostatina (regula a expressão de myoD). Assim, o estudo conclui que em curto período de alongamento, é possível estimular o remodelamento muscular por meio de diferentes vias de sinalização.

Menon et al. (2008) avaliaram o efeito do alongamento passivo aplicado no músculo sóleo de ratos. O protocolo foi aplicado em três repetições de 30 segundos a cada 48 horas, por três sessões. Os autores concluíram que o

alongamento foi eficaz na manutenção do peso muscular e número de sarcômeros.

O alongamento estimula a síntese de proteínas, bem como, o aumento do número de sarcômeros, conforme demonstrado no estudo de Yang (1997), no qual músculos mantidos em posição de encurtamento foram alongados e apresentaram aumento da liberação IGF-I e expressão de RNAm para proteínas musculares.

Um ponto importante a destacar, é que a melhora do aspecto metabólico da musculatura do grupo EA12, pode ter sido influenciada por uma citocina pró inflamatória denominada interleucina 6 (IL-6), que atua de forma direta em estados catabólicos, no intuito de manter a disponibilidade de substratos metabolizáveis, conforme evidenciado por Silva et al. (2009), que avaliaram essa citocina mediante ao desuso muscular.

Por fim, é notável que esforços tenham sido direcionados em desenvolver um modelo experimental de escoliose. No entanto, a literatura é escassa tanto em estudos que investiguem novas metodologias, quanto em estudos que abordem a questão da reversão de forma não invasiva.

É importante salientar que no presente estudo, uma curvatura classificada como grave, em um curto período de intervenção foi classificada como leve, fato este que reitera a necessidade de explorações mais aprofundadas, a fim de entender os mecanismos ligados ao processo de indução e reversão da escoliose.

Uma limitação apontada pela literatura e também encontrada no presente estudo, é o fato de que os modelos experimentais desenvolvidos em animais, não estão sujeitos a carga axial, conforme a coluna do ser humano.

Mesmo que métodos se esforcem em reproduzir esse tipo de carga, por conta de fatores morfológicos e funcionais, as estruturas humanas e animais apresentam respostas diferenciadas (Janssen et al., 2011).

Outros estudos podem ser desenvolvidos no mesmo seguimento, com atenção ao aspecto molecular, que pode explicar de forma mais clara os acontecimentos relatados nos diferentes parâmetros de análise.

Ao correlacionar os achados do presente estudo com a prática clínica fica sugestivo que o alongamento muscular enquanto único recurso foi eficaz em reverter à curvatura e melhorar/minimizar as alterações metabólicas. A metodologia utilizada favorece o estudo da escoliose experimental em diferentes angulações, visto que a metodologia é de fácil regulação. Assim, com base na gama de recursos que a fisioterapia oferece no tratamento da escoliose, o alongamento merece destaque.

6 CONCLUSÃO

1- Os períodos de seis e 12 semanas promoveram a curvatura escoliótica;

2- Na 12^a semana o efeito apresentou-se de forma mais acentuada;

3- As alterações constatadas nos grupos escolióticos sugerem inibição das vias de síntese energética e proteica;

4- O alongamento mostrou-se eficaz em reestabelecer as alterações provocadas pela escoliose, sendo verificado uma expressiva ação na concavidade, que possivelmente ativou sistemas de síntese.

Por fim, o alongamento enquanto único recurso de tratamento na condição de escoliose, mostrou-se eficaz na fisioterapia experimental, de modo que pode contribuir para a estruturação de protocolos que possam ser aplicados em indivíduos que sofrem com as deformidades causadas pela escoliose.

REFERÊNCIAS*

Al-Jandal NJ, Whittamore JM, Santos EM, Wilson RW. The influence of 17 β -estradiol on intestinal calcium carbonate precipitation and osmoregulation in seawater-acclimated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Exp Biol.* 2011 Aug 15; 214(16): 2791-8.

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

Aleissa S, Parsons D, Grant J, Harder J, Howard J. Deep wound infection following pediatric scoliosis surgery: incidence and analysis of risk factors. *Can J Surg.* 2011 Aug; 54(4): 263-9.

Aquino CF, Freire MTF, Neves NM, Ferreira PCA, Fonseca ST. Análise da confiabilidade de um método de mensuração do ângulo de pico de torque ativo dos isquiossurais. *Rev Bras Fisioter.* 2007; 11(2): 169-175.

Bassini E, Candotti CT, Pasini M, Melo M, La Torre M. Avaliação da ativação neuromuscular em indivíduos com escoliose através da eletromiografia de superfície. *Rev Bras Fisioter.* 2008; 12(1): 13-9.

Bonorino KC, Borin GS, Silva AH. Tratamento para escoliose através do método iso-stretching e uso de bola suíça. *Cinergis.* 2007; 8(2): 1-5.

Bylund P, Jansson E, Dahlberg E, Eriksson E. Muscle fiber types in thoracic erector spinae muscles. Fiber types in idiopathic and other forms of scoliosis. *Clin Orthop Relat Res.* 1987 Jan; 214: 222-8.

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): 161-164.

Coutinho EL, Educa C, Salvini TF, Vidal BC. Bouts of passive stretching after immobilization of the rat soleus muscle increase collagen macromolecular organization and muscle fiber area. *Connect Tissue Res.* 2006; 47(5): 278-286.

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

Cruz APM, Frei F, Graeff FG. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem and Behav.* 1994; 49(1): 171-176.

Cunha ALLM, Rocha LEM, Cunha LAM. Método de Cobb na escoliose idiopática do adolescente: avaliação dos ângulos obtidos com goniômetros articulados e fixos. *Coluna/Columna.* 2009; 8(2): 161-170.

Endlich PW, Farina GR, Dambroz C, Gonçalves WLS, Moyses MR, Mill JG, Abreu GR. Efeitos agudos do alongamento estático no desempenho da força dinâmica em homens jovens. *Rev Bras Med Esp.* 2009;15:200-3.

Ferreira R, Neuparth MJ, Ascensão A, Magalhães J, Duarte J, Amado F. Atrofia muscular esquelética. Modelos experimentais, manifestações teciduais e fisiopatologia. *Revista Portuguesa de Ciências do Desporto.* 2004; 4: 94-111.

Gaudreault N, Arsenault AB, Larivière C, DeSerres SJ, Rivard CH. Assessment of the paraspinal muscles of subjects presenting an idiopathic scoliosis: an EMG pilot study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2005 Mar; 10: 6:14.

Gorman KF, Breden F. Idiopathic-type scoliosis is not exclusive to bipedalism. *Med Hypotheses.* 2009 Mar; 72(3): 348-52.

Gomes ARS, Coutinho EL, Franca CN, Polônio J, Salvini TF. Effects of one stretch a week applied to the immobilized soleus muscle on rat muscle fiber morphology. *Braz J Med Biol Res.* 2004; 37: 1473-80.

Gotfryd AO, Franzin FJ, Raucci G, Carneiro Neto NJ, Poletto PR. Tratamento cirúrgico da escoliose idiopática do adolescente utilizando parafusos pediculares: análise dos resultados clínicos e radiográficos. *Coluna/Columna.* 2011; 10(2): 91-96.

lunes DH, Cecilio MBB, Dozza MA, Almeida PR. Quantitative photogrammetric analysis of the klapp method for treating idiopathic scoliosis. *Rev Bras Fisioter.* 2010; 14(2): 133-140.

Janssen MM, de Wilde RF, Kouwenhoven JW, Castelein RM. Experimental animal models in scoliosis research: a review of the literature. *Spine J.* 2011 Apr; 11(4): 347-58.

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

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

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

Konno EAB, Alves EPB, Bertolini GRF, Barbieri CH, Mazzer N. Remobilização por alongamento estático cíclico em músculo sóleo de ratos imobilizados em encurtamento. *Rev Bras Med Esporte*. 2008; 14(2): 122-25.

Liu L, Xiu P, Li Q, Song Y, Chen R, Zhou C. Prevalence of cardiac dysfunction and abnormalities in patients with adolescent idiopathic scoliosis requiring surgery. *Orthopedics*. 2010; 33(12): 882-88

Liu L, Zhu Y, Han X, Wu Y. The creation of scoliosis by scapula-to-contralateral ilium tethering procedure in bipedal rats: a kyphoscoliosis model. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2011 Aug; 36(17): 1340-9.

Machida M, Saito M, Dubousset J, Yamada T, Kimura J, Shibasaki K. Pathological mechanism of idiopathic scoliosis: experimental scoliosis in pinealectomized rats. *Eur Spine J*. 2005; 14(9): 843-8.

Menon T, Casarolli LM, Cunha NB, Souza L, Andrade PHM, Albuquerque CE, et al. Influência do alongamento passivo em três repetições de 30 segundos a cada 48 horas em músculo sóleo imobilizado de ratos. *Rev Bras Med Esporte*. 2007; 13(6): 407-410.

Navarro MVT, Leite HJD, Alexandrino JC, Costa ED. Controle de riscos à saúde em radiodiagnóstico: uma perspectiva histórica. *Hist. cienc. saude-Manguinhos*. 2008; 15(4): 1039-1047.

Müller C, Fuchs K, Winter C, Rosenbaum D, Schmidt C, Bullmann V, et al. Prospective evaluation of physical activity in patients with idiopathic scoliosis or kyphosis receiving brace treatment. *Eur Spine J*. 2011 Jul; 20(7): 1127-36.

Neira VM, Gardin L, Ryan G, Jarvis J, Roy D, Splinter W. A transesophageal echocardiography examination clarifies the cause of cardiovascular collapse during scoliosis surgery in a child. *Can J Anaesth*. 2011; 58(5): 451-5.

Ni H, Zhu X, He S, Yang C, Wang C, Zhao Y, et al. An increased kyphosis of the thoracolumbar junction is correlated to more axial vertebral rotation in thoracolumbar/lumbar adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2010 Nov; 35(23): E1334-8.

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.

Oyama J, Murai I, Kanazawa K, Machida M. Bipedal ambulation induces experimental scoliosis in C57BL/6J mice with reduced plasma and pineal melatonin levels. *J Pineal Res*. 2006; 40(3): 219-224.

Penha PJ, Amado JSM, Casarotto RA, Amino CJ, Penteado DC. Postural assessment of girls between 7 and 10 years of age. *Clinics*. 2005; 60(1): 9-16.

Peviani SM, Gomes AR, Moreira RF, Moriscot AS, Salvini TF. Short bouts of stretching increase myo-D, myostatin and atrogen-1 in rat soleus muscle. *Muscle Nerve*. 2007; 35(3): 363-70.

Rigo MD, Grivas TB. Rehabilitation schools for scoliosis" thematic series: describing the methods and results. *Scoliosis*. 2010 Dec; 24: 5-27.

Rowe DE, Feise RJ, Crowther ER, Grod JP, Menke JM, Goldsmith CH, et al. Chiropractic manipulation in adolescent idiopathic scoliosis: a pilot study. *Chiropr Osteopat*. 2006; 21: 14:15.

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

Santos-Junior FFU, 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): 215-218.

Sarwahi V, Wollowick AL, Sugarman EP, Horn JJ, Gambassi M, Amaral TD. Minimally invasive scoliosis surgery: an innovative technique in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *Scoliosis*. 2011 Aug 11; 6: 16.

Sarwark JF, Dabney KW, Salzman SK, Wakabayashi T, Kitadai HK, Beauchamp JT, Beckman AL, Bunnell WP. Experimental scoliosis in the rat. I. Methodology, anatomic features and neurologic characterization. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1988 May; 13(5): 466-71.

Savelberg HHCM, Meijer K. Contribution of mono and biarticular muscles to extending knee joint moments in runners and cyclists. *Journal of Applied Physiology*. 2003;94:2241-8.

Signori LU, Voloski FRS, Kerkhoff AC, Brignoni L, Plentz RDM. Efeito de agentes térmicos aplicados previamente a um programa de alongamentos na flexibilidade dos músculos isquiotibiais encurtados. *Rev Bras Med Esporte*. 2008 Ago; 14(4): 328-331.

Shi L, Wang D, Driscoll M, Villemure I, Chu WC, Cheng JC, et al. Biomechanical analysis and modeling of different vertebral growth patterns in adolescent idiopathic scoliosis and healthy subjects. *Scoliosis*. 2011 May 23; 6: 11.

Silva CA, Souza MZ, Luciano E, Chingui LJ. Interleucina 6 Participa dos Ajustes Metabólicos Desencadeados na Fase Aguda da Imobilização Articular - Estudo em Ratos. *Revista Portuguesa de Fisioterapia no desporto*. 2009; 3: 5-12.

Silva CA, Guirro RRJ, Fonseca W, Arruda EJ, Grasso DO. Assessment of rat behavior with induced scoliosis by polyvinil choride vest. *Jour Chin Clinic Med*. 2008; 3(11): 621-626.

Siu L, Russell JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol*. 1970 Feb; 28(2): 234-6.

Small K, Mc Naughton L, Matthews M. A Systematic Review into the Efficacy of Static Stretching as Part of a Warm-Up for the Prevention of Exercise-Related Injury. *Res Sports Med*. 2008; 16(3) :213-31

Somazz MC. O Papel da Fisioterapia na Identificação e Prevenção de Alterações da Coluna Vertebral. In: 7º Seminário de Extensão da Universidade Metodista de Piracicaba; 2005. Piracicaba. Anais da 3ª Mostra Acadêmica. Piracicaba: UNIMEP, 2005.

Stokes IA, Gwadera J, Dimock A, Aronsson DD. Mechanical modulation of vertebral and tibial growth: diurnal versus full-time loading. *Stud Health Technol Inform.* 2002; 91: 97-100.

Sweeting D, Parish B, Hooper L, Chester R. The effectiveness of manual stretching in the treatment of plantar heel pain: a systematic review. *J Foot Ankle Res.* 2011 Jun; 25; 4:19.

Tabary JC, Tabary C, Tardieu C, Tardieu G, Goldspink G. Physiological and structural changes in the cat's soleus muscle due immobilization at different lengths by plaster casts. *J Physiol.* 1972; 244: 231-44.

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

Trobisch P, Suess O, Schwab F. Idiopathic scoliosis. *Dtsch Arztebl Int.* 2010 Dec; 107(49): 875-83;

Ueno M, Takaso M, Nakazawa T, Imura T, Saito W, Shintani R, et al. A 5-year epidemiological study on the prevalence rate of idiopathic scoliosis in Tokyo: school screening of more than 250,000 children. *J Orthop Sci.* 2011 Jan; 16(1):1-6.

Udaka J, Ohmori S, Terui T, Ohtsuki I, Ishiwata S, Kurihara S, et al. Disuse-induced preferential loss of the giant protein titin depresses muscle performance via abnormal sarcomeric organization. *J Gen Physiol.* 2008 Jan;131(1):33-41.

Vrtovec T; Pernus F; Likar B. A review of methods for quantitative evaluation of axial vertebral .Rotation. *Eur Spine J.* 2009; 18(8): 1079–1090.

Weiss HR, Goodall D. The treatment of adolescent idiopathic scoliosis (AIS) according to present evidence. *Eur J Phys Rehabil Med.* 2008; 44: 177-93.

Werneck LC, Cousseau VA, Graells XS, Werneck MC, Scola RH. Muscle study in experimental scoliosis in rabbits with costotransversectomy: evidence of ischemic process. *Eur Spine J.* 2008 May; 17(5): 726-33.

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.

Yang S, Alnaqeeb M, Simpson H, Goldspink G. Changes in muscle fibre type, muscle mass and IGF-I gene expression in rabbit skeletal muscle subjected to stretch. *J Anat*. 1997; 190(4): 613-22.

Zaborowska-Sapeta K, Kowalski IM, Kotwicki T, Protasiewicz-Fałdowska H, Kiebzak W. Effectiveness of Chêneau brace treatment for idiopathic scoliosis: prospective study in 79 patients followed to skeletal maturity. *Scoliosis*. 2011; 6(1): 2.

ANEXO 1

Parecer do comitê de ética em experimentação animal da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar



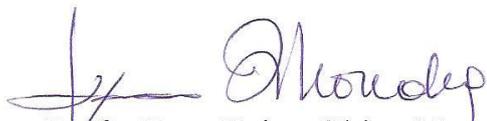
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
Comissão de Ética em Experimentação Animal
Via Washington Luís, km. 235 - Caixa Postal 676
Fones: (016) 3351.8109 / 3351.8110
Fax: (016) 3361.3176
CEP 13560-970 - São Carlos - SP - Brasil
propq@power.ufscar.br - www.propq.ufscar.br

Protocolo nº. 024/2006

A Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos – CEEA/UFSCar analisou o pedido formulado pelo pesquisador Carlos Alberto da Silva relativamente ao projeto “Desenvolvimento de órtese para promoção de escoliose em ratos”.

Considerando as informações e os documentos encaminhadas em 09/01/2009 pelo pesquisador, **APROVOU** os adendos seguintes: 1) Protocolo de estimulação elétrica neuromuscular aplicada na região convexa a região escoliótica. 2) Protocolo de alongamento muscular aplicado durante o período de indução da escoliose.

São Carlos, 17 de fevereiro de 2009.


Profa. Dra. Keico Okino Nonaka

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal

ANEXO 2

Carta de aceite da publicação referênte a presente dissertação



REVISTA BRASILEIRA DE FISIOTERAPIA/ BRAZILIAN JOURNAL OF PHYSICAL THERAPY
Rod. Washington Luís, Km 235 · Caixa Postal 676 · CEP 13565-905 · São Carlos, SP - Brasil
Telefone: +55 (16) 3351 8755 · E-mail: contato@rbf-bjpt.org.br · Site: www.rbf-bjpt.org.br

São Carlos, 21 de Dezembro de 2011.

Prezados(as) Senhores(as)

Informamos V.Sas. que o manuscrito nº Sci-1248 (247/2011), título “**Proposal of non-invasive experimental model to induce scoliosis in rats**” de *Carlos Alberto da Silva, Rinaldo Roberto de Jesus Guirro, Gabriel Borges Delfino e Eder João de Arruda* foi aceito para publicação na Revista Brasileira de Fisioterapia em 21/12/2011.

Atenciosamente

Débora Bevilaqua Grossi
Revista Brasileira de Fisioterapia
Editor