

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA**

LUCIANO JÚLIO CHINGUI

**AVALIAÇÃO DO CONTROLE AUTONÔMICO
CARDIOVASCULAR, DO GLICOGÊNIO MUSCULAR E DE
CITOCINAS PLASMÁTICAS EM RATOS ESCOLIÓTICOS**

**SÃO CARLOS
2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA**

Luciano Júlio Chingui

**AVALIAÇÃO DO CONTROLE AUTONÔMICO
CARDIOVASCULAR, DO GLICOGÊNIO MUSCULAR E DE
CITOCINAS PLASMÁTICAS EM RATOS ESCOLIÓTICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, para obtenção do Título de Doutor em Fisioterapia. Área de Concentração: Processo de avaliação e intervenção em fisioterapia cardiovascular e respiratória.

Orientadora: Profa. Dra. Aparecida Maria Catai
Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

C539ac

Chingui, Luciano Júlio.

Avaliação do controle autonômico cardiovascular, do glicogênio muscular e de citocinas plasmáticas em ratos escolióticos / Luciano Júlio Chingui. -- São Carlos : UFSCar, 2014.
124 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.


1. Fisioterapia. 2. Escoliose. 3. Exercícios de alongamento. 4. Interleucinas. 5. Frequência cardíaca. 6. Pressão arterial. I. Título.

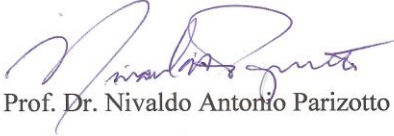
CDD: 615.82 (20^a)


FOLHA DE APROVAÇÃO

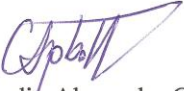
Membros da Banca Examinadora para Defesa de Tese de Doutorado de LUCIANO JÚLIO CHINGUI, apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, em 06 de junho de 2013.

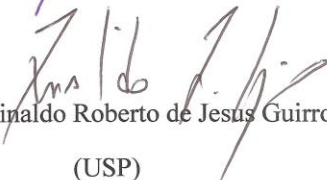
Banca Examinadora


Prof. Dra. Aparecida Maria Catai
(UFSCar)


Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto
(UFSCar)


Prof. Dra. Audrey Borghi e Silva
(UFSCar)


Prof. Dr. Claudio Alexandre Gobatto
(UNICAMP)


Prof. Dr. Rinaldo Roberto de Jesus Guirro
(USP)

Estudo realizado no programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, em parceria com o Laboratório Interdisciplinar de Pesquisa da UNIMEP e o Laboratório de fisiologia do Exercício Experimental da USP/RP.

Ao meu amado filho Matheus Chingui, a quem desejo conduzir pelos caminhos do saber científico para que ele desde já se apaixone pela diversidade e beleza da criação divina, e possa apreciar tamanha grandiosidade macro e microcós mica por meio da janela do conhecimento científico. **Dedico!**

“Meço o valor de um homem pela medida em que ele se liberta de seu próprio eu.”

Albert Einstein.

AGRADECIMENTOS

Penso que agradecer é reconhecer a pequenez, a fragilidade e a incapacidade de elaborar e materializar qualquer pensamento estruturado sozinho.

Por isso gostaria primeiramente de agradecer a Deus que é a fonte de fomento a toda forma de intelectualidade. Agradeço a Deus por me livrar da guerra, da morte, por me colocar num solo longínquo, porém, seguro, por me apresentar a tantas pessoas diferentes, por me ensinar que os laços familiares vão muito além daqueles transcritos pelo mRNA. Te agradeço Deus por me conduzires por veredas ora sinuosas, ora retilíneas, repletas de desafios de toda natureza, te agradeço por me alimentares de sabedoria e força cotidianamente, te agradeço pela possibilidade de realizar mais um trabalho intelectual, pelo valor inestimável de mais uma defesa, sei muito bem de onde me tiraste e onde me colocas hoje. Sei que não estou pronto, sou uma pedra, não tão bruta quanto antes, já possuo algum esplendor, mas, tenho plena clareza de que estou no teu processo de lapidação sem fim. Tenho a certeza de que está na hora de voltar às origens e doar daquilo que me foi dado.

Quero agradecer ao meu pai Júlio e à minha mãezinha Dorcas pela criação, pelo apoio incondicional em todos os momentos, ainda que à grandes distâncias. Agradeço aos meus irmãos e aos meus primos por adoção pelas orações e todo suporte em todos os momentos.

Quero agradecer aos meus amigos Isaias e Margareth pelo apoio imensurável, por terem sonhado comigo o sonho da academia, do mestrado e do doutorado, hoje os três sonhos se concretizam.

Agradeço à minha orientadora professora Catai por todo o zelo na orientação, pelos ensinamentos, pelo apoio, pela paciência, e pela amizade.

Meu agradecimento ao meu co-orientador professor Carlos. Pelos ensinamentos que transcendem o saber científico, pela paciência, por ter me conduzido pelos caminhos da ciência com tanto zelo e criatividade, por ter me ensinado a contemplar com olhos de águia toda a natureza que me margeia, e a valorizar todas as nuances que emanam de um ser humano.

Agradeço à minha amiga de todos os momentos, a Eza, pelo apoio, pela parceria e pela amizade.

Meus agradecimentos aos meus bons amigos e companheiros do grupo de pesquisa Daia, Eder e Adriano, pela parceria, amizade, orações e contribuições nesse trabalho.

Agradeço ao prof. Hugo Celso Dutra Filho pelo acolhimento, ensinamentos, pela disponibilização de seu Laboratório na USP/RP e materiais utilizados na coleta de dados dos experimentos de VFC e barorreflexo. E, ao João Henrique pelo suporte na realização dos experimentos de VFC e barorreflexo.

Agradeço à amiga Silvinha pela sua importante contribuição e amizade.

Agradeço aos membros da banca, prof. Nivaldo, profa. Anielle, prof. Gobatto e prof. Rinaldo por aceitarem contribuir com a construção dessa tese, são professores pelos quais tenho muito respeito e estima, e que vêm contribuindo de forma muito relevante no meu processo de formação científica.

Por fim, agradeço a todos os meus amigos pelas orações, pelo apoio em todos os momentos, a todas as pessoas que contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal, eu sou o resultado da confiança, da força e das orações de cada um.

RESUMO

As alterações anatômicas da coluna vertebral têm sido investigadas em estudos clínicos e experimentais. O presente trabalho concentrou suas análises em três vertentes: A escoliose e suas alterações no perfil metabólico da musculatura paravertebral e peitorais (estudo I), as influências da escoliose e do exercício de alongamento sobre a concentração de citocinas plasmáticas (estudo II) e o status da função autonômica cardiovascular frente à implantação da escoliose (estudo III). Os três estudos foram realizados com ratos machos divididos em diferentes grupos experimentais, com n total de 68 animais. Para a implantação da escoliose foi utilizado um modelo não invasivo constituído por um colete de filme de policloreto de vinil (PVC). Os dados foram apresentados em média \pm epm. Para a avaliação estatística os dados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov, sendo que nos estudos I e II foi seguido da análise de variância ANOVA e post hoc de Tukey ($p < 0,05$), no estudo III teste t-Student ou pela soma dos *ranks* no teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$). No *primeiro estudo* o grupo escoliótico recebeu a aplicação do colete desde as fases iniciais de crescimento (pós-desmame) até a sexta semana de crescimento, e nos estudos II e III a aplicação do colete foi até a décima segunda semana. Para a realização do primeiro estudo os animais foram distribuídos em 2 grupos experimentais de n=6: controle (C) e escoliótico (E). Os resultados desse estudo revelaram redução na relação proteína total/DNA, no conteúdo de glicogênio e no peso total dos animais escolióticos. Com esse estudo foi constatado comprometimento homeostático de músculos peitorais e paravertebrais durante o processo de indução de escoliose. No *segundo estudo* os animais foram distribuídos em quatro grupos de n=8: controle (C), alongado (A), escoliótico (E) e escoliótico alongado (EA). O alongamento consistiu de 3 séries de 30 segundos com intervalos de 10 segundos entre as séries. Os resultados revelaram importante aumento das concentrações de IL-2, IL-6 e TNF- α no grupo escoliótico, por outro lado a intervenção com exercício de alongamento foi capaz de reduzir em 4, 9 e 6% respectivamente esse aumento. Esse resultado sugere que a indução de escoliose com o modelo proposto promove desuso muscular e o alongamento se mostrou capaz de minimizar os efeitos decorrentes desse desuso. No *terceiro estudo* os animais foram divididos novamente em 2 grupos experimentais, grupo controle (C, n=12) e grupo escoliose (E, n=12). Nesse estudo a atenção foi voltada para possíveis alterações no sistema de controle autonômico cardiovascular. Foram realizadas avaliações da variabilidade da frequência cardíaca, do tônus autonômico cardíaco e da sensibilidade barorreflexa cardíaca. Com os resultados foi possível constatar que a escoliose promove uma alteração no controle autonômico, de forma que o grupo escoliótico apresenta maior modulação simpática, maior tônus vagal e maior sensibilidade baroreflexa cardíaca. Os dados sugerem que a escoliose promove alterações na função autonômica do sistema cardiovascular. No geral, os resultados desse trabalho revelam que os animais escolióticos possuem menores reservas glicogênicas e menor relação proteína total/DNA; maiores concentrações das citocinas IL-2, IL-6 e TNF- α , ao passo que os ratos escolióticos e alongados possuem menor concentração das mesmas citocinas; quanto a modulação autonômica cardiovascular a escoliose levou a maior variância total maior modulação simpática cardíaca, maior tônus vagal e maior sensibilidade baroreflexa mostrando melhor condição da função autonômica cardiovascular pela maioria dos índices avaliados nos ratos escolióticos.

Palavras-chave: Escoliose, exercícios de alongamento muscular, interleucinas, frequência cardíaca, pressão arterial, análise espectral.

ABSTRACT

The anatomical alterations of spine have been researched in experimental and clinical studies. The present study focused the analysis on the three aspects. The scoliosis and the alterations on the metabolic profile of the paravertebral and pectoral muscles (study I), the scoliosis and stretching influence in the plasma cytokines concentration (study II) and the status of cardiac autonomic function front the scoliosis implantation (study III). The three studies were performed with male rats, which were divided into different experimental groups, with a total n of 68 animals. For the scoliosis induction were applied a non-invasive model composed by vests made of polyvinyl chloride (PVC). All data were expressed as mean \pm epm. For the statistical analysis the Kolmogorov-Smirnov test was applied to investigate the normality of the data, whereas studies I and II were followed by the variance analysis – ANOVA and Tukey post hoc ($p < 0,05$), in the study III were used the Student-t test or the sum of rank in the Mann-Whitney test ($p < 0,05$). In the first study were applied vests to the scoliotic group since the initial growth phase (post weaning) until the sixth week of growth, however in the studies II and III the vests application went up to the twelfth week. To the achievement of the first study the rats were divided into 2 experimental groups with $n=6$: control (C) and scoliotic (S). The outcomes from this study showed a reduction on the relation total protein/DNA, in the glycogen content and in the total weight of the scoliotic animals. This study established a homeostatic impairment of the pectoral and paravertebral muscles during the scoliosis induction process. In the second study the animals were distributed into 4 groups with $n=8$: control (C), stretched (S), scoliotic (SG) and stretched scoliotic (SS). The stretching consisted in 3 series of 30 seconds with 10 seconds of interval among the series. The results revealed an important increase in the concentration of IL-2, IL-6 and e TNF- α in the scoliotic group, whereas the intervention with stretching exercises could achieve a decrease of 4, 9 and 6% respectively on the concentration increase. These results suggest that the proposed model used to induce the scoliosis lead to a muscular disuse and the stretching has showed to be effective to minimize the deriving consequences of this disuse. In the third study the animals were divided into 2 groups again, control group (C, $n=12$) and scoliosis group (S, $n=12$). On this study the attention referred to possible alterations in the cardiovascular autonomic control system. Evaluations of heart rate variability, cardiac autonomic tonus and cardiac baroreflex sensitivity. From these results was possible to certify that scoliosis causes an alteration in the autonomic control, being that the scoliotic group presented best sympathetic modulation, greater vagal tone and greater cardiac baroreflex sensitivity. The outcomes suggest that scoliosis promote alterations in the autonomic function of the cardiac system. In general, the results from this study demonstrated that the scoliotic animals have smaller glycogen reserves and lower ratios of total protein/DNA; higher concentration of the cytokines IL-2, IL-6 and TNF- α , while the scoliotic and stretched rats have lower concentrations from the same cytokines; referring to the autonomic modulation the scoliosis led to a higher total variance, greater sympathetic cardiac modulation, greater vagal tono and best baroreflex sensitivity proving a better condition in the cardiovascular autonomic function through the most part of the evaluated items in the scoliotic rats.

Keywords: Scoliosis, skeletal muscle stretching exercises, interleukin, heart rate, arterial pressure, spectrum analysis

ABREVIATURAS E SIMBOLOS

A – Alongado

ANILAB – Animais de Laboratório

ANOVA – Análise de variância

SBR – Sensibilidade baroreflexa

BF – Baixa frequência

C – Controle

DNA – Ácido desoxiribonucléico

E – Escoliótico

EA – Escoliótico Alongado

AF – Alta frequência

FC – Frequência cardíaca

ICC – Insuficiência cardíaca congestiva

FCI – Frequência cardíaca intrínseca

IL-10 – Interleucina 10

IL1ra – Antagonista do receptor de IL- 1

IL-2 – Interleucina 2

IL-6 – Interleucina 6

PAM – Pressão arterial média

mRNA – Ácido ribonucléico mensageiro

IP – Intervalo de pulso

PNN50 – *Número de pares de intervalos NN adjacentes com diferenças maiores que 50 ms.*

PVC – Policloreto de vinil

Pvd – Paravertebrais direito

Pve – Paravertebral esquerdo

RMSSD – Raiz quadrada da soma das diferenças entre os intervalos RR e seu adjacente elevada ao quadrado, dividido pelo número de intervalos RR num determinado período menos um

PAS – Pressão arterial sistólica

SBR – Sensibilidade do barorreflexo

SDNN — Desvio padrão dos intervalos RR

TNF- α – Fator de necrose tumoral-alfa

VFC – Variabilidade da Frequência cardíaca

VPA – variabilidade da pressão arterial

LISTA DE FIGURAS

1. Estudo I.

- Figura 1: Representação esquemática do período experimental.....31
- Figura 2: Peças que constituem o dispositivo de PVC (A) e a adaptação na cintura escapular e pélvica, bem como a aproximação dessas, a fim de provocar concavidade no lado direito do animal (B).....31
- Figura 3: Massa (g) dos ratos controle (C) e escolióticos (E) da 1ª a 6ª semana de acompanhamento. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.....32
- Figura 4: Os exames radiológicos dos grupos controle (C) e escoliótico (E), inclinação da Coluna, o que caracteriza o quadro escoliótico33
- Figura 5: Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) dos músculos paravertebrais (Pv) direito (d) e esquerdo (e) dos ratos controle (C) e escolióticos (E) após 6 semanas de escoliose. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.....34
- Figura 6: Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) do músculo peitoral (P) direito (d) e esquerdo (e) dos ratos controle (C) e escolióticos (E) após 6 semanas de escoliose. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.34
- Figura 7: Relação proteína total/DNA (mg/100mg) do músculo paravertebral (Pv) direito (d) e esquerdo (e) dos ratos controle (C) e escolióticos (E) após 6 semanas. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.35

2. Estudo II.

- Figura 1: Representação esquemática do período experimental.....44
- Figura 2: Procedimento utilizado durante o experimento para alongar a musculatura do lado côncavo dos animais. Em A e B pode-se verificar a determinação da vértebra vértece sendo: em A na radiografia do animal e em B no próprio animal; C e D mostram a aplicação do método de alongamento em que a cintura pélvica é a base fixa e a cintura escapular é a parte móvel.....45
- Figura 3: Concentração sérica de Interleucina 2 (pg/mL) dos grupos controle (C), alongados (A), escolióticos (E) e escolióticos alongados (EA). Os valores correspondem à média ± epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao escoliótico.....46
- Figura 4: Concentração sérica de Interleucina 6 (pg/mL) dos grupos controle (C), alongados (A), escolióticos (E) e escolióticos alongados (EA). Os valores correspondem à

média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao escoliótico.....47

Figura 5: Concentração sérica de TNF- α (pg/mL) dos grupos controle (C), alongados (A), escolióticos (E) e escolióticos alongados (EA). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao escoliótico.....47

Figura 6: Massa corpórea (g) dos ratos controle (cinza, C) e escolióticos (preto, E) durante o período de indução de escoliose (1^o a 12^o semana). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle.....48

3. Estudo III.

Figura 1: Representação esquemática da avaliação autonômica.....58

Figura 2: Pressão arterial média (PAM, A), frequência cardíaca basal (FC, B) e frequência cardíaca intrínseca (FCI, C) nos grupos controle e escoliótico. Valores expressos em média \pm epm. *P<0.05 comparado ao controle.....62

Figura 3: Resposta da frequência cardíaca a metilatropina (valores positivos) ou propranolol (valores negativos) nos grupos controle e escoliose. Variações absolutas (A), valores percentuais (B). Dados expressos em média \pm epm. *P<0.05 comparado ao controle.....63

Figura 4: Variabilidade do intervalo de pulso (IP): variância (ms², A), potência espectral das oscilações do IP no espectro de baixa frequência (BF), banda expressa em unidades absolutas (ms², B) e normalizadas (un, C) e potência espectral do IP no espectro de alta frequência (/af) banda expressa em unidades absolutas (ms², D) e normalizadas (un, E) nos grupos controle e escoliotico. Valores expressos em média \pm epm. *p>0.05 comparado ao controle.....63

Figura 5: Variabilidade da Pressão arterial sistólica (PAS): variância (mmHg², A), potência da PAS nos espectros de baixa frequência (BF), banda expressa em unidades absolutas (mmHg², B) nos grupos controle e escoliose. Valores expressos em média \pm epm. *p<0.05 comparado ao controle.....66

Figura 6: Valores da sensibilidade baroreflexa espontânea nos grupos controle e escoliose. Valores expressos em média \pm epm. *P<0.05 comparado ao controle.....66

Figura 7: Valores médios da sensibilidade baroreflexa (SBR), obtidos por meio de mudança na frequência cardíaca (FC) devido a mudanças induzidas na pressão arterial média (PAM), após a infusão de nitroprussiato de sódio e fenilefrina nos grupos controle e escoliose. *P<0.05 comparado ao controle.....67

LISTA DE TABELAS**1. Estudo III.**

- Tabela 1: Os efeitos da escoliose na pressão arterial basal, frequência cardíaca basal e resposta da frequência cardíaca sob a administração de bloqueadores autonômicos.....63
- Tabela 2: Efeitos da escoliose na variabilidade de intervalo de pulso, variabilidade da pressão arterial e sensibilidade barorreflexa.....65

SUMÁRIO

RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	XI
ABREVIATURAS E SIMBOLOS.....	XII
LISTA DE FIGURAS.....	XIV
LISTA DE TABELAS.....	XVI
1. CONTEXTUALIZAÇÃO.....	20
1.1 HIPÓTESE	24
1.2 OBJETIVO GERAL.....	25
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
2. ESTUDO I:	26
2.1 RESUMO.....	27
2.2 INTRODUÇÃO.....	28
2.3 MÉTODOS.....	30
2.4 RESULTADOS.....	32
2.5 DISCUSSÃO.....	35
2.6 CONCLUSÕES.....	38
3. ESTUDO II:.....	39
3.1 RESUMO.....	40
3.2 INTRODUÇÃO.....	41
3.3 MÉTODOS.....	43
3.4 RESULTADOS.....	46
3.5 DISCUSSÃO.....	48
3.6 CONCLUSÕES.....	52
4. ESTUDO III:.....	54
4.1 RESUMO.....	54
4.2 INTRODUÇÃO.....	56
4.3 MÉTODOS.....	58
4.4 RESULTADOS.....	63
4.5 DISCUSSÃO.....	68
4.6 CONCLUSÕES.....	72

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
REFERÊNCIAS.....	75
ANEXO A.....	85
ANEXO B.....	87
ANEXO C.....	100
ANEXO D.....	119
ANEXO E.....	122

1. Contextualização

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

As alterações anatômicas da coluna vertebral têm sido investigadas em estudos clínicos e experimentais especialmente com o intuito de nortear a criação de novos protocolos de tratamento, ou aprimorar os já existentes. Para tanto, se faz necessário o desenvolvimento de conhecimento científico capaz de fornecer subsídios que permitam a compreensão acerca da etiologia e das conseqüências que essas alterações podem provocar nos diferentes sistemas biológicos.

Escoliose é a alteração funcional, progressiva, que atinge a coluna vertebral e compromete a postura corporal. Apresenta deformidade nos três planos anatômicos, frontal, sagital e transversal, especialmente o plano frontal onde ocorre um desvio lateral (WINTER, 1994; LOPEZ, 1995).

Estudo antigo postulou que a escoliose atinge todas as faixas etárias, porém, possui uma evidente predileção por crianças e adolescentes. Diversos pesquisadores caracterizam a escoliose como uma modificação estrutural que atinge e compromete a funcionalidade da coluna vertebral, acomete vértebras e costelas e assim gera transtornos estéticos e funcionais, (DICKSON e LEATHERMAN, 1988).

Em razão do seu caráter progressivo, e especialmente por se desenvolver nas fases de crescimento, a escoliose tem chamado à atenção de diferentes grupos de pesquisa, tanto àqueles que atuam predominantemente no âmbito clínico, quanto aos que trabalham com modelos experimentais.

Nesse contexto Bernard et al. (2005), em estudo realizado com 115 crianças e adolescentes portadores de escoliose, revelaram a ocorrência de deformação do gradil costal, rigidez das estruturas móveis, e limitação da funcionalidade pulmonar, o que predispõe essa faixa etária a sérios comprometimentos respiratórios.

Na mesma linha Chow et al. (2005) avaliaram o carregamento de mochilas em adolescentes estudantes, e puderam constatar que os estudantes portadores de escoliose possuíam uma funcionalidade pulmonar reduzida, além disso observaram também que o uso de mochilas com peso igual ou superior a 10% do peso corporal piorou a função pulmonar dos estudantes escolióticos.

Segundo ponderações de Karachalios et. al. (1999) e Velezis, Sturm e Cobey (2002), as alterações escolióticas acometem de 1 a 3% da população de adolescentes. De acordo com a proposta de Stokes (1994) e Sevastik et al. (1995) além do desvio lateral, outra deformidade importante presente na escoliose estrutural é a rotação dos

corpos vertebrais, que ocorre sempre para o lado da convexidade da curvatura escoliótica, a rotação é responsável por outra deformidade chamada de gibosidade.

No âmbito da pesquisa experimental há uma diversidade de modelos indutores de escoliose. Os animais mais utilizados nos modelos experimentais são galinhas, cabras, coelhos e ratos, contudo, há preponderância no uso de ratos (JOE, 1990; MACHIDA, 1993; BRAUN, 2006).

Dentre os modelos, mais importantes salienta-se o de Nogami et al. (1977) que administraram em ratas beta-aminopropionitrila intraperitoneal para alterar os ligamentos vertebrais; o modelo de Beguiuristain et al. (1980) que consistiu na indução de alterações na cartilagem intervertebral de ratos; o modelo de Sarwark et al. (1988) em que os autores propuseram um modelo de indução em ratos, que consiste da sutura do ângulo inferior da escápula à pelve ipsilateralmente próxima à base da cauda; o modelo de Dabney et al. (1988) que consistiu na separação mecânica das vértebras dos ratos para limitar a movimentação; de Machida et al. (1999) fizeram pinealectomia nos ratos e sugeriram relações entre melatonina e postura; de Machida (2005), que realizaram a extirpação dos membros anteriores e da cauda de ratos, no intuito de que esse assumisse a posição bípede, porém, os resultados não evidenciaram nenhuma diferença estrutural na coluna tanto dos animais que passaram pela cirurgia quanto aos que permaneceram quadrúpede; de Braun et al. (2006) que estudaram a modulação do crescimento vertebral após fusão das vértebras; e mais recentemente Schwab et al. (2009) propuseram um modelo experimental em porcos, de forma que a escoliose foi induzida por meio da aplicação de parafusos na coluna vertebral.

Em todos esses modelos destacam-se os procedimentos invasivos necessários para a indução da escoliose. São metodologias que necessitam de grandes habilidades por parte dos pesquisadores, tempo para execução, além de envolver um alto custo nas suas realizações. Além disso, são modelos que promovem grande perda de animais em decorrência do ato cirúrgico.

Com base na proposta de Sarwark et al. (1988) de desenvolver escoliose em ratos num período de 1 a 12 semanas, nosso grupo de pesquisa buscou desenvolver uma metodologia que se diferenciasse das demais existentes. A elaboração do modelo considerou o tempo de execução, risco de perda de animais, simplicidade na elaboração, e principalmente, a inexistência de ato cirúrgico, para evitar o comprometimento das estruturas anatômicas que circundam a coluna vertebral. Se as estruturas que margeiam a coluna são mantidas em integridade então se tornam alvos da avaliação dos danos da

escoliose sobre as mesmas. Trata-se de um modelo de fácil confecção, e que em curto período de tempo (6 ou 12 semanas) permite aplicação em um grande número de animais (SILVA et al., 2008, SILVA et al., 2012).

Vale evidenciar que utilizando esse modelo, Silva et al., (2008) avaliaram o comportamento dos animais escolióticos por meio do teste de exploração em campo aberto e pelo teste de labirinto em cruz elevado, além dos índices de ingesta líquida e sólida, os resultados do estudo mostraram que os animais escolióticos não apresentam nenhuma alteração comportamental, contudo, os índices de ingesta líquida e sólida são menores em relação ao controle. Já o Trabalho realizado por Silva et al., (2012) teve o seu foco na análise do perfil metabólico, bem como na relação proteína total/DNA dos músculos paravertebrais, abdominais, intercostais e peitorais. Os resultados evidenciaram que todos os músculos tanto da concavidade como da convexidade tiveram redução da concentração de glicogênio, bem como da relação DNA/Proteína total, a avaliação da sensibilidade periférica à insulina também revelou resistência insulínica no grupo escoliótico. Nesse contexto, o presente estudo focou suas análises em três vertentes inerentes ao status de escoliose. A primeira vertente foi a compreensão do perfil quimiometabólico da musculatura paravertebral; a segunda foi a utilização do exercício de alongamento como um protocolo terapêutico, associado à análise de citocinas no processo de indução da escoliose; e a terceira se constituiu na análise de possíveis influências da escoliose na modulação autonômica do sistema cardiovascular.

O primeiro estudo realizado se baseia na avaliação do perfil metabólico da musculatura paravertebral por meio da análise das concentrações musculares de glicogênio. Essa análise foi escolhida pelo fato de o sistema muscular utilizar a glicose como seu principal substrato energético, conforme ponderações de Klip e Marette (1992). Dessa maneira, a concentração do glicogênio muscular é um importante indicador do perfil metabólico das fibras musculares.

Outro fator importante, a ser ressaltado a esse respeito, é o fato de que a capacidade das fibras musculares em captar glicose é interdependente da sensibilidade insulínica, da atividade metabólica e da sua capacidade contrátil (BELL et al., 1990; RICHARSON et al., 1991; GOODYEAR et al., 1991).

Há na literatura uma diversidade de trabalhos que avaliaram a concentração de glicogênio para constatar o perfil energético muscular em diferentes condições, com destaque para Severi et al. (2007) que estudaram os efeitos da desnervação e do tratamento com estrógeno no perfil metabólico de músculos desnervados; Chingui et

al., (2008) que analisaram as reservas glicogênicas do músculo sóleo de ratos imobilizados durante 3 dias; e Silva et al. (2009) que estudaram os efeitos da estimulação elétrica sobre a concentração de glicogênio de músculos imobilizados.

A respeito do primeiro estudo cabe uma elucidação, os autores avaliaram o efeito da escoliose sobre a concentração muscular de glicogênio após um período de 6 semanas de indução de escoliose, pois as avaliações glicogênicas no período de 12 semanas já haviam sido compreendidas com base no trabalho realizado por Silva et al., (2012). O estudo da escoliose no período de 6 semanas também tem base nas considerações de Sarwark et al., (1988) ao considerar que a escoliose pode ser implantada num período de 1 a 12 semanas.

A partir da compreensão dos efeitos metabólicos da escoliose na musculatura paravertebral, o grupo partiu para a utilização de uma proposta terapêutica muito utilizada na prática clínica em situações de distúrbios posturais, o exercício de alongamento muscular. O segundo estudo realizado se baseia na aplicação da técnica de alongamento após 12 semanas de escoliose, e na análise das citocinas plasmáticas.

A manipulação com exercício de alongamento tem sido muito utilizada na prática clínica (SALVINI et al. 2012). Seus efeitos no tecido muscular estão muito bem documentados em trabalhos realizados com animais. Entre os principais efeitos destacam-se a hipertrofia muscular decorrente do aumento de sarcômero em série (GOMES et al. 2006), e a reorganização da matriz de colágeno muscular (COUTINHO, DELUCA e SALVINI 2006).

Citocinas são proteínas de baixo peso molecular, que tem um importante papel no controle e mediação das respostas imunológicas. Na literatura científica há uma diversidade de estudos que observaram oscilações nas concentrações de citocinas frente ao exercício físico, (SOTHERN et al. 1999, CURI, 2000, e SHARON, 2000). Contudo, não foi encontrado nenhum trabalho que tenha estudado as possíveis relações entre músculos esqueléticos, exercício de alongamento e citocinas.

No terceiro trabalho a preocupação foi observar se a escoliose gerada pelo modelo experimental proposto por Silva et al. (2008) poderia provocar algum tipo de comprometimento na função autonômica cardiovascular. Para a realização do terceiro estudo foi adotada a análise da variabilidade da frequência cardíaca e da sensibilidade do barorreflexo.

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) tem sido muito utilizada para avaliar a modulação autonômica do sistema cardiovascular tanto em estudos

experimentais com animais (FAZAN, 1999), como em ensaios clínicos com humanos (TASK FORCE, 1996).

Pode-se caracterizar a VFC como o conjunto das oscilações (variações) periódicas dos intervalos R-R do eletrocardiograma. A VFC é mensurada pela avaliação dos intervalos R-R. A análise pode ser realizada no domínio do tempo, análise temporal, ou no domínio da frequência, análise espectral (TASK FORCE, 1996).

Além do estudo da VFC é possível avaliar o controle autonômico por meio do estudo da sensibilidade do barorreflexo, que se baseia em bloquear os receptores simpático e parassimpático no nó sinusal (FRANCHINI e KRIEGER, 1989).

Nesse sentido, a sensibilidade barorreflexa pode ser mensurada por meio de respostas bradicárdicas ou taquicárdicas induzidas pela infusão de fenilefrina e nitroprussiato de sódio (DIAS da SILVA et al., 2009).

Há escassez na literatura científica de trabalhos que tenham avaliado relações entre alterações posturais e funcionalidade do sistema autonômico cardiovascular. Contudo, um recente estudo realizado por Tsuchie et al. (2011) observou em humanos relações entre a postura cifótica lombar e os componentes de BF e AF. Os autores observaram que os componentes de BF e AF se mostraram reduzidos na situação de cifose lombar em relação à posição neutra, fato que evidencia alteração na modulação autonômica frente à alteração postural.

1.1. HIPÓTESE

As hipóteses do presente estudo são:

1. O processo de indução de escoliose no período de 6 semanas poderá promover redução da massa corporal bem como do conteúdo de glicogênio e da relação proteína total/DNA dos músculos paravertebrais e peitorais;
2. A escoliose pode gerar danos na musculatura paravertebral, danos esses que podem ser acentuados em presença de algumas citocinas, ao passo que a manipulação com alongamento poderá reverter os danos decorrentes da escoliose;
3. Considerando que a escoliose experimental promove alteração estrutural na coluna vertebral do rato, e que a literatura científica apresenta apenas um

estudo com relação causal entre alteração postural e modulação autonômica, compreende-se que a alteração escoliótica gerada na coluna do rato pode ser acompanhada por prejuízos na modulação autonômica do sistema cardiovascular.

1.2. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da escoliose, sobre o perfil metabólico das fibras musculares e sobre a variabilidade da frequência cardíaca e sensibilidade baroreflexa, e avaliar o efeito do exercício de alongamento sobre a concentração de citocinas plasmáticas.

1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Avaliar o perfil das reservas glicogênicas, dos músculos paravertebrais e peitorais, frente à escoliose;
- b. Avaliar o efeito da escoliose e do alongamento sobre as citocinas plasmáticas;
- c. Avaliar a influência da escoliose sobre a variabilidade da frequência cardíaca, variabilidade da pressão arterial e sensibilidade baroreflexa.

2. Estudo I

Alterações metabólicas em músculos esqueléticos de ratos portadores de escoliose induzida por colete de PVC

Luciano Julho Chingui, Aparecida Maria Catai, Eder João de Arruda, Carlos Alberto da Silva,

Manuscrito submetido ao periódico Acta Ortopédica.

2. Estudo I

Alterações metabólicas em músculos esqueléticos de ratos portadores de escoliose induzida por colete de PVC

2.1. RESUMO

Objetivo: Avaliar alterações quimiometabólicas em músculos esqueléticos de ratos portadores de escoliose induzida por colete de filme de policloreto de vinil (PVC). **Métodos:** foram utilizados 12 ratos machos, distribuídos em dois grupos: controle (C), e escoliótico (E), de forma que o grupo (E) recebeu um dispositivo ortótico desde as fases iniciais de crescimento (pós-desmame) até a sexta semana de crescimento. Após a fase experimental os animais foram eutanasiados e encaminhados para as seguintes avaliações: peso corporal, conteúdo de glicogênio dos músculos paravertebrais e peitorais bem como a relação proteína total/DNA. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade, seguidos de ANOVA e post hoc de Tukey ($p < 0,05$). **Resultados:** houve redução tanto na relação proteína total/DNA dos músculos paravertebrais e peitorais, bem como no conteúdo de glicogênio, sendo que as reduções ocorreram tanto no lado côncavo, quanto no lado convexo. No que tange massa corporal dos animais, foi observado que o grupo escoliótico apresentou menor massa em relação ao controle. **Conclusões:** O modelo experimental utilizado provocou alterações metabólicas dos músculos peitorais e paravertebrais bilateralmente. A relação proteína total/DNA muscular também sofreu um balanço protéico negativo.

Palavras-chave: Escoliose, glicogênio, músculo esquelético, metabolismo.

2.2. INTRODUÇÃO

A estabilização dinâmica da coluna vertebral é assegurada pela musculatura intrínseca e extrínseca da coluna, sendo evidente que alterações de força e resistência podem resultar em desordens posturais, (REAMY E SLAKEY 2001).

A escoliose é caracterizada como uma alteração da coluna vertebral em caráter tridimensional, onde se nota curvatura lateral maior que 10° de inclinação no plano frontal, rotação vertebral no plano axial e alteração das curvaturas fisiológicas no plano sagital, (STOKES, 1997; DEL CURTO, 2010).

A curvatura escoliótica pode ser classificada como: leve ao apresentar curvatura entre 10° e 20°, moderada entre 20° e 45° e grave acima de 45° de inclinação, entre as suas causas estão aspectos multifatoriais que envolvem alterações musculares e ou genéticas (COILLARD e RIVARD, 1996; STOKES, 1997).

De forma geral a escoliose se manifesta na infância ou adolescência, e pode afetar qualquer região da coluna e resultar em processo algico. É importante salientar que para o diagnóstico da condição escoliótica, bem como a quantificação da ou das curvaturas, faz-se necessário exame radiológico. Dessa forma é possível obter o maior número de informações e estabelecer a melhor forma de tratamento (HEBERT et al., 1998; FERREIRA e DEFINO, 1999).

Goto et al. (2003) atestam que frente ao quadro escoliótico existe fraqueza e hipotonia muscular difusa, com maior predominância nos músculos respiratórios e paravertebrais, fato este merecedor de destaque por predispor o indivíduo escoliótico a complicações secundárias.

Estudos ressaltam que a progressão da curvatura escoliótica, pode ocorrer de forma rápida e repentina, e assim pode predispor o indivíduo a uma condição altamente incapacitante; outro fator relevante apontado por esses estudos é a constatação de que se o diagnóstico e o tratamento forem realizados de forma precoce, os custos serão menores e poderá haver estabilização ou até mesmo reversão da curvatura escoliótica (FERREIRA e DEFINO, 1999; SMITH e FERNIE, 1991).

Na busca do entendimento dos mecanismos associados à condição escoliótica, o uso de modelos animais pode se configurar como uma poderosa ferramenta, tendo a possibilidade de mimetizar condições de difícil abordagem e homogeneidade da amostra, além de proporcionar resultados em menor tempo e facilitar o entendimento de inúmeros mecanismos (AMAR e LEVY, 1999).

Em uma análise dos métodos experimentais, apresentados na literatura, no intuito de induzir escoliose em ratos, pode-se constatar a predominância do caráter invasivo e de difícil realização por parte dos pesquisadores como é possível notar; Nogami et al. (1977) administraram beta-aminopropionitrila intraperitoneal alterando os ligamentos vertebrais; Tanaka et al. (1982) produziram osteolatrismo com o fármaco carbazida; Sarwark et al. (1988) estudaram trauma na coluna dos ratos; Joe (1990) estimulou eletricamente e unilateralmente ratos, a fim de gerar escoliose; Kasuga (1994) fez sutura nos músculos próximos às vértebras para instalar a curvatura escoliótica e limitar a movimentação; (Machida et al. (2005) fizeram pinealectomia em ratos e correlacionaram a concentração plasmática de melatonina com alterações posturais; Stokes et al. (2002) estudaram alterações mecânicas das vértebras, na intenção de comprometer o crescimento dos condrócitos.

Assim, a maioria dos métodos utilizados pode levar ao comprometimento de estruturas teciduais circundantes da coluna vertebral e que podem interferir nos parâmetros que poderão ser analisados tanto no desenvolvimento quanto no tratamento da escoliose.

De acordo com Bell et al. (1990) e Goodyear et al. (1991) o glicogênio é o principal substrato energético metabolizado pelo sistema muscular. Albanes et al. (1990) afirmam que a relação proteína total/DNA é um importante índice para determinar o tamanho e o número de células em um tecido. Nesse sentido, o glicogênio muscular tem sido eleito como um importante indicador da homeostasia metabólica muscular (SEVERI et al. (2007), SILVA et al. (2012), enquanto a relação proteína total/DNA tem sido utilizada para indicar a densidade de massa muscular (CHUINGUI et al. (2008). No intuito de estabelecer melhor entendimento e abordagem da condição escoliótica, o presente estudo teve como objetivo usar uma fácil metodologia para implantar escoliose em ratos, por meio de um dispositivo de policloreto de vinil (PVC) (SILVA et al., 2008 e 2012).

Dessa forma foram investigadas as seguintes variáveis: massa corporal, angulação da curvatura, concentração das reservas glicogênicas dos músculos paravertebral e peitoral, bem como a relação proteína total/DNA após seis semanas de aplicação do dispositivo de PVC indutor de escoliose.

A hipótese do presente estudo é que a metodologia utilizada para induzir escoliose será adequada para obter redução da massa corporal bem como do conteúdo de glicogênio e da relação proteína total/DNA de músculos dos animais estudados.

2.3. MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), protocolo n.º 024/2006.

2.3.1. Animais

Foram utilizados 12 ratos albinos *Wistar* a partir de 42 dias de vida (período de desmame) até a 6ª semana. Assim foram distribuídos em dois grupos experimentais (n=6, cada) sendo; Controle (C) e Escoliótico (E). Durante todo período experimental os animais foram alimentados com ração (Purina para roedores) e água “*ad libitum*”, submetidos a ciclo de 12 horas claro/escuro.

Os músculos analisados foram assim denominados: paravertebral esquerdo (Pve), paravertebral direito (Pvd), peitoral direito (Pd) peitoral esquerdo (Pe).

2.3.2. Indução da escoliose

Os dispositivos indutores de escoliose foram confeccionados em filme de policloreto de vinil (PVC) e constitui-se de duas partes, sendo uma adaptada a cintura escapular e outra na cintura pélvica. Esse dispositivo tem 0,5 mm de espessura, sendo que cada parte conta com duas circunferências para passagem dos membros. Para que o animal não seja ferido, as circunferências são revestidas com fita adesiva.

Tanto na parte da cintura escapular, quanto na parte da cintura pélvica, um anulo de arame é colocado do lado direito do dispositivo permitindo assim, a colocação de um fio metálico de 0,5 mm de espessura com 20 cm de comprimento, que tem como finalidade aproximar as cinturas de forma unilateral, a fim de instalar a curvatura escoliótica conforme a figura 2A e B.

Ressalta-se que, o dispositivo foi colocado em sistema de cinta regulável, o que permite e facilita um ajuste individual de acordo com o tamanho de cada animal.

A figura 1 corresponde à representação esquemática do período experimental.

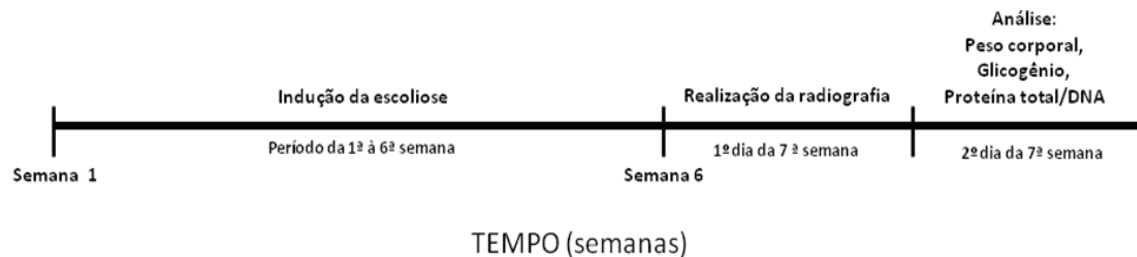


Figura 1. Representação esquemática do período experimental.

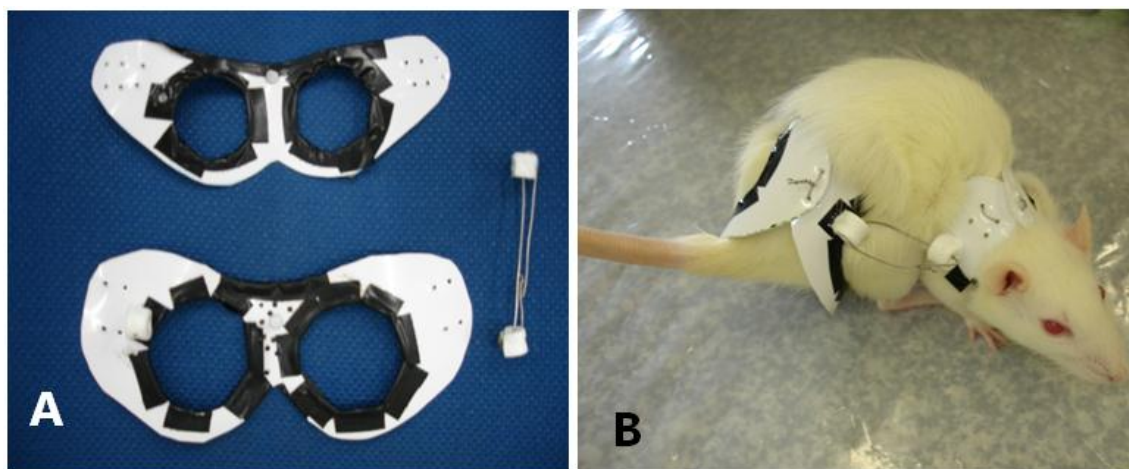


Figura 2. Peças que constituem o dispositivo de PVC (A) e a adaptação na cintura escapular e pélvica, bem como a aproximação dessas, a fim de provocar concavidade no lado direito do animal (B).

A cada sete dias os dispositivos foram retirados, para que os animais passassem por um processo de higienização com salina. Logo em seguida a massa foi aferida em balança digital e por fim, os animais recebiam novos dispositivos de acordo com o crescimento.

2.3.3. Angulação da Curvatura

Para obtenção dos dados referentes à angulação da curvatura na sexta semana, os animais foram sedados e submetidos a exames radiológicos. As radiografias foram realizadas com a distância foco-chassi de 75 cm, intensidade 50 Kvp (quilovoltagem pico) e 6 impulsos de tempo de exposição.

Posteriormente os exames radiográficos foram fotografados e analisados no software ALCIMAGEM 2003. Vale ressaltar que esse procedimento garante a qualidade e reprodutibilidade da mensuração.

2.3.4. Eutanásia e processamentos

Ao término do período de 6 semanas, os animais foram eutanasiados com pentobarbital sódico (50 mg/Kg, i.p.). A seguir, amostras bilaterais dos músculos paravertebral e peitoral, foram coletadas e prontamente encaminhadas para avaliação bioquímica do conteúdo glicogênico, de acordo com o método do fenol sulfúrico proposto por Siu, Russeau e Taylor (1970).

A determinação do conteúdo de DNA seguiu o método proposto por Giles e Myers (1965). No que diz respeito às proteínas totais, utilizou-se kit laboratorial da marca Bio Diagnóstica®.

A análise estatística foi composta pelos testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, seguido da análise de variância ANOVA e *post hoc* de Tukey, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

2.4. RESULTADOS

Inicialmente o estudo foi direcionado a avaliar a massa corporal dos animais, durante as 6 semanas experimentais. Observou-se que o grupo escoliótico apresentou valores médios $22 \pm 1,6\%$ ($p < 0,05$) menor quando comparado ao grupo controle (Figura 3).

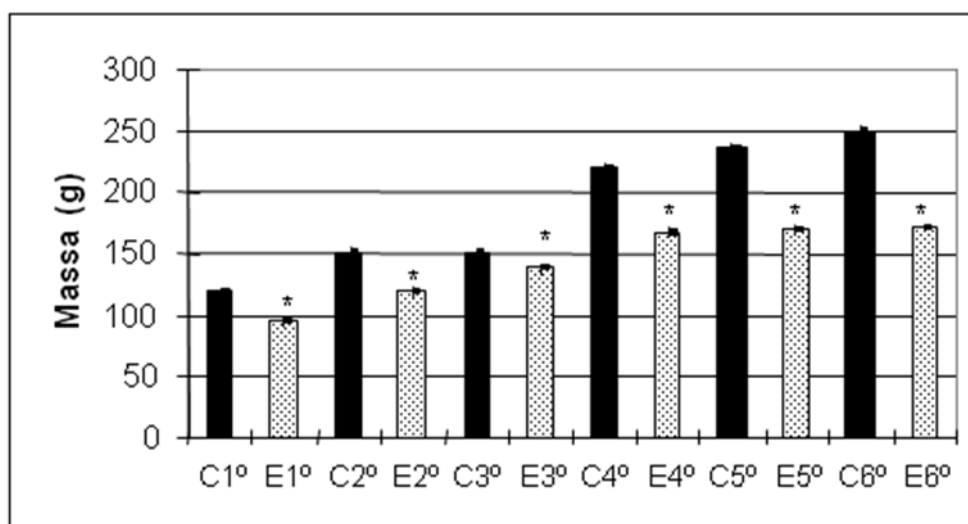


Figura 3. Massa (g) dos ratos controle (C) e escolióticos (E) da 1ª a 6ª semana de acompanhamento. Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. * $p < 0,05$ comparado ao controle.

Na análise do exame radiológico, nota-se que o grupo escoliótico (E) apresentou escoliose que se configura em “C” sinistro convexa, ângulo de $45,5\pm 3^\circ$ ($p<0,05$) de inclinação. Por outro lado, o grupo controle (C) não apresenta alteração na angulação da coluna. (Figura 4).

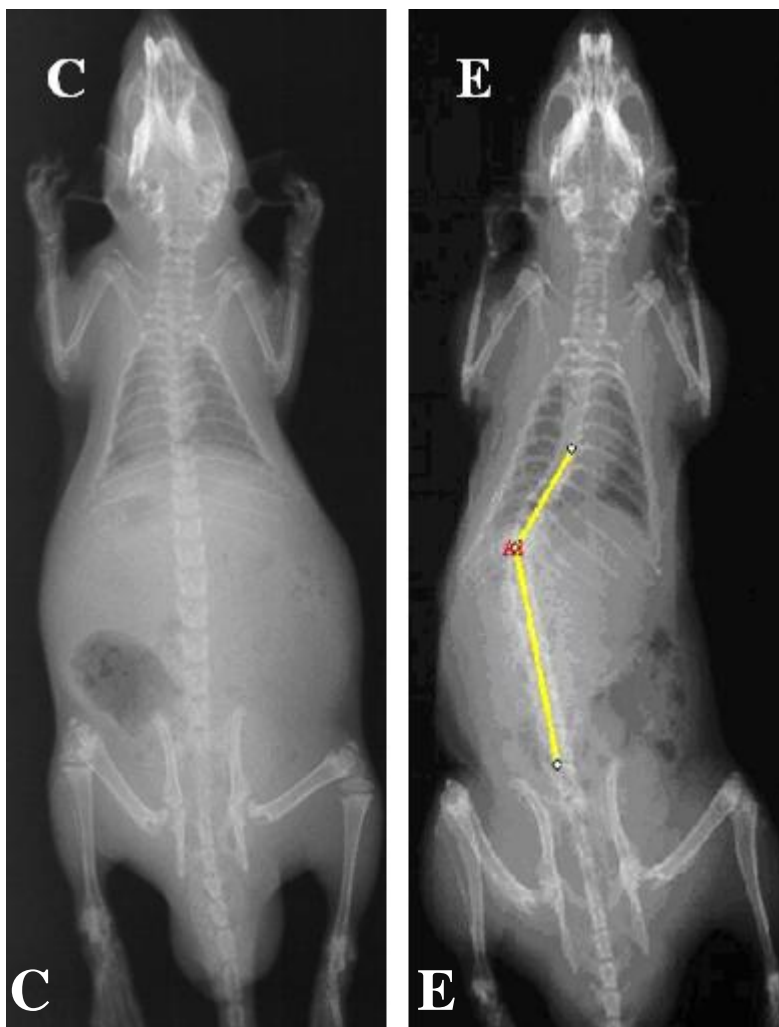


Figura 4 – Os exames radiográficos dos grupos controle (C) e escoliótico (E) evidenciam a inclinação da coluna, o que caracteriza o quadro escoliótico.

A seguir foram avaliadas as reservas de glicogênio dos músculos paravertebrais direito (Pvd) e esquerdo (Pve) comparando o grupo controle (C) com o escoliótico (E). Os dados mostram que houve diferenças estatisticamente significativas nas reservas de glicogênio dos músculos paravertebrais, atingindo 57% no músculo paravertebral esquerdo ($0,56\pm 0,01$ mg/100mg Ce x $0,24\pm 0,01$ mg/100mg Pve, $p<0,05$) e 38,5% no músculo paravertebral direito ($0,57\pm 0,04$ mg/100mg Cd x $0,35\pm 0,01$ mg/100mg Pvd, $p<0,05$) (Figura 5).

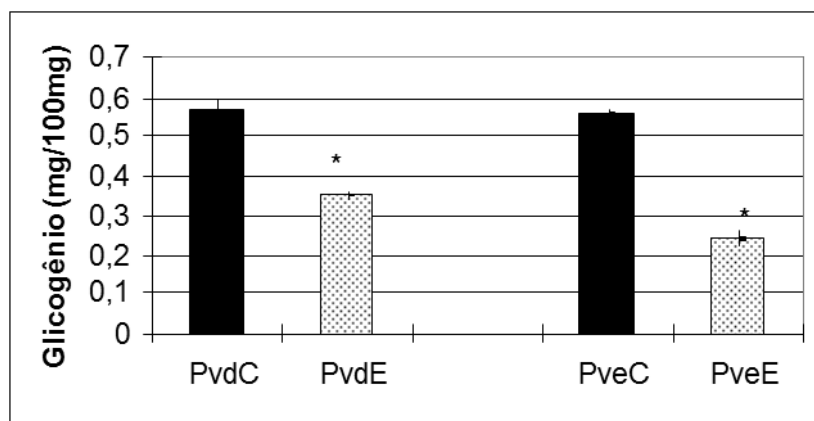


Figura 5. Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) dos músculos paravertebrais (Pv) direito (d) e esquerdo (e) dos ratos controle (C) e escolióticos (E) após 6 semanas de escoliose. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.

Dentro dos mesmos parâmetros o músculo peitoral também foi avaliado, observando-se uma redução significativa nas reservas de glicogênio atingindo 43% no músculo peitoral esquerdo (0,51 ±0,02 mg/100mg Ce x 0,29 ±0,02 mg/100mg PE) e 35% no músculo peitoral direito (0,54 ±0,03 mg/100mg Cd x 0,35 ±0,03 mg/100mg PD) como mostra a figura 6.

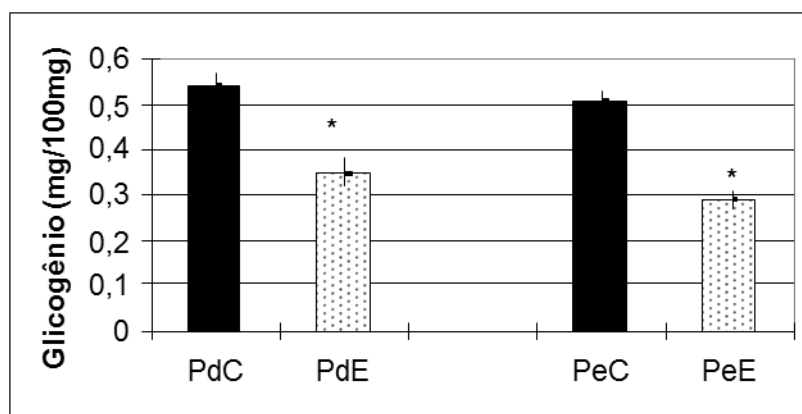


Figura 6. Conteúdo de glicogênio (mg/100mg) do músculo peitoral (P) direito (d) e esquerdo (e) dos ratos controle (C) e escolióticos (E) após 6 semanas de escoliose. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.

Por fim, avaliou-se a relação proteína total/DNA da musculatura paravertebral, onde verificou-se redução de 50% no músculo paravertebral direito e 17% no músculo paravertebral esquerdo (p<0,05), conforme pode ser observado na figura 7.

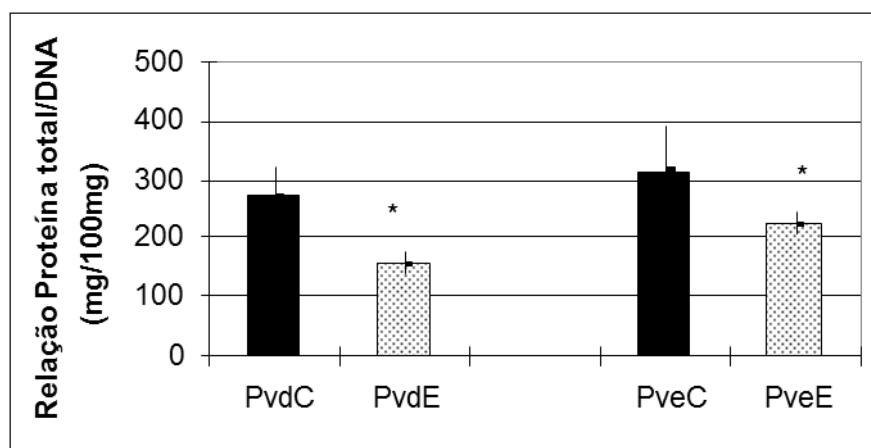


Figura 7. Relação proteína total/DNA (mg/100mg) do músculo paravertebral (Pv) direito (d) e esquerdo (e) dos ratos controle (C) e escolióticos (E) após 6 semanas. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.

2.5. DISCUSSÃO

Os principais achados do presente trabalho envolvem as concentrações de glicogênio muscular e a relação proteína total/DNA. Assim, observa-se que a reserva de glicogênio encontra-se em menor quantidade nos grupos escolióticos, tanto no músculo paravertebral como no músculo peitoral, e a relação proteína total/DNA também está reduzida nos grupos escolióticos

A literatura é escassa no que diz respeito a estudos sobre escoliose em animais se utilizando de metodologias não invasivas. E o que se encontra, são estudos de metodologias que se apóiam em técnicas invasivas de difícil realização que podem dificultar e até mesmo comprometer os resultados de uma avaliação químimetabólica. Os métodos cirúrgicos e o uso de fármacos para a indução da curvatura escoliótica afetam não só a coluna vertebral, mas também os tecidos adjacentes como os tecidos musculares, vasculares e neurais. Assim, o modelo usado no presente estudo, modelo proposto por Silva et al. (2008 e 2012), preserva todos os tecidos/estruturas que podem ser analisadas após o período de imobilização ou mesmo após intervenções terapêuticas que visem minimizar a escoliose.

As análises biomecânicas que se tem no presente estudo, estão fundamentadas em exame radiológico e configura-se como, uma escoliose sinistro convexa à nível toraco-lombar, com $45,5 \pm 3^\circ$ ($p < 0,05$) de inclinação. Na literatura há relatos de que se nesse tipo de curvatura os tratamentos conservadores não apresentarem resposta satisfatória em um curto período, a melhor opção será a intervenção invasiva por meio de técnicas cirúrgicas que podem não obter o resultado esperado (REZENDE et al.

2010).

Com base no contexto supracitado, fazem-se necessários estudos em diferentes desenhos experimentais, a fim de contribuir com a prática clínica em pacientes que apresentem a condição escoliótica, antes que esta comprometa outros sistemas orgânicos além do aparelho locomotor. Dessa forma, sabe-se que com tratamento precoce tem-se maiores chances de se obter resultados satisfatórios, no entanto, é necessário embasamento para subsidiar uma intervenção o mais precoce possível (ARRUDA et al., 2008; REZENDE et al., 2010; IUNES et al., 2010).

As concentrações de glicogênio entre os grupos indicam um comprometimento da inter-relação funcional entre a manutenção da atividade contrátil e a efetividade das vias metabólicas.

Nesse sentido, sabe-se que variações no teor glicogênico, influenciam diretamente o perfil da dinâmica contrátil do tecido musculoesquelético, dada a importância desse substrato enquanto fonte energética do tecido muscular. Dessa maneira, quando os níveis de glicogênio sofrem alterações, o rendimento muscular é diretamente influenciado. Altas concentrações de glicogênio muscular estão relacionadas ao aumento da resistência a fadiga, por outro lado, em baixas concentrações propiciam a ativação de mecanismos geradores de fadiga muscular e catabolismo (MCARDLE et al., 1998; CODERRE et al., 2007).

Um ponto merecedor de destaque é o fato de que, o músculo paravertebral esquerdo apresentou concentrações de glicogênio 19% menores, do que o mesmo músculo do lado direito. Esse mesmo efeito foi observado no músculo peitoral esquerdo, que apresentou redução de 8% se comparado ao lado direito ($p < 0,05$). Vale salientar que a concavidade é direita e a convexidade é esquerda. Nesse sentido, esperava-se que a concavidade apresentasse maior comprometimento.

O fato do conteúdo glicogênico dos músculos analisados no grupo escoliótico ter apresentado significativa redução, pode ter correlação com o tipo de fibra envolvida na avaliação, visto que Ploug et al. (1995) relacionaram maior susceptibilidade à atrofia músculos que possuem predominância de fibra tipo I.

Não se descarta a hipótese de que estes resultados possam ter influência do fator desuso, no entanto o dispositivo permite motricidade e exploração por parte do animal. Além do mais, já foi mostrado que o dispositivo não interfere no comportamento motor do animal, conforme o estudo de Silva et al. (2008).

Vale elucidar que no lado da concavidade a musculatura sofre uma importante

retração, dessa maneira, tal retração poderia gerar as alterações metabólicas observadas nesse estudo.

Outro aspecto relevante que possa sustentar o aumento das concentrações glicogênicas na concavidade é o fato de que o lado direito do animal, ou seja o lado côncavo aparenta possuir certa mobilidade. A figura 1 sugere essa observação, pois o lado convexo parece relativamente imóvel, enquanto, o lado côncavo parece possuir alguma amplitude de movimento.

Constatou-se ainda que os animais do grupo escoliótico, apresentaram massa corporal $22 \pm 1.6\%$ ($p < 0,05$) menor em relação ao grupo controle. Esse valor não é referente à perda, mas sim ao menor desenvolvimento, visto que em nenhuma semana o peso do grupo escoliótico foi maior que do grupo controle. A restrição imposta pelo dispositivo pode ter contribuído para este achado.

Cabe ainda destacar a ação da insulina, em suas ações como reguladora e moduladora do metabolismo dos carboidratos, com influência na síntese de proteína e de RNA, além da formação e armazenamento de lipídios (BRANQUINHO et al., 2008).

A insulina facilita e eleva o transporte de glicose e de aminoácidos para as células musculares e para os adipócitos, dessa maneira aumenta a síntese e armazenamento de proteínas celulares, de glicogênio muscular e de triglicerídeos nas células adiposas, além de reduzir o catabolismo protéico. Com essas funções a insulina se configura como uma importante molécula para a manutenção do sistema músculo-esquelético (BRANQUINHO et al., 2008).

De acordo com Coderre et al. (2007) e Branquinho et. al. (2008) os efeitos da insulina e da contração muscular são aditivos, para que ocorra a ativação de transportadores de glicose por diferentes mecanismos, o que influencia diretamente o aporte nutricional muscular. A aplicação do dispositivo indutor de escoliose poderia interferir diretamente no metabolismo energético, porém, pode haver uma adaptação por parte do animal se o colete for aplicado por um período maior, fato que mimetiza a condição de desuso gerada pela imobilização.

O presente estudo tem como limitação a ausência de uma análise da função pancreática versus insulina nesses animais.

2.5. CONCLUSÕES

O modelo experimental utilizado provocou comprometimentos metabólicos tanto nos músculos paravertebrais, como nos peitorais bilateralmente. A relação proteína total/DNA muscular também sofreu um balanço protéico negativo.

3. Estudo II

Influência do alongamento muscular passivo sobre a concentração de citocinas de ratos escolióticos

Luciano Julho Chingui, Aparecida Maria Catai, Carlos Alberto da Silva

Manuscrito submetido ao periódico Revista Brasileira de Fisioterapia

3. Estudo II

Influência do alongamento muscular passivo sobre a concentração de citocinas de ratos escolióticos

3.1 RESUMO

Objetivo: Analisar a concentração sérica das citocinas interleucina-2, interleucina-6, e fator de necrose tumoral-alfa após 36 sessões de alongamento muscular, em animais com escoliose. **Métodos:** Ratos machos foram distribuídos em quatro grupos de n=8, cada: Controle (C), Alongado (A), Escoliótico (E) e Escoliótico Alongado (EA). O alongamento consistiu de 3 séries de 30 segundos com intervalos de 10 segundos entre as séries. A coleta de sangue foi realizada na veia renal, com o rato sob anestesia com pentobarbital sódico (40 mg/Kg). O sangue foi encaminhado para avaliação das citocinas. A análise estatística foi realizada por meio da ANOVA, seguido do teste t-Student e os resultados expressos em média \pm erro padrão da média, $p < 0,05$. **Resultados:** O grupo A não apresentou alterações de IL-2, contudo, no grupo E a IL-2 foi maior em 8%, ao passo que, no grupo EA a IL-2 foi maior em 6%. Quanto às concentrações de IL-6, o grupo A apresentou valores 9% menores, ao passo que no grupo E os valores foram maiores em 15%, porém, no grupo EA os valores foram apenas 4% maiores. A avaliação da TNF- α no grupo A não mostrou diferença do controle, contudo, no grupo E os valores foram 10% maiores e no grupo EA foram apenas 4% maiores. **Conclusões:** As variações nas concentrações séricas de citocinas sugerem que o processo de indução da escoliose promove desuso muscular enquanto que o alongamento passivo constitui-se em um tipo de manipulação capaz de se contrapor aos danos decorrentes do processo escoliótico.

Palavras-chave: Escoliose, exercícios de alongamento muscular, interleucina-6, fator de necrose tumoral alfa

3.2. INTRODUÇÃO

Escoliose é o termo utilizado para designar o desvio lateral da coluna vertebral. Frequentemente, essa alteração estrutural e funcional promove deformidades também nos planos frontal e sagital, e pode comprometer a funcionalidade corporal (LOPES et al., 1995).

A incidência mundial de escoliose na população de adolescentes está em torno de 3%, o que é considerada alta (TROBISCH et al., 2010). Em adultos a deformidade também se expressa em grandes proporções com severos prejuízos na qualidade de vida (NEIRA et al., 2011).

A partir da concepção de que a escoliose promove na musculatura paravertebral um status de desuso (SILVA et al.2008), torna-se sugestivo pensar que algumas citocinas inflamatórias possam estar envolvidas nesse processo, pois de acordo com a revisão realizada por Kandarín e Stenverson (2002), as citocinas inflamatórias IL1 e TNF- α estão entre as moléculas capazes de desencadear hipotrofia muscular em situações de desuso. Parte desses achados foram confirmados por Chopard, Hillock e Jasmin (2009), em trabalho de revisão, em que os autores observaram a participação da TNF- α nos mecanismos indutores de hipotrofia muscular em ratos.

No aspecto fisiológico sabe-se que as citocinas são proteínas de baixo peso molecular, as quais auxiliam no controle e mediação das interações entre as células responsáveis pelas respostas imunes. Neste sentido, tem sido descrito que concomitante a prática de exercício físico há modificações na liberação sequencial de citocinas próinflamatórias (TNF- α e IL-6) e antiinflamatórias (IL-10 e IL1ra). Vários estudos têm relatado que atividade física altera a competência do sistema imunitário, tal interferência varia de acordo com o tempo e intensidade do exercício físico. Apesar dos mecanismos envolvidos ainda não estarem totalmente elucidados, há indícios de interações neuroendócrinas participantes do processo de ativação das citocinas (SHARON, 2000).

Na terapêutica para escoliose em humanos, diversas técnicas podem ser empregadas, entre as quais pode-se destacar a técnica de Klapp, a reeducação postural global e o alongamento. Vale salientar que na prática clínica a técnica de alongamento está entre as mais utilizadas (IUNES et al., 2010).

Em um recente trabalho de revisão realizado por Salvini et al. (2012), com o objetivo de se verificar os efeitos moleculares da estimulação elétrica e do exercício de alongamento em casos de desnervação, também foi observado na literatura científica

que o alongamento é uma técnica vastamente utilizada, tanto em indivíduos saudáveis, como nos processos de reabilitação e também em estudos experimentais com animais. Nesse sentido, Gomes et al. (2006) observaram em músculos de ratos, que o alongamento desencadeia um importante estímulo em mRNA de proteínas musculares, e dessa forma promove hipertrofia por aumento de sarcômeros em série.

É nesse contexto que uma diversidade de estudos experimentais que abordam alongamento em animais têm sido desenvolvidos, especialmente com a finalidade de se buscar melhor compreensão dos diferentes mecanismos moleculares desencadeados pelo exercício de alongamento.

Dessa maneira, Yang et al. (1997) ao estudarem o efeito do alongamento nos músculos extensor longo dos dedos, tibial anterior e sóleo de coelho observaram que o alongamento é uma manipulação capaz de melhorar a funcionalidade muscular pela capacidade de aumentar a vascularização, induzir mecanismos de síntese protéica, por estimular a liberação de fatores de crescimento, por reduzir a proliferação de tecido conjuntivo e conseqüentemente minimizar fibrose. Esses resultados foram observados e ratificados por Konno et al. (2008), Nesse estudo os autores induziram imobilização do músculo sóleo de ratos, e posteriormente promoveram a remobilização por meio de alongamento estático.

Além dos efeitos do alongamento no tecido muscular, estudos recentes têm dedicado esforços no sentido de entender também as ações da técnica no tecido conjuntivo intramuscular. Assim, Coutinho, DeLuca e Salvini (2006) observaram em músculo sóleo de ratos que a imobilização promove redução tanto nas proteínas musculares quanto na matriz de tecido conjuntivo intramuscular, ao passo que o alongamento do sóleo encurtado se contrapõe a esses efeitos e promove reorganização molecular das lâminas de colágeno, além de hipertrofia do músculo sóleo encurtado.

Ainda nesse contexto, em trabalhos com humanos, Whatman, Knappstein e Hume (2006) observaram melhora da amplitude de movimento em músculos ísoquitibiais em resposta ao exercício de alongamento enquanto Gallon et al. (2011) observaram que a prática dos exercícios de alongamento melhorou a flexibilidade e o desempenho muscular em mulheres idosas.

Considerando que, a escoliose promove na musculatura paravertebral um *status* de desuso, que algumas citocinas inflamatórias possam estar envolvidas nesse processo (KANDARIN e STENVERSON, 2002; CHOPARD, HILLOCK e JASMIM, 2009, e que o alongamento muscular pode propiciar modificações dessa musculatura é que justifica

o presente trabalho. Ressalta-se que, no nosso conhecimento, na literatura científica pesquisada não foram encontrados estudos que abordassem de forma conjunta escoliose, alongamento muscular e citocinas.

Nesse contexto, a hipótese do presente trabalho é de que a escoliose pode gerar danos na musculatura paravertebral, que podem ser acentuados em presença de algumas citocinas, ao passo que a manipulação com alongamento pode reverter o grau de produção de citocinas decorrentes do processo de escoliose.

Os objetivos do presente trabalho foram: avaliar a concentração sérica das citocinas IL-2, IL-6 e TNF- α após 12 semanas de indução de escoliose por meio de colete de PVC e analisar a influência de 36 sessões de alongamento sobre a concentração das mesmas citocinas.

3.3. MÉTODOS

3.3.1. Animais

Foram utilizados 32 ratos albinos Wistar adquiridos da empresa ANILAB - Paulínia, SP. Os animais foram alimentados com ração e água *ad libitum*, submetidos a ciclo fotoperiódico claro/escuro de 12h e mantidos em gaiolas coletivas (4 animais) à temperatura ambiente controlada em torno de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$. O tratamento dos animais seguiu o “*Guide for Care use of Laboratory Animals* (National Research Council, 1996)”. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (Parecer nº 024/2006.).

3.3.2. Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais, com n=8 em cada e denominados: Controle (C), Alongado (A), Escoliótico (E) e Escoliótico Alongado (EA).

3.3.3. Aplicação do dispositivo

Os animais receberam o dispositivo de PVC (policloreto de vinil) na fase pós desmame (42 dias), o dispositivo exerce inclinação da coluna para a direita, com indução de escoliose sinistro convexa ou em “C” à direita. O dispositivo foi trocado a cada 07 dias até a 12ª semana de experimento, de acordo com o modelo proposto por Silva et al. (2012).

A figura 1 ilustra as etapas do período experimental.

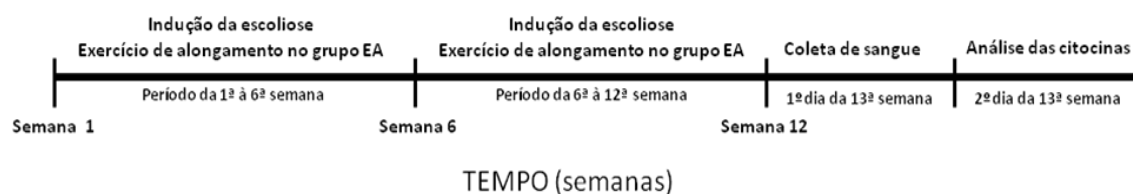


Figura 1. Representação esquemática do período experimental.

3.3.4. Alongamento

Foi utilizado um protocolo de alongamento estático, por ser de realização passiva e de fácil aplicabilidade. Esse constituiu-se de 3 séries de 30 segundos com intervalo de 10 segundos entre as séries (BANDY e IRION, 1994). O procedimento foi realizado 3 vezes por semana no período de 12 semanas totalizando 36 sessões, ou seja, o alongamento foi realizado concomitante ao desenvolvimento da escoliose.

A cada sessão de alongamento, o animal teve o dispositivo de PVC removido para que o experimentador segurasse o animal pela cintura escapular e pélvica no sentido longitudinal, e pressionasse a convexidade toracolombar com os polegares, de modo que a coluna ficasse em uma angulação de $\pm 65^\circ$ de inclinação e discreta inclinação contrária à inclinação induzida pelo dispositivo. Os animais não foram anestesiados. Convém ressaltar que a mensuração da angulação do alongamento foi realizada com uso de goniômetro, de forma que o eixo foi posicionado sobre a vértebra vértice que teve a sua superfície cutânea tricotomizada. Essa posição de alongamento foi idealizada pelo nosso grupo de pesquisa, sendo essa a primeira vez em que é utilizada, não há na literatura científica estudos que tenham alongado músculos paravertebrais de ratos. Imediatamente ao término da sessão o dispositivo de indução foi recolocado, vide figura 1.

Ressalta-se que, a medida com o goniômetro foi utilizada como critério para garantir a mesma angulação em todos os animais alongados.

3.3.5. Coleta da amostra sanguínea

A coleta do sangue foi realizada no final da décima segunda semana, por meio da veia renal sob anestesia com pentobarbital sódico (40 mg/Kg, intra peritoneal). De

cada animal foram coletados em torno de 4ml de sangue. Em seguida o sangue foi centrifugado por 10 minutos e o plasma separado foi acondicionado em *eppendorf*, armazenado em *freezer* -70° e posteriormente encaminhado para a análise de citocinas.

3.3.6. Dosagem sérica de IL-2, IL-6 e TNF- α

Para determinação das citocinas séricas foi utilizado o método ELISA, seguindo as especificações correspondentes ao Kit (Bio Source International) (NISHIYAMA et al., 2000).

3.3.7. Análise Estatística

A análise estatística foi inicialmente realizada pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov. Uma vez constatada a distribuição normal das variáveis, os dados foram submetidos à ANOVA de uma via. Sempre que a diferença foi apontada, deu-se continuidade à análise por meio do teste t-Student. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média, $p < 0,05$.

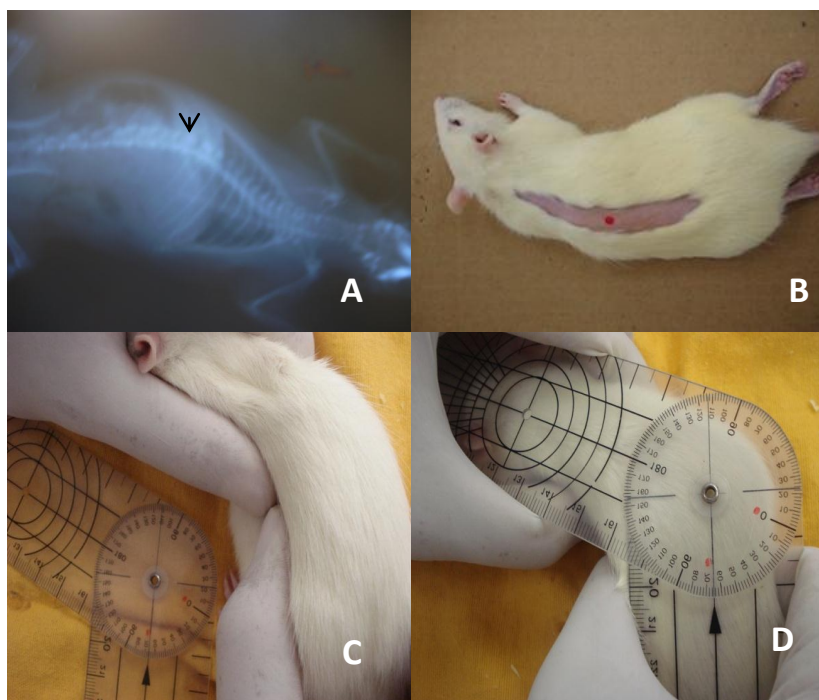


Figura 2. Procedimento utilizado durante o experimento para alongar a musculatura do lado côncavo dos animais. Em A e B pode-se verificar a determinação da vértebra vértice sendo: em A na radiografia do animal e em B no próprio animal; C e D mostram a aplicação do método de alongamento em que a cintura pélvica é a base fixa e a cintura escapular é a parte móvel.

3.4. RESULTADOS

A concentração sérica da Interleucina-2 (IL-2) não apresentou diferença estatística entre os grupos controle e o submetido às sessões de alongamento, enquanto no grupo escoliótico foram verificados valores 8% maiores, sendo as diferenças estatisticamente significantes se comparadas ao controle. O grupo escoliótico submetido a alongamento também apresentou diferença estatística em relação ao grupo escoliótico não tratado e as concentrações séricas ainda permaneceram 6% maiores que os valores constatados no grupo controle, como mostra a figura 3.

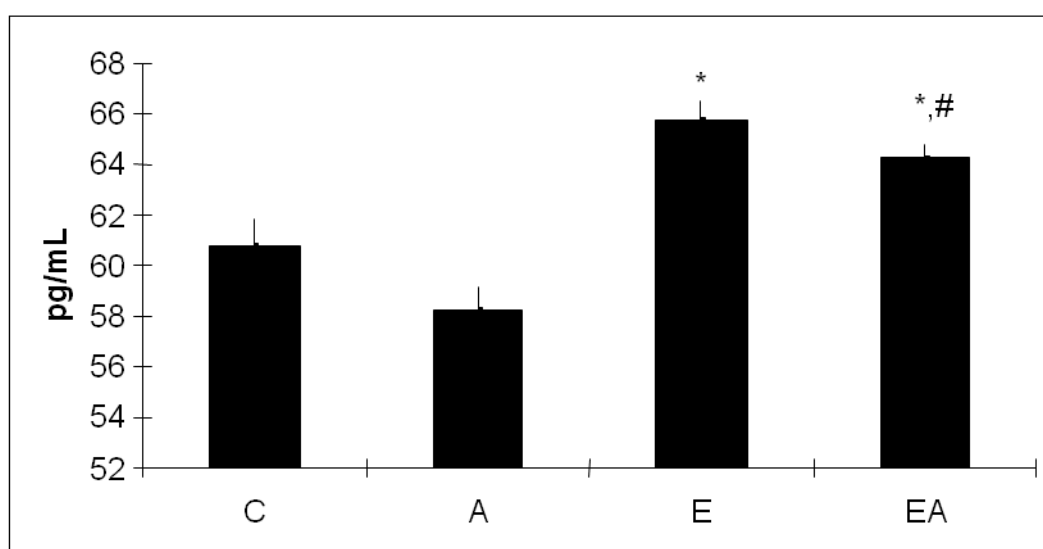


Figura 3. Concentração sérica de Interleucina 2 (pg/mL) dos grupos controle (C), alongados (A), escolióticos (E) e escolióticos alongados (EA). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao escoliótico.

Quanto a concentração sérica de interleucina 6, os resultados também mostram diferenças estatísticas; observa-se que os valores foram 9% menores no grupo alongado comparativamente ao controle. Um fato importante foi observado no grupo escoliótico onde as concentrações séricas apresentaram valores 15% maiores em relação ao controle, ao passo que no grupo escoliótico alongado as concentrações foram somente 5,7% maiores, que as do grupo controle (figura 4). Na comparação entre os grupos escolióticos, observa-se que o alongado (EA) apresenta valores estatisticamente menores.

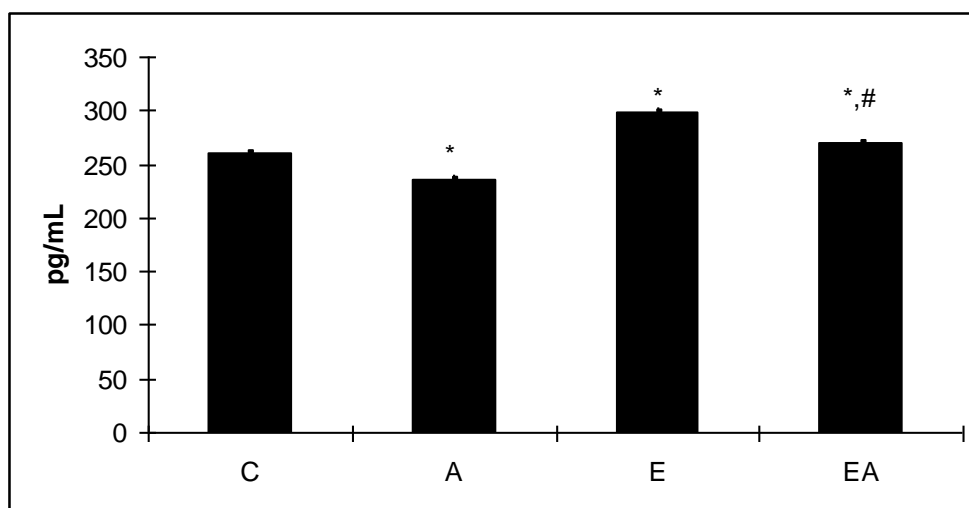


Figura 4. Concentração sérica de Interleucina 6 (pg/mL) dos grupos controle (C), alongados (A), escolióticos (E) e escolióticos alongados (EA). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao escoliótico.

Na avaliação das concentrações séricas do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), não foram verificadas diferenças entre os grupos alongados e controle. Quanto ao grupo escoliótico verificou-se valores 10% maiores que o controle, enquanto o grupo escoliótico alongado apresentou valores somente 4% maiores nas concentrações séricas de TNF- α , comparativamente ao controle, como pode ser observado na figura 5.

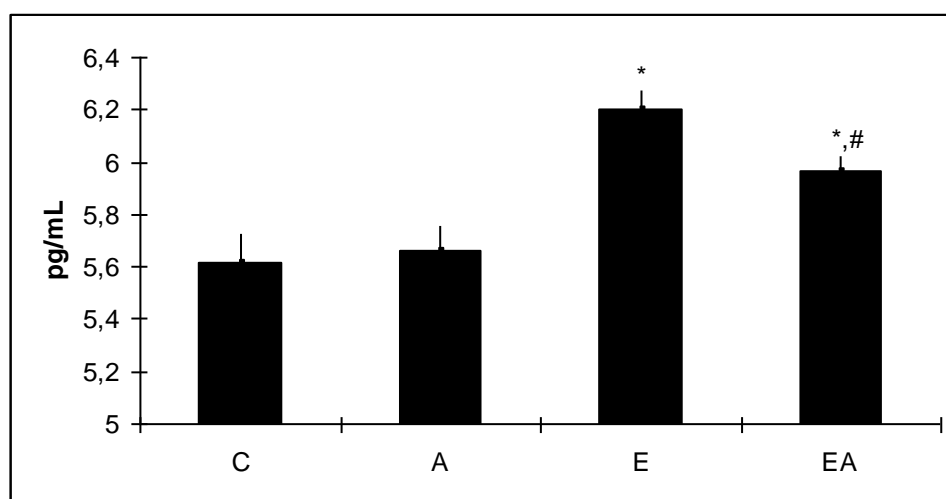


Figura 5. Concentração sérica de TNF- α (pg/mL) dos grupos controle (C), alongados (A), escolióticos (E) e escolióticos alongados (EA). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao escoliótico.

Na análise geral entre os grupos escolióticos, observa-se que o escoliótico alongado apresentou menores valores de IL2 (Fig2), IL6 (Fig3) e TNF- α (Fig4), em relação ao grupo escoliótico, com diferenças estatisticamente significantes.

Na avaliação da variação da massa corporal dos animais durante as 12 semanas de indução de escoliose, por colete de PVC, foi observado que os ratos escolióticos apresentaram valores médios 29,4% menores se comparados ao controle, como pode ser observado na figura 6.

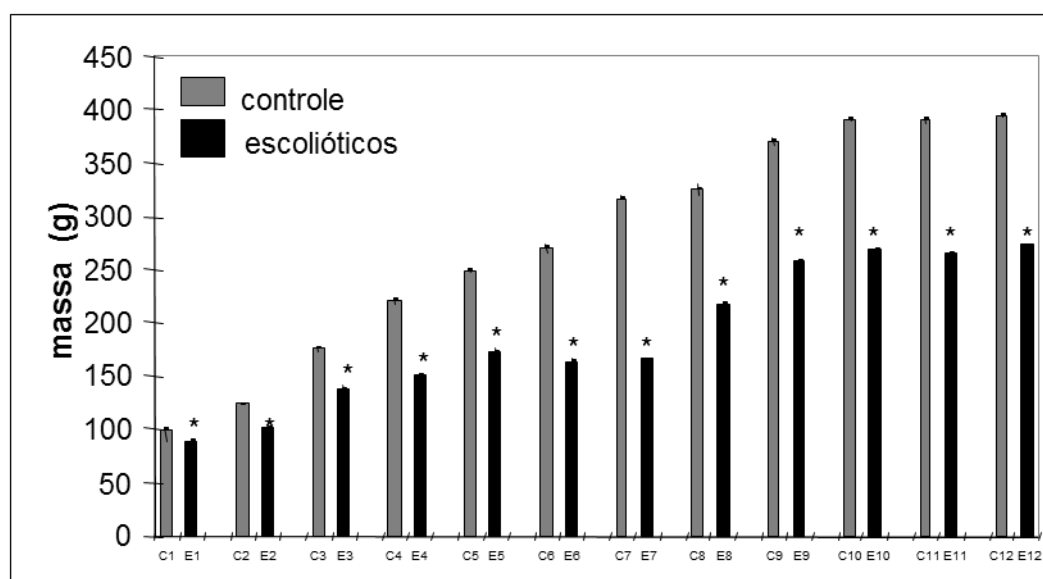


Figura 6. Massa corpórea (g) dos ratos controle (cinza, C) e escolióticos (preto, E) durante o período de indução de escoliose (1ª a 12ª semana). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle.

3.5. DISCUSSÃO

O principal achado do presente estudo é que o grupo de ratos jovens com escoliose induzida por colete de PVC e submetidos a 36 sessões de alongamento de musculatura paravertebral apresenta menores valores das concentrações plasmáticas de IL-2, IL6 e TNF- α , comparativamente ao grupo escoliótico.

De acordo com Pedersen (2001), a frequência, a intensidade e a duração da atividade do exercício físico podem induzir modificações no perfil sérico das citocinas. Contudo, não foram encontrados estudos avaliando a concentração de citocinas frente ao exercício de alongamento em ratos escolióticos.

As citocinas pró-inflamatórias favorecem a produção de reações inflamatórias no organismo. São elas: IL-1, IL-6, IL-8, fator de necrose tumoral- α (TNF α) e aquelas produzidas por células Th1 (IL-2 e interferon- γ). As citocinas com ação anti-inflamatória favorecem a produção de imunoglobulina E, e ativação e/ou produção de eosinófilos, nesse grupo se encontra o receptor antagonista de IL-1, o fator de crescimento de transformação- β (TGF- β), e as citocinas produzidas por células Th2 (IL-4, IL-5 e IL-10). Um desequilíbrio entre as citocinas pró e anti-inflamatórias pode induzir respostas inflamatórias (KELLY et al., 2001).

A IL-2 exerce efeito regulador na maioria das células corporais, especialmente células do sistema imune, ela é primariamente produzida pelos linfócitos T e linfócitos NK, e exerce um importante papel nas respostas celulares humorais e inflamatórias (JANEWAY et al., 1996).

As ações da IL-2 incluem a estimulação da proliferação e diferenciação de células B e T, elevação da citotoxicidade de linfócitos tanto pelas células NK como pelas células citotóxicas, ativação de monócitos/macrófagos, e a liberação de outras citocinas como TNF- α e IFN γ (STEENSBERG et al., (2002).

No que se refere as concentrações de IL-2, observa-se que os valores são maiores nos grupos escolióticos comparativamente ao controle, contudo, o alongamento promoveu importante modificação, uma vez que o grupo escoliótico alongado apresentou menor concentração dessa interleucina em comparação com o grupo escoliótico.

A comparação entre o grupo apenas alongado com o grupo controle não mostrou diferenças significativas na concentração de IL-2. Esse evento pode ter ocorrido pela ausência de qualquer processo inflamatório no grupo apenas alongado, pois de acordo com Kelly et al., (2001), a IL-2 e o TNF- α são citocinas pró-inflamatórias, ou seja, estão entre as citocinas que favorecem as reações inflamatórias. Nesse sentido, acredita-se que as concentrações dessas duas citocinas não sofreram alteração devido a ausência de processo inflamatório no grupo que foi somente alongado.

Quanto à concentração plasmática da IL-6 foi observado que o alongamento também reduziu suas concentrações, esse efeito ocorreu tanto no grupo apenas alongado, quanto no grupo escoliótico alongado.

A IL-6 é uma molécula de sinalização intercelular tradicionalmente associada ao controle de respostas imunológicas. Ela é secretada pelos macrófagos e linfócitos em resposta a lesão ou infecção (PEDERSEN e TOFT, 2000).

Com relação ao músculo esquelético, sabe-se que a elevação de citocinas pró-inflamatórias como a IL-6, geralmente ocorre em consequência de lesão no tecido muscular induzida por atividades de alta intensidade (KELLER et al., 2001).

No entanto, cabe salientar que, já foi descrito que a produção da IL-6 durante o exercício ocorre mesmo na ausência de lesão muscular induzida pelo exercício ou em exercícios de intensidade leve em que a concentração de IL-6 apresenta-se reduzida (STARKIE et al 2001). Esses fatos poderiam corroborar os achados do presente estudo onde foram encontradas menores concentrações de IL-6 após sessões de alongamento.

A partir dos resultados observados, bem como da compreensão do papel das citocinas no metabolismo muscular, compreende-se que o processo de indução de escoliose pode ser um método que promove desuso muscular, devido a imobilização da musculatura paravertebral sob os coletes (SILVA et al., 2012). Por outro lado, a intervenção com o exercício de alongamento mostrou resultados importantes no sentido de reduzir as citocinas IL-2 e IL-6, nos grupos escolióticos submetidos a alongamento.

Outra observação de grande valor é que a aplicação da técnica em ratos normais, ou seja, em ratos que foram apenas alongados, também resultou na redução significativa da concentração da IL-6. Evidentemente, esse fato sugere que o alongamento não provocou lesão muscular e que trata-se de uma técnica que pode ser utilizada também como meio de prevenção dos efeitos do desuso muscular.

Os resultados também mostram que a massa corpórea do grupo escoliótico foi significativamente menor que a massa do grupo controle. Classicamente os processos de desuso promovem redução na sensibilidade insulínica, redução na eficiência das vias responsáveis pela geração de reservas de substratos metabolizáveis e aumento no catabolismo, e assim promovem hipotrofia (HIROSE et al., 2000). Este comprometimento no desenvolvimento da massa muscular poderia explicar a menor massa corporal dos animais escolióticos.

Neste aspecto, possivelmente o desuso promovido pelo colete, possa ter promovido catabolismo pela redução e limitação na capacidade contrátil. Sabe-se ainda que elevação na concentração sérica de IL-6 também tem relação com o maior estresse mecânico muscular, fato que pode ter ocorrido, por imposição do colete utilizado no processo de indução da curvatura escoliótica (SUZUKI et al., 2003).

Por outro lado, o estudo de Silva et al. (2008) mostrou por meio dos testes de exploração do campo aberto e do labirinto em cruz elevado, que os animais escolióticos não possuem nenhuma alteração no comportamento, mas os índices de ingesta líquida e sólida são menores.

Segundo observações de Keller et al. (2001), músculos esqueléticos de humanos sob atividade física ativaram a transcrição do gene de IL-6, e esta resposta foi particularmente aumentada quando o conteúdo de glicogênio muscular era baixo. A partir destes achados os mesmos autores estabeleceram que o tecido muscular é uma fonte de produção de IL-6, e que a concentração de glicogênio muscular pode ser um determinante crítico que regula a resposta desta molécula glicoproteica ao exercício.

Pedersen et al. (2001), sugeriram que a interleucina-6 é produzida setorizadamente pelo músculo esquelético e secretada na circulação em grandes quantidades, assim, é sugestivo o fato de que a IL-6 pode exercer um importante papel na manutenção da homeostasia da glicose, fato que caracteriza ação similar a um hormônio, e otimiza a resposta metabólica durante a atividade muscular.

No aspecto deste trabalho observa-se que a musculatura escoliótica apresenta crise energética que pode ter sido gerada por baixas reservas glicogênicas ou possíveis microlesões teciduais, as quais possibilitam a sinalização para produção e liberação aumentada de IL-6. O trabalho realizado por Silva et al. (2012) observou baixas reservas glicogênicas em músculos da curvatura escoliótica.

Quanto à concentração sérica de TNF- α , foram observadas concentrações séricas maiores no grupo escoliótico, as quais se apresentam reduzidas no grupo escoliótico alongado. Nesse sentido, pode-se inferir que o imobilismo gerado pelo colete pode proporcionar um *status* geral estressor marcado por elevação nas concentrações de glicocorticóides. Vale lembrar que a TNF- α é muito sensível aos glicocorticóides, fato que indica que as variações fisiológicas neste hormônio podem exercer importante papel na regulação da produção de TNF- α e também de outras citocinas como a IL-1 β e IL-6 (DERIJK et al., 1997).

O fator de necrose tumoral (TNF- α) está inserido no grupo de citocinas pró-inflamatórias e atua de maneira significativa na coordenação das respostas inflamatórias do organismo. A partir da compreensão de que o exercício físico pode romper a homeostasia celular, não é surpreendente que este possa elevar as concentrações plasmáticas de várias citocinas.

Sabe-se que o TNF- α , também é expresso no músculo esquelético humano (STARKIE et al, 2001), e está associado também à resistência insulínica e a diabetes tipo 2 (KERN et al, 2001). Possivelmente, o status energético do músculo esquelético pode ter relações com o aumento do TNF- α (STEENSBERG et al, 2002). Apesar de altas concentrações do RNAm de TNF- α terem sido demonstradas no tecido muscular em pacientes com resistência a insulina, não se pode afirmar a existência de uma relação causal entre insulina e TNF- α (KROGH-MADSEN et al., 2004).

É importante salientar que o alongamento é um recurso terapêutico manual de alta efetividade, trata-se de uma técnica que tem sido amplamente aplicada na prática clínica de reabilitação, e seus efeitos têm sido fundamentados em diferentes trabalhos experimentais com animais (YANG et al., 1997; COUTINHO, DELUCA e SALVINI, 2006 ; GOMES et al., 2006; SALVINI et al., 2012). Contudo, não encontramos relatos na literatura científica entre alongamento e interleucinas.

Diante de todas as considerações é importante ressaltar que o trabalho em tela, bem como o modelo experimental utilizado traz contribuições ao evidenciar alterações nas citocinas frente ao *status* de escoliose e ao exercício de alongamento.

O presente estudo apresenta algumas limitações. A primeira delas é que o protocolo de alongamento foi realizado sem anestesia, com isso, não foi possível avaliar presença ou não de dor durante o procedimento; a segunda é o fato de que uma avaliação bioquímica de enzimas da via de sinalização insulínica, poderia expressar de forma mais precisa eventos deflagrados pela escoliose no sistema muscular, bem como os benefícios decorrentes do processo de alongamento; e a terceira limitação é a ausência de uma avaliação da tipagem das fibras musculares.

3.6. CONCLUSÕES

A intervenção com alongamento passivo, aplicada durante 36 sessões, concomitantemente à indução de escoliose, promoveu uma significativa redução das concentrações das citocinas IL-2, IL-6 e TNF- α , em ratos escolióticos. Dessa maneira, esse trabalho sugere que o processo de indução de escoliose promove uma situação de desuso muscular, ao passo que o alongamento passivo se configura como um tipo de manipulação capaz de se contrapor aos danos decorrentes do processo escoliótico.

Adicionalmente, a aplicação da técnica em ratos que foram apenas alongados, também resultou em redução significativa da IL-6. Esse fato sugere que o alongamento passivo pode ser utilizado também como técnica de prevenção dos efeitos do desuso muscular.

4. Estudo III

Alterações na variabilidade da frequência cardíaca e na sensibilidade barorreflexa em ratos escolióticos

Luciano Julho Chingui, Carlos Alberto da Silva, João Henrique Dutra Blanco, Sílvia C. G. Moura, Hugo Celso Dutra de Souza, Aparecida Maria Catai

4. Estudo III

Alterações na variabilidade da frequência cardíaca e na sensibilidade barorreflexa em ratos escolióticos

4.1 RESUMO

A escoliose é uma alteração na coluna vertebral que tem se configurado como foco de pesquisa no âmbito clínico e experimental. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da escoliose na variabilidade da frequência cardíaca e na sensibilidade barorreflexa. Foram utilizados ratos *Wistar* machos divididos em 2 grupos experimentais grupo controle (C) n=12 e grupo escoliose (E) n=12, após 12 semanas de indução de escoliose com órtese de PVC. Foram realizados registros dos intervalos de pulso (IP) e de pressão arterial sistólica (PAS), e as seguintes avaliações: a) medida do tônus autonômico cardíaco; b) análise espectral das séries temporais de IP e PAS, a qual quantifica os componentes de baixa frequência (BF) e alta frequência (AF) e a razão BF/AF; c) a sensibilidade barorreflexa (BRS) induzida por drogas vasoativas ou a SBR espontânea. A VFC e a PAS foram mensuradas sobre o registro basal de 60 minutos e processadas por um programa de computador. Os resultados foram apresentados em média \pm epm. Para a avaliação estatística foi utilizado o teste t-Student e o teste de Mann-Whitney, conforme necessário. A significância foi fixada em $p < 0,05$. Os resultados mostram que a variância total, e os componentes espectrais de BF, AF em unidades absolutas e a razão BF/AF foram maiores no grupo E, mas em unidades normalizadas a BF foi maior no grupo E e a AF maior no grupo C, o tônus autonômico vagal foi maior no grupo E, e a SBR também se mostrou maior no grupo E. Os resultados indicam que o modelo experimental de escoliose utilizado nesse estudo foi capaz de provocar alterações na função autonômica do sistema cardiovascular sendo que essas alterações podem ter sido geradas pelo estresse induzido pela implantação da escoliose, bem como pela deformação mecânica provocada pela escoliose.

Palavras-chave: Escoliose, frequência cardíaca, análise espectral, barorreflexo

4.2 INTRODUÇÃO

A escoliose é uma alteração anatômica da coluna vertebral, caracterizada por deformidade de intensidade variável. A alteração na curvatura da coluna possui caráter progressivo, e pode se apresentar com desvios nos planos frontal, sagital e transversal (NI et al., 2010).

Atualmente o tema escoliose tem se configurado como uma vertente importante tanto no âmbito clínico como na pesquisa experimental. Pelo fato de possuir caráter progressivo, e principalmente por ser desencadeado nas fases de crescimento (ZABOROWSKA-SAPETA et al. 2011), e por acometer de 1 a 3% da população de adolescentes (KARACHALIOS et. al. 1999); (VELEZIS, STURM e COBEY, 2002), a escoliose exige uma atenção especial por parte dos profissionais da saúde.

Há na literatura diversos trabalhos dedicados ao estudo da escoliose em modelos animais, entre os principais se destacam os estudos de Joe (1990) que estimulou eletricamente e unilateralmente musculatura de ratos na tentativa de gerar alterações na coluna vertebral; Machida et al. (1999) observaram alterações na coluna em decorrência de pinealectomia em ratos; e Schwab et al. (2009) que retiraram os ligamentos posteriores da coluna vertebral de porcos e fizeram uma fixação ipsilateral com parafusos.

Com vistas à um modelo não invasivo, recentemente nosso grupo de pesquisa validou um modelo indutor de escoliose em ratos, modelo baseado na fixação de um colete feito de PVC (SILVA et al., 2008; SILVA et al., 2012). A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) se constitui como um sensível indicador do status da saúde cardíaca, pois é um método que possibilita o entendimento dos mecanismos reguladores da modulação do sistema cardíaco em diferentes condições (BERGER, 2006).

De acordo com Montano et al., (2009) a interação simpato-vagal é responsável pela regulação neural da função cardiovascular, essa interação pode ser estudada pela avaliação da ritmicidade cardiovascular. A análise espectral da variabilidade do sinal cardiovascular, e em especial do intervalo R-R é um procedimento amplamente utilizado para se investigar o controle autonômico cardiovascular, bem como suas alterações funcionais.

O estudo da VFC no domínio da frequência se caracteriza pela análise dos intervalos R-R convertidos em bandas espectrais, ou seja, a VFC se decompõe em seus

componentes oscilatórios fundamentais que possuem frequências variáveis de 0 a 0,4 Hz em humanos (TASK FORCE, 1996) e de 0 a 3 Hz quando mensuradas em modelos experimentais. Sendo que, em ratos a banda de baixa frequência (BF) varia de 0,20 a 0,75 Hz ao passo que a de alta frequência (AF) tem oscilação de 0,75 a 3 Hz (PAGANI e MALLIANNI, 1994).

O componente de alta frequência é um marcador da modulação vagal e recebe influências da respiração, ao passo que o componente de baixa frequência é indicador tanto da modulação vagal como da simpática, porém, há predominância do componente simpático, por essa razão, considera-se que essa banda é marcadora da modulação simpática (MALLIANI et al., 1991 e LONGO, 1995).

Trabalhos realizados com animais (ratos) têm avaliado o perfil autonômico cardíaco por meio da VFC, em várias condições, como na insuficiência cardíaca congestiva (TOBALDINI et al., 2009); o efeito da ovariectomia em ratas (DIAS da SILVA, et al, 2009); o efeito do bloqueio da síntese de óxido nítrico sobre as adaptações autonômicas induzidas pelo exercício aeróbio (SOUZA et al., 2009); a influência do domínio vagal no comprometimento de doenças cardíacas crônicas em ratos (KAWADA et al., 2013); o controle autonômico cardíaco nas condições pré e durante o tratamento crônico com fluoxetina (HENZE et al, 2013).

A sensibilidade barorreflexa também se constitui em um importante índice para avaliação da função autonômica cardíaca, avaliada tanto em humanos (TASK FORCE, 1996) quanto em estudos com animais (DIAS da SILVA et al. 2009; KARLEN-AMARANTE et al. 2012-; SANT'ANA et al. 2011). Estudos da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e a sensibilidade barorreflexa cardíaca (SBR) tem sido usados na avaliação indireta do balanço simpato-vagal cardíaco e no controle reflexo parassimpático cardíaco, respectivamente (MALLIANNI et al, 1994; MONTANO et al, 1994; TASK FORCE, 1996; LA ROVERE et al, 2001) , em várias condições experimentais, e em diferentes estados de saúde, como situação de repouso (CATAI et al, 2002) ou em mudanças posturais (MALLIANNI et al. 1997), no processo de envelhecimento (MELLO et al. 2008), ou em situações de infarto do miocárdio (MENDES et al, 2010); SANTOS-HISS et al. (2011). No entanto, não foi encontrado na literatura avaliações da função autonômica cardiovascular em situações de escoliose, seja em humanos ou animais. Porém, um estudo realizado por Tsuchie et al., (2011), observou em humanos que uma alteração cifótica lombar pode reduzir a modulação autonômica cardíaca dos componentes de BF e AF.

Nesse contexto, a hipótese do presente trabalho é: considerando que a escoliose experimental promove uma alteração estrutural na coluna do rato, tal alteração pode estar acompanhada por alterações na modulação autonômica do sistema cardiovascular.

Diante dessas considerações, os objetivos desse estudo foram avaliar a influência da escoliose sobre a variabilidade da frequência cardíaca, e sobre a sensibilidade barorreflexa em ratos.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Animais

Foram utilizados 24 ratos albinos Wistar a partir de 42 dias de vida (período de desmame) até a 12^o semana de vida. Foram divididos em dois grupos experimentais (n=12), Controle (C) e Escoliótico (E). Durante todo período experimental os animais foram alimentados com ração (Purina para roedores) e água “ad libitum”, submetidos a ciclo de 12 horas claro/escuro. Todo o protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), sob protocolo n.º 024/2006.

4.3.2 Indução da escoliose

Os dispositivos indutores de escoliose foram confeccionados em filme de policloreto de vinil (PVC) e constitui-se de duas partes, sendo uma adaptada a cintura escapular e outra na cintura pélvica. Esse dispositivo tem 0,5 mm de espessura, sendo que cada parte conta com duas circunferências para passagem dos membros. Para que o animal não seja ferido, as circunferências são revestidas com fita adesiva.

Tanto na parte da cintura escapular, quanto na parte da cintura pélvica, um anulo de arame é colocado do lado direito do dispositivo permitindo assim, a colocação de um fio metálico de 0,5 mm de espessura com 10 cm de comprimento, que tem como finalidade aproximar as cinturas de forma unilateral, a fim de instalar a curvatura escoliótica conforme descrito por Silva et al. (2012).

Ressalta-se que, o dispositivo foi colocado em sistema de cinta regulável, o que permite e facilita um ajuste individual de acordo com o tamanho de cada animal.

A figura 1 corresponde à representação esquemática do protocolo experimental da avaliação da função autonômica cardiovascular.

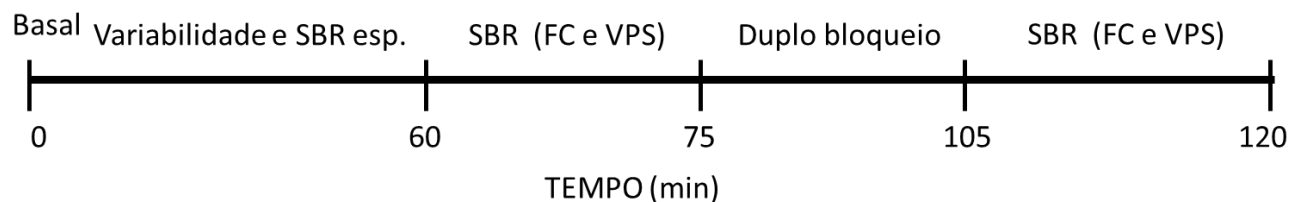


Figura 1. Representação esquemática da avaliação autonômica.

4.3.3 Protocolo Experimental

Ao final das 12 semanas de indução da escoliose os ratos foram anestesiados com tribromoetanol (250 mg/kg, ip, Sigma Aldrich, USA) e cateteres de polietileno foram implantados na artéria e veia femoral para posterior registro da pressão arterial e administração de drogas, respectivamente. Os cateteres foram fixados e transpassados subcutaneamente e exteriorizados na nuca. Para impedir a coagulação sanguínea, os cateteres foram preenchidos com solução salina de heparina (500ui/ml). Os ratos foram então enviados para recuperação por 24 horas antes da aplicação do protocolo de avaliação simpátovagal, o qual foi realizado sem anestesia.

Após o período de recuperação da cirurgia de canulação, com os animais acordados, foi realizado o registro da pressão arterial por meio de um transdutor de pressão (ADInstruments – MLT0380, Bela Vista, Austrália), e um amplificador (ADInstruments – ML110, Austrália) acoplados a um sistema computadorizado de aquisição de dados (ADInstruments – PowerLab 8/30, Austrália). A frequência de amostragem do sinal de PA foi de 2KHz. A FC e a PA média (PAM) foram calculadas a partir da pressão arterial de pulso por meio de um software (PowerLab-Chart7-ADInstruments, Austrália).

Utilizando-se desse registro, foi realizado o protocolo experimental para avaliação da variabilidade cardiovascular, da sensibilidade baroreflexa e bloqueio autonômico farmacológico.

4.3.4 Análise da variabilidade cardiovascular: análise espectral

A linha de base das séries de PA e frequência cardíaca (intervalo de pulso), obtidas de registro de 60 minutos, foram processadas por um programa de computador (LabChart v7.0, ADInstruments, Bella Vista, Australia) que aplica um algoritmo para detectar os pontos de inflexão, ciclo a ciclo, do pulso arterial determinando os valores sistólicos da PA. A série temporal do intervalo de pulso (IP), foi determinada a partir do sinal pulsátil da PA medindo-se o intervalo entre picos adjacentes da pressão sistólica batimento a batimento. As séries de IP e PA sistólica (PAS), batimento a batimento, foram convertidas usando interpolação *spline* cúbica (reamostragem em 10 Hz). As séries com valores interpolados foram divididas em segmentos sequenciais de 512 pontos (51,2 s) cada, com taxa de sobreposição de 50%. As análises de variabilidade do IP e da PAS foram realizadas utilizando um programa de computador, personalizado (CardioSeries v2.0 <http://sites.google.com/site/cardioseries>), desenvolvido no Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Universidade de São Paulo - Brasil). Antes do cálculo da densidade espectral de potência, os segmentos foram inspecionados visualmente, sendo utilizados aqueles com relativa estacionariedade e os dados não estacionários não foram considerados. Um janelamento do tipo Hanning foi usado para atenuar os efeitos secundários e o espectro foi calculado usando um algoritmo FFT para séries temporais discretas. Os espectros foram integrados na banda de baixa frequência (LF; 0,2-0,75 Hz) e de alta frequência (HF; 0,75-3 Hz). A razão LF/HF da variabilidade do IP foi calculada a fim de avaliar o balanço simpato-vagal, (MONTANO et al., 1994, MALLIANI et al. 1996; TASK FORCE, 1996).

4.3.5 Análise da sensibilidade barorreflexa espontânea

A sensibilidade barorreflexa (SBR) foi avaliada no domínio de tempo por meio da técnica de sequência, descrita por Di Rienzo et al. (1985). Um programa personalizado de computador (CardioSeries V2.0 - <http://sites.google.com/site/cardioseries>) o qual digitaliza séries temporais de PAS e IP batimento a batimento, procurando por sequências de pelo menos 4 batimentos consecutivos o qual aumentos na PAS são seguidos por aumentos de IP (sequência para cima) e diminuições na PAS são seguidas por encurtamento de IP (sequência para baixo), com correlação linear maior que 0.8. O *slope* das linhas de regressão linear entre PAS e IP são tomadas como medida de SBR.

4.3.6 Análise farmacológica da sensibilidade barorreflexa

A PA foi registrada por 40 minutos nos grupos controle (n=12) e escoliose (n=12). A sensibilidade do barorreflexo foi então determinada antes e após 15 minutos do bloqueio farmacológico dos componentes autonômicos com metilatropina (n=6) ou propranolol (n=6) para separadamente avaliar a participação dos sistemas simpático e parassimpático (vagal) na resposta reflexa da frequência cardíaca respectivamente. Mudanças em PAM foram induzidas por injeções alternadas de fenilefrina (PHE) (0,1-16,0 mg / kg) que promoveu respostas reflexas de taquicardia e nitroprussiato de sódio (NPS) (0,4-64,0 mg/kg) que promoveu respostas reflexas bradicárdicas. PAM e frequência cardíaca foram medidas antes e imediatamente após as injeções de PHE ou NPS quando a PA alcançou um novo nível de estado de equilíbrio. Após o retorno dos dois parâmetros à linha de base, novas injeções foram dadas. Um total de, pelo menos, cinco aumentos e cinco decréscimos na PAM em diferentes graus foram suscitados em cada rato. A sensibilidade do barorreflexo foi quantificada pelo *slope* da linha de regressão obtida pelo melhor ajuste dos pontos mostrando mudanças na frequência cardíaca e PA em relação aos valores basais.

4.3.7 Tônus simpatovagal e frequência cardíaca intrínseca de marca-passo

Dez minutos após o teste de SBR farmacológica, foi realizada a avaliação da influência do tônus autonômico, simpático e parassimpático, na determinação da frequência cardíaca. Essa foi investigada por meio da administração de propranolol (5mg/kg, iv, Sigma Aldrich) e metilatropina (4mg/kg, iv. Sigma Aldrich), respectivamente. Após 60 minutos de registro da frequência cardíaca basal, a metilatropina foi injetada na metade dos ratos de cada grupo, e a frequência cardíaca foi registrada durante os próximos 15 minutos para avaliar o efeito do bloqueio vagal na frequência cardíaca. O propranolol foi então injetado nos mesmos ratos, e a frequência cardíaca foi registrada por outros 15 minutos para determinar a frequência cardíaca intrínseca. Na outra metade dos ratos, a sequência de metilatropina-propranolol foi invertida para propranolol- metilatropina, para avaliar o efeito do bloqueio simpático da frequência cardíaca, seguido do mesmo procedimento de registro (15 minutos cada) por droga como na sequência anterior, utilizada para determinar a frequência cardíaca intrínseca. Os dados das sequências de metilatropina-propranolol e propranolol-metilatropina foram somados para se obter a frequência cardíaca basal (antes de cada droga) e a frequência cardíaca intrínseca.

4.3.8 Análise estatística

Os dados foram apresentados como média \pm EPM. Os resultados dos bloqueios farmacológicos com metilatropina e propranolol, análise espectral da frequência cardíaca e sensibilidade baroreflexa da frequência cardíaca foram, analisados pelo teste t-Student ou pelo teste de Mann-Whitney Rank Sum, conforme necessidade. O nível de significância foi fixado em $p < 0.05$ em todas as análises.

4.4 RESULTADOS

Na Figura 2 e na Tabela 1 estão representados os valores basais da pressão arterial média, frequência cardíaca, e frequência cardíaca intrínseca de marcapasso em resposta a duplo bloqueio autonômico cardíaco. Não foram observadas quaisquer diferenças, nessas variáveis, entre os grupos estudados.

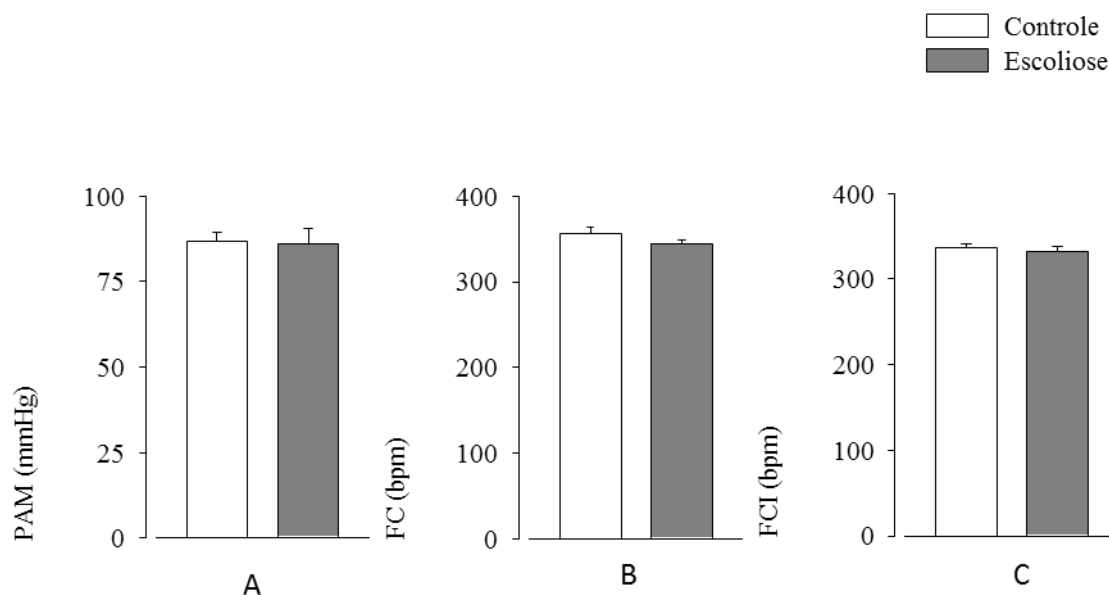


Figura 2. Pressão arterial média (PAM, A), frequência cardíaca basal (FC, B) e frequência cardíaca intrínseca (FCI, C) nos grupos controle e escoliótico. Valores expressos em média \pm epm. * $P < 0.05$ comparado ao controle.

A Tabela 1 também mostra o efeito do bloqueio autonômico farmacológico sobre a FC em todos os grupos estudados, tanto em valores absolutos, quanto em valores percentuais (Figura 3). A administração de metilatropina e de propranolol no grupo escoliose promoveu maiores variações absolutas da FC em relação ao grupo controle, entretanto, em valores percentuais, as diferenças não atingiram significância estatística.

Tabela 1. Efeito da escoliose na PA e FC basais, e resposta da FC à administração de bloqueadores autonômicos.

	Grupos	
	Controle	Escoliose
Valores Basais		
PAM, mmHg	86.8 ± 2	85.9 ± 4
FC, bpm	355 ± 7	344 ± 4
Controle do tônus autonômico		
Δ FC após metilatropina, bpm	55 ± 6	79 ± 5 *
% FC após metilatropina	61 ± 6	55 ± 5
Δ FC após propranolol, bpm	35 ± 7	64 ± 7 *
% FC após propranolol	39 ± 7	45 ± 7
FCI, bpm	336 ± 5	332 ± 5

Valores expressos em média ± epm. PAM, pressão arterial média; FC, frequência cardíaca, FCI, frequência cardíaca intrínseca. *P<0.05 comparado ao controle.

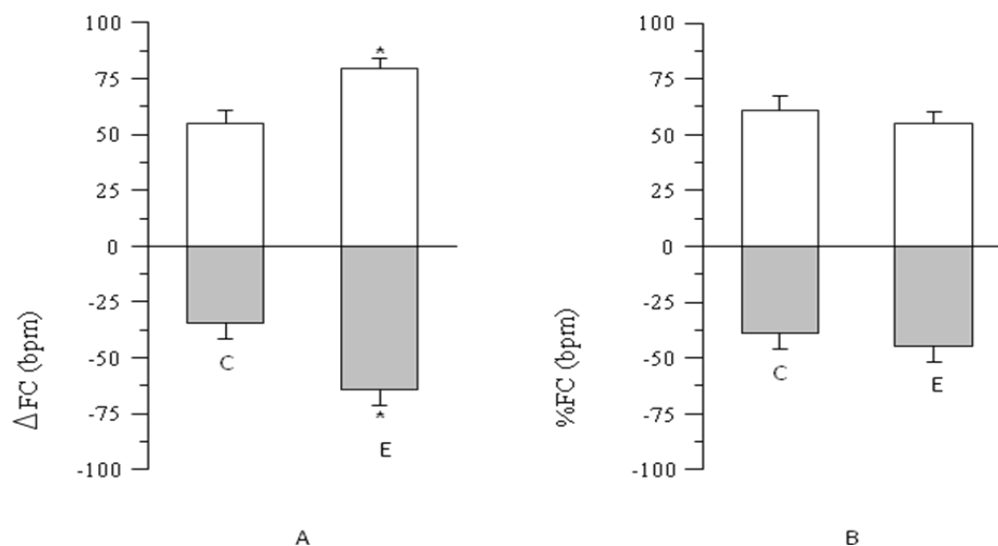


Figura 3. Resposta da frequência cardíaca a metilatropina (valores positivos) ou propranolol (valores negativos) nos grupos controle (C) e escoliose (E). Variações absolutas (A), valores percentuais (B). Dados expressos em média ± epm. *P<0.05 comparado ao controle.

Na Figura 4 e na Tabela 2 estão representados os parâmetros da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), obtidos por meio do IP (intervalo de pulso) nos dois grupos estudados. Os resultados mostraram que o grupo escoliose apresentou maiores valores de variância total, nas oscilações de BF e AF em unidades absolutas e na razão BF/AF. Por outro lado, em valores normalizados, o grupo controle apresentou os maiores valores somente nas oscilações de AFun. Por outro lado, não houve diferenças entre os grupos estudados em relação aos parâmetros espectrais da análise da variabilidade da PAS (Figura 5).

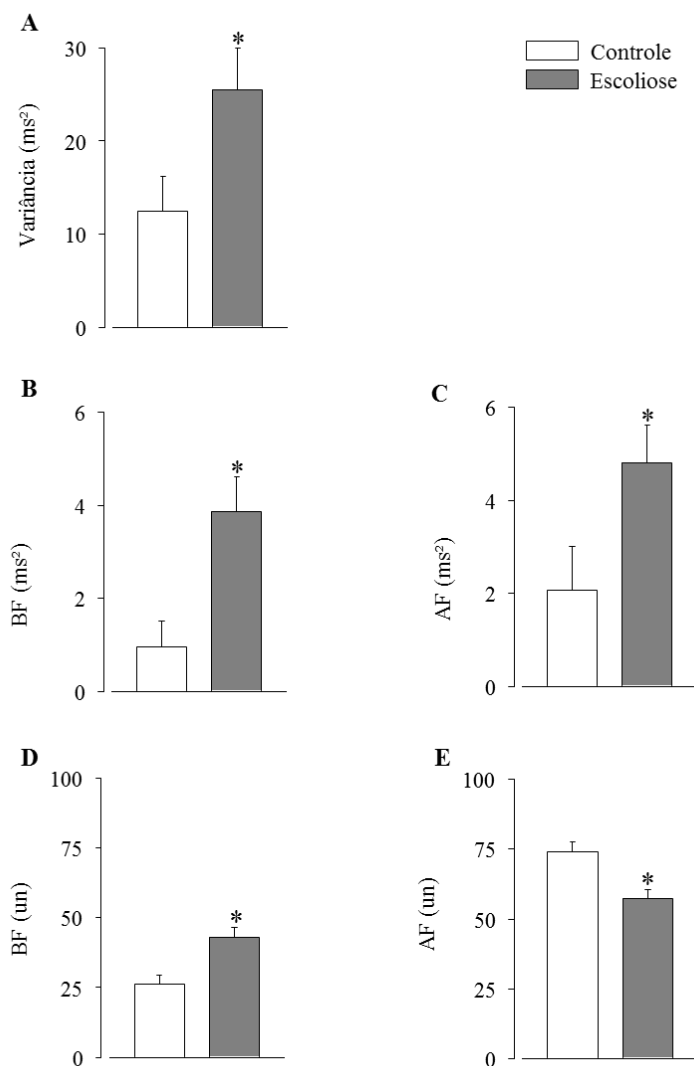


Figura 4. Variabilidade do intervalo de pulso (IP): variância (ms², A), potência espectral das oscilações do IP no espectro de baixa frequência (BF), expressa em unidades absolutas (ms², B) e normalizadas (nu, D) e potência espectral do PI no espectro de alta frequência (AF), banda expressa em unidades absolutas (ms², C) e normalizadas (nu, E) nos grupos controle e escoliótico. Valores expressos em média ± epm. *p<0.05 comparado ao controle.

A tabela 2 também mostra os valores da variabilidade da PAS, que não apresentou diferença entre os grupos (Figura 5). Quanto a SBR espontânea (Figura 6) e SBR obtida por meio farmacológico, através da administração de fenilefrina e nitroprussiato de sódio, promovendo respostas bradicárdicas e taquicárdicas, respectivamente (Figura 7). Os resultados nos dois grupos mostraram que a SBR espontânea estava aumentada no grupo escoliose, e a análise da SBR por meio farmacológico mostrou que esse aumento foi decorrente das respostas bradicárdicas.

Tabela 2. Efeitos da escoliose na variabilidade de intervalo de pulso, variabilidade da pressão arterial e sensibilidade barorreflexa.

	Grupos	
	Controle	Escoliose
Variabilidade do IP		
Variância, ms ²	12.4 ± 3.7	25.5 ± 4.4 *
BF, ms ²	0.95 ± 0.5	3.87 ± 0.7 *
BF, un	26 ± 3.4	42.89 ± 3.4 *
AF, ms ²	2.07 ± 0.9	4.81 ± 0.8 *
AF, un	74 ± 3.4	57.11 ± 3.4 *
BF/AF	0.38 ± 0.06	0.88 ± 0.1 *
Variabilidade da PAS		
Variância, mmHg ²	14.3 ± 1.8	16 ± 1.6
BF, mmHg ²	3.5 ± 0.7	4.1 ± 0.4
SBR espontânea		
Ganho, ms/mmHg	0.76 ± 0.1	1.3 ± 0.1 *
SBR invasiva		
Ganho bradic, bpm/mmHg	-0.8 ± 0.3	-2.05 ± 0.3 *
Ganho taquic, bpm/mmHg	2.3 ± 0.3	2.44 ± 0.1

Valores expressos em média ± epm. intervalo de pulso (IP), pressão sistólica arterial (PAS), sensibilidade barorreflexa (SBR), baixa frequência (BF), alta frequência (AF), unidades normalizadas (un). *P<0.05 comparado ao controle.

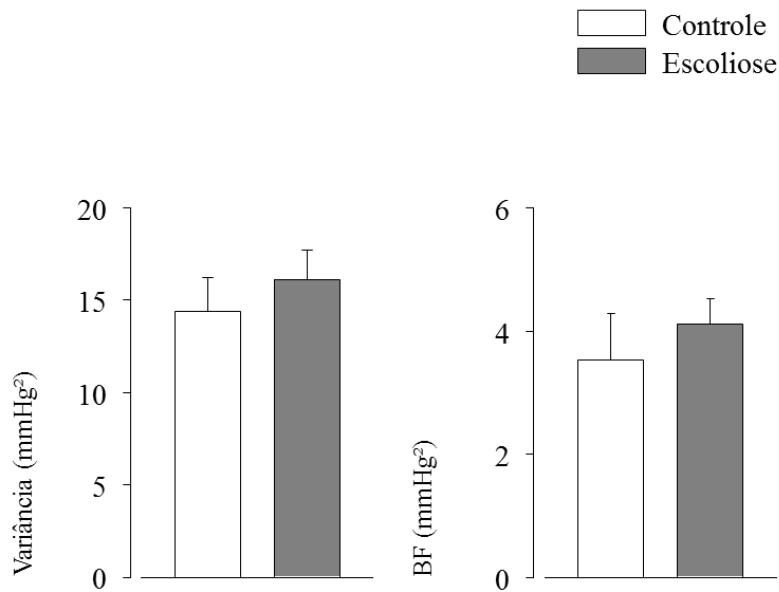


Figura 5. Variabilidade da Pressão arterial sistólica (PAS): variância (mmHg², A), potência da PAS no espectro de baixa frequência (BF), banda expressa em unidades absolutas (mmHg², B) nos grupos controle e escoliose. Valores expressos em média \pm epm. * $p < 0.05$ comparado ao controle.

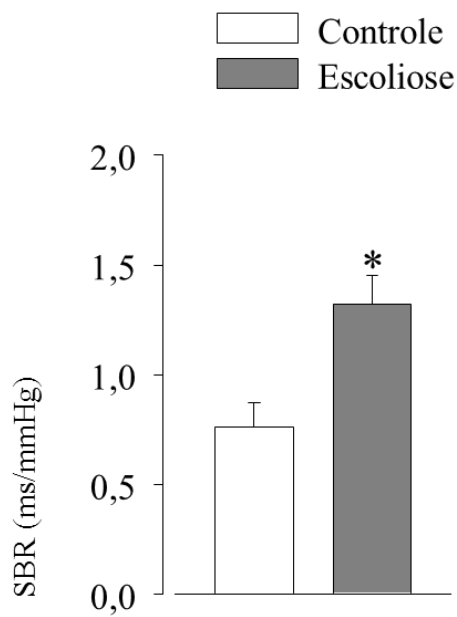


Figura 6. Valores da sensibilidade baroreflexa espontânea nos grupos controle e escoliose. Valores expressos em média \pm epm. * $P < 0.05$ comparado ao controle.

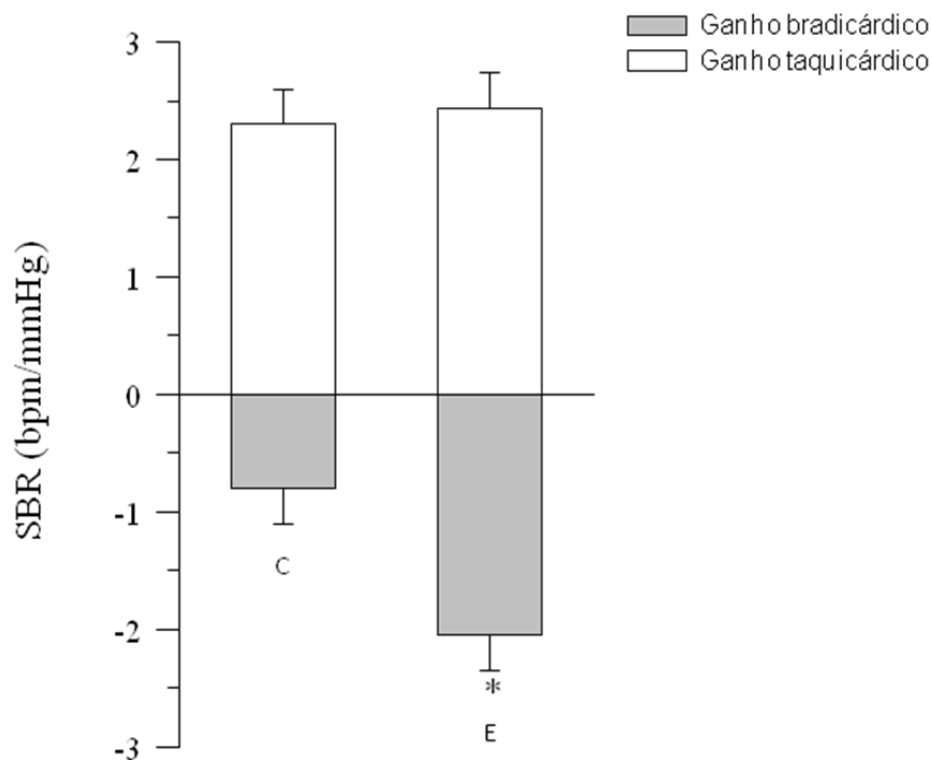


Figura 7. Valores médios da sensibilidade baroreflexa (SBR), obtidos por meio de mudança na frequência cardíaca (FC) induzida por mudanças na pressão arterial média (PAM), após a infusão de nitroprussiato de sódio e fenilefrina nos grupos controle (C) e escoliose (E). * $P < 0.05$ comparado ao controle.

4.5 DISCUSSÃO

Os principais achados do presente trabalho são: A variância total, ou seja, a variabilidade total foi maior no grupo escoliótico, assim como os componentes de LF e HF e a relação LF/HF em valores absolutos, contudo, em valores normalizados o grupo controle apresentou maior valor no componente de AF; a análise farmacológica do tônus autonômico revelou maiores variações absolutas no grupo escoliótico, sem mostrar diferenças nos valores percentuais; a sensibilidade baroreflexa espontânea e a obtida por meio farmacológico, foi maior no grupo escoliótico.

A variância total, ou seja, a variabilidade total da frequência cardíaca está significativamente maior no grupo escoliótico em relação ao controle, fato que pode indicar um maior controle autonômico no grupo escoliótico em relação ao grupo

controle, pois de acordo com concepções de Pumpura et al. (2002) altos valores de VFC são indicativos de maior capacidade de adaptação e conseqüentemente predisõem à melhor funcionalidade autonômica.

Na análise dos componentes espectrais tanto a BF como a AF em unidades absolutas são maiores no grupo escoliótico, o que pode indicar uma predominância da modulação simpática e parassimpática, respectivamente nesse grupo. Entretanto, ao se observar, os mesmos valores em unidades normalizadas o componente de BF é maior no grupo escoliótico ao passo que o componente de AF é maior no grupo controle. Portanto, essas variáveis evidenciam uma maior modulação simpática no grupo escoliótico, e parassimpática no grupo controle. Essa interpretação acompanha as ponderações do Task Force (1996) ao descreverem que o componente de BF é aceito como indicador da modulação simpática, enquanto que o de AF está associado à modulação parassimpática. As considerações de Montano et al. (1994) também reforçam essa interpretação ao postularem que os componentes de BF e AF representam com maior precisão a modulação autonômica quando apresentados em unidades normalizadas, pois nessa condição há a exclusão da contribuição das oscilações de muito baixa freqüência.

Quanto à variável razão BF/AF observa-se que foi significativamente maior no grupo escoliótico em relação ao grupo controle. Algumas considerações sobre essa variável são importantes. De acordo com Malliani et al. (1991) a razão BF/AF é uma importante medida indicativa do equilíbrio simpato-vagal, nesse sentido, é um índice capaz de reproduzir a predominância simpática ou vagal.

Porém, é importante também ressaltar que a literatura científica mostra divergências na interpretação da razão BF/AF, que tem sido considerada por alguns autores como apenas indicadora de um balanço simpato-vagal, contudo, outros autores a consideram como indicadora de uma modulação simpática (TASK FORCE, 1996).

Com base nas ponderações anteriores a análise da variância total mostra uma melhor condição autonômica em favor do grupo escoliótico, contudo, o estudo da variabilidade em bandas espectrais por meio dos seus componentes de BF absoluto, BF em valores normalizados, bem como a razão BF/AF sugerem que a escoliose provocou um desequilíbrio autonômico com predominância da modulação do sistema nervoso simpático cardíaco.

De acordo com o Task Force (1996), o aumento da BF em unidades normalizadas pode indicar uma diversidade de situações entre as quais se destacam

situações de estresse mental. O estresse mecânico gerado pela utilização do colete durante o período de 12 semanas pode ter provocado estresse mental a ponto de alterar essa variável. Essa interpretação acompanha um trabalho realizado por Nagaki et al. (2004) em que os autores estudaram em ratos os efeitos do medo e ansiedade sobre o controle autonômico. Os resultados revelaram aumento na frequência cardíaca basal, no componente de BF e na razão BF/AF. Porém não foi observada nenhuma alteração no componente de AF. Diante dos resultados os autores concluíram que em situações de ansiedade e medo o desequilíbrio do balanço autonômico ocorre em favor de uma predominância simpática. No presente estudo não realizamos análise do nível de estresse dos animais, o que poderia trazer informações adicionais.

Por outro lado, alterações de postura podiam gerar alterações autonômicas. Salienta-se entretanto, que não foram encontrados na literatura trabalhos com modelos experimentais animais com alterações nas curvaturas da coluna vertebral, seja escoliose ou cifose lombar ou torácica, e que tenham avaliado distúrbios autonômicos relacionados. Portanto, esse é o primeiro estudo com animais a observar alterações da função autonômica cardíaca diante de uma condição escoliótica. Em estudo prévio, realizado por Tsuchie et al., (2011), em humanos saudáveis submetidos a um modelo experimental de deformidade cifótica lombar (indivíduo avaliado em duas condições: a) sentado, postura neutra e b) ainda sentado, com postura de flexão anterior de tronco) foi observado redução da modulação autonômica cardíaca dos componentes de BF e AF com o indivíduo em flexão anterior do tronco.

Em relação a medida do tônus autonômico cardíaco, Ferrer et al. (1991) ressaltam que essa avaliação permite quantificar a influência simpática e vagal sobre o coração, bem como a determinação da frequência cardíaca intrínseca, que representa a ritmicidade espontânea cardíaca.

Assim, a resposta da FC à administração de bloqueadores autonômicos, como a bradicardia observada após administração de propranolol, representa o efeito simpático cardíaco enquanto a taquicardia observada após a administração de metilatropina indica o efeito vagal cardíaco (GAVA et al., 1995).

A FC intrínseca é aquela observada após a administração conjunta dos bloqueadores autonômicos. Ressalta-se que, na quantificação do tônus autonômico cardíaco, ainda por meio de bloqueio farmacológico, o tônus simpático é resultante da diferença entre a FC após a administração de metilatropina e a FC intrínseca. Enquanto

o tônus vagal é resultante da diferença entre a FC após administração de propranolol e a FC intrínseca (VASQUEZ, KRIEGER, 1982; GOLDBERGER, 1999).

A análise farmacológica feita por bloqueio simpático com propranolol e vagal com metilatropina revelou que em valores absolutos a variação da frequência cardíaca (Δ HR) foi maior no grupo escoliótico, durante o bloqueio vagal, contudo, quando em valores percentuais a Δ HR não apresentou nenhuma diferença entre os grupos, assim como a frequência cardíaca intrínseca de marca-passo também não apresentou diferenças. Esses dados sugerem uma resposta autonômica, expressa no grupo escoliótico, a qual promoveu maiores deltas da frequência cardíaca diante do bloqueio vagal. Essa resposta pode ter ocorrido em decorrência do processo adaptativo relacionado ao tempo de indução da escoliose. No entanto, não foi encontrado na literatura científica nenhuma publicação que possa dar sustentação a esse resultado.

Conforme o Task Force (1996) a modulação autonômica também pode ser avaliada por meio da sensibilidade barorreflexa (SBR). A análise da SBR mostrou que o grupo escoliótico possui maior sensibilidade em relação ao controle. Os resultados mostram que a sensibilidade aumentou em decorrência das respostas bradicárdicas, fato que sugere maior resposta de controle pressórico na função autonômica no grupo escoliótico. Diversos estudos encontrados na literatura científica ratificam a utilização da SBR como índice de equilíbrio autonômico tanto em condições clínicas (MACATRÃO COSTA *et al.*, 2013), como em condições experimentais com ratos (SOUZA *et al.*, 2009), contudo, não foi encontrado nenhum trabalho com avaliação da SBR na condição escoliótica.

Diante da inexistência de trabalhos que tenham estudado a variabilidade da frequência cardíaca, bem como a sensibilidade do barorreflexo em animais escolióticos, compreende-se que o presente estudo tem importante valor para a literatura científica, à medida que desperta e incentiva estudos que se preocupem em avaliar possíveis interferências no sistema cardiovascular no processo de implantação da escoliose bem como em situações em que a mesma já se encontra instalada.

Como limitação do estudo tem-se a ausência de uma análise do nível de estresse dos animais. Além disso, análises não lineares da variabilidade da frequência cardíaca poderia trazer informações adicionais.

4.6 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo sugerem que a escoliose promove uma alteração na homeostasia do sistema autonômico, com aumento da modulação autonômica simpática cardíaca, uma maior variação da frequência cardíaca, no grupo escoliótico, no bloqueio farmacológico do tonus vagal (maior ganho bradicárdico); bem como maior sensibilidade espontânea do barorreflexo.

Essas respostas podem ter ocorrido em decorrência do processo adaptativo relacionado ao tempo de indução da escoliose.

O presente trabalho abre caminhos para uma nova linha de análise dedicada à compreensão das possíveis relações entre a escoliose com o controle autonômico do sistema cardiovascular.

5.Considerações finais

5. Considerações finais

Os resultados desse trabalho revelam que concomitante à implantação da escoliose ocorre, importante alteração da homeostasia metabólica da musculatura paravertebral e peitoral, gerando redução nas reservas glicogênicas e nas proteínas musculares.

Os danos musculares causados durante a implantação da escoliose têm importante participação das citocinas IL-2, IL-6 e TNF- α , por outro lado a manipulação com exercícios de alongamento se mostrou capaz de reduzir a concentração de interleucinas. Fato que sugere a importância do exercício de alongamento como recurso de prevenção nos casos de desuso.

Quanto ao status da função autonômica cardiovascular, foram observadas após a implantação da escoliose, várias respostas positivas como o aumento da variância total, maior tônus vagal e simpático cardíaco avaliados por bloqueio farmacológico, e maior sensibilidade barorreflexa. Por outro lado, os componentes de BF, AF bem como a razão BF/AF da análise espectral sugerem um predomínio do sistema nervoso autônomo simpático cardíaco. A compreensão das alterações metabólicas na musculatura esquelética, bem como as oscilações nas concentrações de citocinas inflamatórias abrem perspectivas para a otimização dos métodos já utilizados na terapêutica da escoliose.

O presente estudo também abre novas possibilidades de exploração científica dedicadas ao estudo das possíveis interações entre escoliose e o padrão de controle autonômico cardiovascular.

Como desdobramentos do presente trabalho, espera-se avaliar em estudos futuros a utilização de análises não lineares no estudo da modulação autonômica frente à escoliose; bem como as possíveis relações entre escoliose, VFC, VPA, alongamento e citocinas.

Referências

Referências

- ALBANES, D. et al. The effect of early caloric restriction on colonic cellular growth in rats. **Nutr Cancer.**, v. 3, n. 1-2, p. 73-80, 1990.
- AMAR, A.P.; LEVY, M.L. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. **Neurosurgery**, v. 44, n. 5, p. 1027-39, 1999.
- BELL, G. I. et al. Molecular biology of mammalian glucose transporters. **Diabetes Care.** V. 13, p.198-208, 1990.
- BERNARD, J. C. et al. Evaluation of the efficacy of a carbon brace ("Corset monocoque carbone respectant la respiration" [CMCR]) preserving lung capacity to treat idiopathic scoliosis in children and adolescents: a retrospective study of 115 patients. **Ann Readapt Med Phys.**, v. 48, n. 9, p. 637-49, 2005.
- BRANQUINHO, R. et al. Insulin Secretion and muscle glycogen reserves in tamoxifen treated female rats. **Journal of Chinese clinical medicine**, v. 3, p. 254-260, 2008.
- CATAI, A. M. Chacon-Mikahil MP, Martinelli FS, Forti VA, Silva E, Golfetti R, et al. Effects of aerobic exercise training on heart rate variability during wakefulness and sleep and cardiorespiratory responses of young and middle-aged healthy men. **Brazilian Journal Medical and Biological Research.** v. 35, n. 6, p. 741-52, 2002.
- CHINGUI, L. J. et al. Comportamento quimiometabólico do músculo sóleo na fase aguda da imobilização articular. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 15, n. 2, p.194-9, 2008.
- CHOPARD, A.; HILLOCK, S.; JASMIN, B. J. Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. **J. Cell. Mol. Med.**, v. 13, n. 9B, p. 3032-50, 2009.
- CHOW, D. H. et al. Effects of backpack loading on the pulmonary capacities of normal schoolgirls and those with adolescent idiopathic scoliosis. **Spine**, v. 30, n. 21, p. 649-54, 2005.
- CODERRE, L. et al. Regulation of glycogen concentration and glycogen synthase activity in skeletal muscle of insulin-resistant rats. **Arch Biochem Biophys.**, v. 277, n. 2, p.1514-23, 2007.
- COILLARD, C.; RIVARD, C. H. Vertebral deformities and scoliosis. **European Spine Journal**, v. 5, p. 91-100, 1996.
- COUTINHO, E. L.; DELUCA, C.; SALVINI, T. F. Bouts of Passive Stretching after Immobilization of the Rat Soleus Muscle Increase Collagen Macromolecular Organization and Muscle Fiber Area. **Connective Tissue Research**, v. 47, p. 278–286, 2006.

CURI, R. **Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte**. Ed. Sprint, São Paulo, 2000.

DABNEY, K. W.; SALZMAN, S. K.; WAKABAYAYASHI, T. Experimental scoliosis in the rat. **Spine**, v. 13, n. 5, p. 472-477, 1988.

DEL CURTO, D. Ueta RHS, Wajchenberg M, Martins Filho DE , Puertas EB. Variações na apresentação fenotípica da escoliose idiopática. *Coluna/Columna*. 2010; 9(1):19-23.

DERIJK, R. et al. Exercise And Circadian Rhythm-Induced Variations In Plasma Cortisol Differentially Regulate Interleukin-1 β (Il-1 β), Il-6, And Tumor Necrosis Fator- α (Tnf α) Production In Humans: High Sensitivity Of Tnf α And Resistance Of Il-6. **J Clinendocrinolmetab**. V. 82, n. 7, p. 2182-91, 1997.

DIAS da SILVA, V. J. et al. Heart rate and arterial pressure variability and baroreflex sensitivity in ovariectomized spontaneously hypertensive rats. **Life Sci.**, v. 84, n. 21-22, p. 719-24, 2009.

DICKSON, R. A.; LEATHERMAN, K. D. **The management of spinal deformities**. London: Wriqh. 1988; p. 1-54.

FAZAN, R. Power spectra of arterial pressure and heart rate in streptozotocin-induced diabetes in rats. **J Hypertens**, v. 17, p. 489-495, 1999.

FERREIRA, D. M. A.; DEFINO, H. L. A. **Estudo clínico da mensuração da gibosidade e suas correlações com as medidas radiológicas na escoliose idiopática**. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1999.

FERRER, M. T.; KENNEDY, W. R.; SAHINEN, F. Baroreflexes in patients with diabetes mellitus. **Neurology**, v. 41, p. 1462-66, 1991.

FRANCHINI, K. G.; KRIEGER, E. M. Bradycardic responses to vagal stimulation and methacholine injection in sino-aortic denervated rats. **Braz J Med Biol Res**. v. 22, p. 757-60, 1989.

GALLON, D, et al. The effects of stretching on the flexibility, muscle performance and functionality of institutionalized older women. **Braz J Med Biol Res.**, v. 44, n. 3 p. 229-235, 2011.

GAVA N. S. et al. Veras-Silva AS, Negrao CE, Krieger EM. Low-intensity exercise training attenuates cardiac beta-adrenergic tone during exercise in spontaneously hypertensive rats. **Hypertension.**, v. 26, n. 6 Pt 2, p. 1129-33, 1995.

GILES, K. W.; MYERS, A. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. **Nature.**, v. 206, p. 93-95, 1965.

GOLDBERGER, J. J. Sympathovagal balance: how should we measure it? **Am J Physiol.**, v. 276, n. 4 Pt 2, p. H1273-80, 1999.

GOMES, A. R. S. et al. The effect of 30 minutes of passive stretch of the rat soleus muscle on the myogenic differentiation, myostatin and atrogen-1 gene expressions. **Arch Phys Med Rehabil.**, v. 87, n. 2, p. 241-6, 2006.

GOODYEAR, L. J. et al. Glucose transporter number, activity, and isoform content in plasma membrane of red and white skeletal muscle. **Am J Physiol.**, v. 261, p. 556-61, 1991.

GORMAN, K. F.; BREDEN, F. Idiopathic-type scoliosis is not exclusive to bipedalism. **Med Hypotheses.**, v. 72, n. 3, p. 348-52, 2009.

GOTO, M. et al. Buckling and bone modeling as factors in the development of idiopathic Scoliosis. **Spine.** v. 28, n. 4, p. 364-70, 2003.

HEBERT, S. et al. **Ortopedia e traumatologia: princípios e prática**, 2. ed. POA-RS: Artes Médicas, 1998.

HENZE, M. et al. Chronic fluoxetine reduces autonomic control of cardiac rhythms in rats with congestive heart failure. **Am J Physiol coração Circ Physiol.**, v. 304, n. 3, p. H444-54, 2013.

HIROSE, M. et al. Immobilization Depresses Insulin Signaling In Skeletal Muscle. **Am J Physiolendocrinol Metab.**, v. 279, n. 1235-41, 2000.

IUNES, D. H. et al. Quantitative photogrammetric analysis of the klapp method for treating idiopathic scoliosis. **Rev Bras Fisioter.**, v. 14, n. 2, p. 133-140, 2010.

JANEWAY, C. A.; TRAVERS, P. **Immunobiology: The Immune System In Health And Disease**. 2 ed. London: Current Biology Ltd. 1996.

JOE, T. Studies of experimental scoliosis produced by electric stimulation. **Nihon Ika Daigaku Zasshi.**, v. 57, n. 5, p. 416-26, 1990.

KANDARIAN, S. C.; STEVENSON, E. J. Molecular events in skeletal muscle during disuse atrophy. **Exer Sports Sci Rev.**, v. 30, p. 111-6, 2002.

KARACHALIOS, T. et al. Ten-year follow-up evaluation of a school screening program for scoliosis. Is the forward-bending test an accurate diagnostic criterion for the screening of scoliosis? **Spine.**, v. 24, n. 22, 2318-24, 1999.

KARLEN-AMARANTE, M. et al. Altered baroreflex and autonomic modulation in monosodium glutamate-induced hyperadipose rats. **Metabolism, Clinical and Experimental.**, v. 61, n. 10, p. 1435-42, 2012.

KASUGA, K. Experimental scoliosis in the rat spine induced by binding the spinous processes. **Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi.**, v. 68, n. 9, p. 789-807, 1994.

KAWADA, T. et al. High-frequency dominant depression of peripheral vagal control of heart rate in rats with chronic heart failure. **Acta Physiol (Oxf)**. v. 207, n. 3, p. 494-502, 2013.

KELLER, C. et al. Transcriptional Activation Of The Il-6 Gene In Human Contracting Skeletal Muscle: Influence Of Muscle Glycogen Content. **Faseb J.**, v. 15, p. 2748-50, 2001.

KELLY, D. A. The Use Of Anti-Interleukin-2 Receptor Antibodies In Pediatric Liver Transplantation. **Pediatr Transplant.**, v. 5, n. 6, p. 386-9, 2001.

KERN, P. A. Adipose Tissue Tumor Necrosis Factor And Interleukin-6 Expression In Human Obesity And Insulin Resistance. **Am J Physiolendocrinolmetab.**, v. 280: p. E745-E751, 2001.

KLIP, A. E MARETTE, A. Acute and chronic signals controlling glucose transport in muscle. **J. Cell. Biochem.**, v. 48, p. 51-60, 1992.

KONNO, E. A. B. Remobilização por alongamento estático cíclico em músculo sóleo de ratos imobilizados em encurtamento. **Rev Bras Med Esporte.**, v. 14, n. 2 p. 122-25, 2008.

KROGH-MADSEN, R. Plomgaard P, Keller P, Keller C, Pedersen BK. Insulin Stimulates Interleukin-6 And Tumor Necrosis Factor-A Gene Expression In Human Subcutaneous Adipose Tissue. **Am J Physiolendocrinolmetab.**, v. 286, n. E234-E238, 2004.

LA ROVERE, M. T. Investigators. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias: implications for clinical trials. **Circulation**. v. 103, p. 2072-77, 2001.

LONGO, A.; FERREIRA, D.; CORREIA, M. J. Variabilidade da frequência cardíaca. **Revista Portuguesa de Cardiologia.**, v.14, v. n. 3, p. 241-262, 1995.

LOPEZ, F.; GUILLE, J.; BOWEN, J. Rotation of the Spine in Congenital Scoliosis. **J Pediatr Orthop.**, v. 15 v. 4, p. 528-34, 1995.

MACATRÃO-COSTA, M. F. et al. Evaluation of the Autonomic Function in Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy with and without Syncope. **Arq Bras Cardiol.**, v. 100, n. 2, p. 180-86, 2013.

MACHIDA, M. et al. Pathogenesis of idiopathic scoliosis. Experimental study in rats. **Spine.**, v. 1, n. 24, p. 1985-89, 1999.

MACHIDA, M. et al. Pathological mechanism of idiopathic scoliosis: experimental scoliosis in pinealectomized rats. **Eur Spine J.**, v. 14, n. 9, p. 843-8, 2005.

MALLIANI, A. et al. Individual Recognition by heart rate variability of two diferente autonomic profiles related to posture. **Circulation.**, v. 96, p. 4143-45, 1997.

MALLIANI, A. et al. Pagani M, Lombardi F, Cerutti S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circulation.**, v. 84, p. 482-92, 1991.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do Exercício: energia, nutrição e desempenho humano.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

MELO, R. C. et al. High eccentric strength training reduces heart rate variability in healthy older men. **Br J Sports Med.**, v. 42, n. 1, p. 59-63, 2008.

MENDES, R. G. et al. Short-term supervised inpatient physiotherapy exercise protocol improves cardiac autonomic function after coronary artery bypass graft surgery – a randomised controlled trial. **DisabilRehabil.**, v. 32, n. 16, p. 1320-27, 2010.

MONTANO, N. et al. Heart rate variability explored in the frequency domain: A tool to investigate the link between heart and behavior. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews.**, v. 33, n. 2, p.71-80, 2009.

MONTANO, N. et al. Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. **Circulation.**, v. 90, p. 1826-31, 1994.

NEIRA, V. M. A transesophageal echocardiography examination clarifies the cause of cardiovascular collapse during scoliosis surgery in a child. **Can J Anaesth.**, v. 58 n. 5 p. 451-5, 2011.

NI, H. et al. An increased kyphosis of the thoracolumbar junction is correlated to more axial vertebral rotation in thoracolumbar/lumbar adolescent idiopathic scoliosis. **Spine.**, v. 35, n. 23, p. E1334-8, 2010.

NISHIYAMA, A. Arachidonic Acid-Containing Phosphatidylcholine Inhibits Lymphocyte Proliferation And Decreases Interleukin-2 And Interferon- γ Production From Concanavalin A-Stimulated Rat Lymphocytes. **Biochimica Et Biophysicaacta.**, v. 1487, n. 1, p. 50-60, 2000.

NOGAMI, H.; TERASHIMA, Y.; TAMAKI, K. Congenital kyphoscoliosis and spinal cord lesion produced in the rat by beta-aminopropionitrile. **Teratology.**, v. 16, n. 3, p. 351-77, 1977.

PAGANI, M.; MALLIANI, A. Power spectral analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. **Circulation.**, v. 90, p.1826-31, 1994.

PEDERSEN, B. K.; WOODS, J. A.; NIEMAN, D. C. Exercise-Induced Immune Changes- An Influence On Metabolism? Trends. **In Immunology.**, v. 22, n.9, p. 473-75, 2001.

PEDERSEN, B. K.; TOFT, A. D. Effects Of Exercise On Lymphocytes And Cytokines. **Br J Sports Med.**, v. 34, p.246-51, 2000.

PLOUG, T. et al. Effect of immobilization on glucose transport and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. **Am J Physiol.**, V. 268, p.980- 86, 1995.

PUMPRLA, J. et al. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. **Int. J. Cardiol.**, v. 84, n.1, p. 1-14, 2002.

REAMY, B. V.; SLAKEY, J. B. Adolescent idiopathic scoliosis: review and current concepts. **Am Fam Physician.**, v.64, n. 1, p. 111-6, 2001.

REZENDE, R. et al. Machado IC, Barbosa DM, Batista PR. Computed tomography aid in preoperative planning of patients with adolescent idiopathic scoliosis. **Coluna.**, v. 9, n. 1, p. 85-89, 2010.

RIBEIRO, C. B.; BORIN, S.; SILVA, C. A. Efeito de diferentes doses de leucina sobre as reservas glicogênicas da musculatura esquelética desnervada de ratos. **Medicina (Ribeirão Preto)**., v. 45, n. 1, p. 58-65, 2012.

RICHARDSON, J. M. et al. Differential regulation of glucose transport activity and expression in red and white skeletal muscle. **J. Biol. Chem.**, v. 266, p. 12690-94, 1991.

SALVINI, T. F. Effects of electrical stimulation and stretching on the adaptation of denervated skeletal muscle: implications for physical therapy. **Rev Bras Fisioter.**, v. 16, n. 3, p. 175-83, 2012.

SANT'ANA, J. E. et al. Effect of the duration of daily aerobic physical training on cardiac autonomic adaptations. **Auton Neurosci.**, v.159, n.1-2, p. 32-7, 2011.

SANTOS-HISS MD, et al. Effects of progressive exercise during phase I cardiac rehabilitation on the heart rate variability of patients with acute myocardial infarction. **Disabil Rehabil.**, v. 33, n. 10, p. 835-42, 2011.

SARWARK, J. F.; DABNEY, K. W.; SALZMAN, S. K. Scoliosis in the rat. Methodology, anatomic features. **Spine.**, v. 13, n. 5, p. 466-71, 1988.

SCHWAB, F. A porcine model for progressive thoracic scoliosis. **Spine.**, v. 34, n. 11, p. E397-404, 2009.

SEVASTIK, B. et al. Vertebral rotation and pedicle length asymmetry in the normal adult spine. **Eur Spine.** v.4, p. 95-97, 1995.

SEVERI, M. T. M. O efeito do estrogênio nas reservas glicogênicas de musculoesqueléticos desnervados de ratas. **Rev. Bras. Fisioter.**, v.11, n. 1, p. 13-18, 2007.

SHARON, J. **Imunologia básica**. 1ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2000.

SILVA, C. A. Assessment of rat behavior with induced scoliosis by polyvinyl jackets. **Journal of Chinese clinical medicine.**, v. 3, p. 621-26, 2008.

Silva, C. A. Utilization of neuromuscular electric stimulation in the acute phase of ankle immobilization: Study in rats. **Journal of Chinese Clinical Medicine.**, 4: 249-57, 2009.

SILVA, C. A. Proposal of non-invasive experimental model to induce scoliosis in rats. **Revista Brasileira de Fisioterapia.**, v. 16, n. 3, p. 254-60, 2012.

SIU, L. O.; RUSSEAU, J. C.; TAYLOR, A.W. Determination of glycogen in small tissue samples. **J Appl Physiol.**, v. 28, n. 2 p. 234-36, 1970;

SMITH TJ, FERNIE GR. Functional biomechanics of the spine. **Spine.**, v. 16, n. 10 p. 1197-1203, 1991.

SOTHERN, M. S. et al. The health benefits of physical activity in children and adolescents: implications for chronic disease prevention. **Eur. J. Pediatr.**, v. 158, n. 4, p. 271-4, 1999.

SOUZA, H. C. D. et al. Nitric oxide synthesis blockade reduced the baroreflex sensitivity in trained rats. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical.**, v. 150, p. 38-44, 2009.

STARKIE, R. L. et al. Circulating Monocytes Are Not The Source Of Elevations In Plasma Il-6 And Tnf-Alpha Levels After Prolonged Running. **Am J Physiol.**, v. 280, p. C769-C774, 2001.

STARKIE, R. L.; ROLLAND, J.; FEBBRAIO, M.A. Effect Of Adrenergic Blockade On Lymphocyte Cytokine Production At Rest And During Exercise. **Am J Physiol Cell Physiol.**, v. 281, p. C1233-C1240, 2001.

STEENSBERG, A. IL-6 And Tnf- α Expression In, And Release From, Contracting Human Skeletal Muscle. **Am J Physiolendocrinolmetab.**, v. 283, p. E1272-E1278, 2002.

STOKES, I. A. et al. Mechanical modulation of vertebral and tibial growth: diurnal versus full-time loading. **Study Health Technol Inform.**, v. 91, p. 97-100, 2002.

Stokes IAF. Analysis of symmetry of vertebral body loading consequent to lateral spinal curvature. **Spine.** 1997; 22(21): 2495-2503.

SUZUKI, K. et al. Impact Of A Competitive Marathon Race On Systemic Cytokine And Neutrophil Responses. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 35, n. 2, p. 348-55, 2003.

TANAKA, H.; KIMURA, Y.; UJINO, Y. The experimental study of scoliosis in bipedal rat. **Arch Orthop Trauma Surg.**, v. 101, n. 1, p. 1-27, 1982.

Task Force of the European Society of Cardiology, and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. **Circulation.** v. 93, p. 1043-65, 1996.

TOBALDINI, E. et al. Symbolic analysis detects alterations of cardiac autonomic modulation in congestive heart failure rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical.**, v. 150, p. 21-26, 2009.

TROBISCH, P.; SUESS, O.; SCHWAB, F. Idiopathic scoliosis. **Dtsch Arztebl Int.**, v. 107, n. 49, p. 875-83, 2010.

TSUCHIE, H.; et al. Impact of lumbar kyphosis on gastric myoelectrical activity and heart rate variability in a model using flexion posture in healthy young adults. **Biomed Res.**, v. 32, n. 4, p. 271-8, 2011.

VASQUEZ, E. C.; KRIEGER, E. M. Decreased chronotropic responses to adrenergic stimulation following sinoaortic denervation in the rat. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.**, v. 15, n. 6, p. 377-87, 1982

VELEZIS, M.; STURM, P. F.; COBEY, J. Scoliosis screening revisited: findings from the District of Columbia. **J Pediatr Orthop.**, v. 22, n. 6, p. 788-91, 2002.

WHATMAN, C.; KNAPPSTEIN, A.; HUME, P. Acute changes in passive stiffness and range of motion post-stretching. **Physical Therapy in Sport.**, v. 7, p. 195-200, 2006.

WINTER, R. B. Classification and terminology. In: Lonstein JE, Bradford DS, Winter RB, Ogilvie J. Moe's textbook of scoliosis and other spinal deformities. 3rd ed. Philadelphia: W. B. **Saunders Company**; p. 39-44, 1994.

YANG, S. et al. Changes in muscle fibre type, muscle mass and IGF-I gene expression in rabbit skeletal muscle subjected to stretch. **J Anat.** v. 190, n. 4, p. 613-22, 1997.

ZABOROWSKA-SAPETA, K. et al. Effectiveness of Chêneau brace treatment for idiopathic scoliosis: prospective study in 79 patients followed to skeletal maturity. **Scoliosis.** v.6, n. 1, p. 2-5, 2011.

ZUTTIN, R. S. et al. Avaliação da modulação autonômica da frequência cardíaca nas posturas supina e sentada de homens jovens sedentários. **Rev. Bras. Fisioter.** v. 12, n. 1, p. 7-12, 2008.

Anexo A

Parecer comitê de ética.

Anexo A

Parecer comitê de ética.



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
propp@power.ufscar.br - www.propp.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 B

Versão submetida do estudo I

Metabolic Alterations In Skeletal Muscles of Rats With Scoliosis Induced By A PVC Jacket

Running Title: Skeletal Muscles Of Rats With Scoliosis

Luciano Julho Chingui¹
Aparecida Maria Catai²
Eder João de Arruda³
Carlos Alberto da Silva⁴

- 1- Doutorando em Fisioterapia pela Universidade Federal de São Carlos
- 2- Professora do PPG-Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar
- 3- Mestre em Fisioterapia pela Universidade Metodista de Piracicaba - UNIMEP
- 4- Professor do PPG-Fisioterapia da Universidade Metodista de Piracicaba - UNIMEP

Autor correspondente:

Luciano Júlio Chingui
ljchingui@yahoo.com.br
Universidade Metodista de Piracicaba
Faculdade de Ciências da Saúde - PPG-FT
Rodovia do Açúcar, Km 156
Campus Taquaral – Piracicaba
CEP 13400-901
Fone: (19) 91664054
(19) 30426439

RESUMO

Objetivo: avaliar alterações quimiometabólicas em músculos esqueléticos de ratos portadores de escoliose induzida por colete de filme de policloreto de vinil (PVC). **Métodos:** foram utilizados 12 ratos machos, distribuídos em dois grupos: controle (C), e escoliótico (E), de forma que o grupo (E) recebeu um dispositivo ortótico desde as fases iniciais de crescimento (pós-desmame) até a sexta semana de crescimento. Após a fase experimental os animais foram eutanasiados e encaminhados para as seguintes avaliações: peso corporal, conteúdo de glicogênio dos músculos respiratórios bem como a relação proteína total/DNA. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade, seguidos de ANOVA e post hoc de Tukey ($p < 0,05$). **Resultados:** Os resultados mostram que houve redução tanto na relação proteína total/DNA dos músculos respiratórios bem como no conteúdo de glicogênio. No que tange ao peso dos animais, foi observado que o grupo escoliótico apresentou menor peso em relação ao controle. **Conclusões:** Os resultados indicam que a alteração na homeostasia metabólica da musculatura faz parte dos eventos deflagrados durante o processo de indução de escoliose. Dessa maneira, compreende-se que o conhecimento destes eventos poderá abrir novas perspectivas para avaliação de métodos fisioterapêuticos aplicados no tratamento da escoliose.

DESCRITORES: Escoliose, glicogênio, músculo esquelético, metabolismo.

ABSTRACT

Objective: to evaluate chemical and metabolic alterations in respiratory skeletal muscles of rats with scoliosis induced by polyvinyl chloride jackets. **Methods:** twelve male rats were distributed in two groups: control (C), and scoliotic (S); the S group was fitted with an orthotic device from the beginning of the growth phase (post-weaning) until the sixth week of growth. After the experimental period, the animals were euthanized and the following evaluations were performed: body weight, glycogen content of the respiratory muscles and total protein/DNA ratio. The obtained data were submitted to normality testing and Tukey's post hoc test ($p < 0.05$). **Results:** The results show that there were reductions in both the total protein/DNA ratio of the respiratory muscles and glycogen content. The scoliotic group weighed less than the control group. **Conclusions:** The results indicate that alterations in the metabolic homeostasis of the musculature are among the events triggered during scoliosis inducement. Knowledge of these events can open new perspectives on physiotherapy methods used to treat scoliosis.

KEY WORDS: Scoliosis, glycogen, skeletal muscle, metabolism.

INTRODUCTION:

The dynamic stabilization of the spine is ensured by its intrinsic and extrinsic musculature. It is evident that alterations in strength and resistance can result in postural disorders¹. Scoliosis is characterized as a tridimensional alteration of the spine, presenting lateral curvature greater than 10° of inclination in the frontal plane, vertebral rotation in the axial plane, and alteration of physiological curvatures in the sagittal plane^{2,3}.

Scoliotic curvature can be classified as: slight, i.e., curvature between 10 and 20°; moderate, 20 to 45°; and severe above 45° of inclination. Multifactorial aspects that involve muscular or genetic alterations are among its causes^{3,4}.

In general, scoliosis manifests itself in childhood or adolescence, can affect any spinal region and results in pain. It is important to point out that radiological exams are necessary to diagnose scoliosis and quantify the curvature or curvatures. Only with this information can the best form of treatment be determined^{5,6}.

Goto et al.⁷ report that scoliosis patients present weakness and diffuse muscular hypotonia that predominate in the respiratory and paraspinal muscles. It is important to underscore this fact since it predisposes the individual to secondary complications.

Studies have indicated that the onset of scoliotic curvature can occur suddenly and progress quickly, thus predisposing the individual to a highly incapacitating condition. Another relevant factor that has been pointed out is that if diagnosis and treatment occur at an early stage, the costs are lower and there is the possibility of stabilizing or even reverting the curvature^{5,8}.

In the search to understand the mechanisms associated with scoliosis, the use of animal models can be a powerful tool, allowing difficult conditions to be mimicked, sample homogeneity and quick results providing insight into a number of mechanisms⁹.

The experimental methods found in the literature for inducing scoliosis in rats are predominantly invasive and difficult to execute: Nogami et al.¹⁰ applied intraperitoneal beta-aminopropionitrile, in order to alter the spinal ligaments; Tanaka et al.¹¹ produced bone lathyrism with the drug carbazide; Sarwark et al.¹² studied rat spine trauma; Joe¹³ induced scoliosis in rats electrically and unilaterally; Kasuga¹⁴ sutured the muscles close to the vertebrae to cause scoliotic curvature and limit movement; Machida et al.¹⁵ carried out a pinealectomy in rats and correlated the plasmatic concentration of melatonin with

postural alterations; Stokes et al.¹⁶ mechanically altered vertebrae in order to compromise the growth of chondrocytes.

Most of these methods can compromise the tissue structures around the spine, which could interfere in both the development and treatment of scoliosis.

In an effort to advance approaches to scoliosis research, the objective of this study was to test an easy methodology for inducing scoliosis in rats that involved a polyvinyl chloride (PVC) device. The following variables were investigated: body weight, curvature angle, concentrations of glycogen reserves in the paraspinal and pectoral muscles, as well as the total protein/DNA ratio after six weeks of applying the PVC device to induce scoliosis.

The hypothesis of this study was that the presented methodology would be appropriate for inducing scoliosis. Reductions in body weight, glycogen content and the protein/DNA ratio of the evaluated muscles were also expected.

MATERIALS AND METHODS

This study was approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR) (protocol 024/2006).

Animals: Twelve albino Wistar rats approximately 42 days old (weaning period) were distributed in two experimental groups (n=6): Control (C) and Scoliotic (S). Throughout the experimental period, the animals received rodent chow (Purina) and water ad libitum and were submitted to 12 hour light/dark cycles.

Scoliosis induction: The device for inducing scoliosis was made of 0.5 mm thick PVC and included two parts, one fitted around the scapular girdle and the other around the pelvic girdle. Each part had two limb openings. In order to avoid skin lesions, the openings were covered with electrical tape.

The scapular and pelvic girdle segments were drawn together unilaterally on the right side with a 0.5 mm by 10 cm wire to foster scoliotic curvature (Figures 1A and B).

The device was designed with an adjustable strap system that allowed individual adjustment according to each animal's size.

Figure 1

Every seven days the devices were removed so that the animals could be washed with saline solution. The animals' weight was then measured using a digital scale and afterwards, depending on

growth, a larger device was provided.

Curvature Angle: In order to obtain the curvature angle data in the sixth week, the animals were sedated and submitted to radiological exams. The exams were then photographed and analyzed using ALCIMAGEM 2003 software. It is important to point out that this procedure ensures the quality and reproducibility of the measurement.

Euthanasia and Procedures: At the end of the six weeks, the animals were euthanized with sodium pentobarbital (50 mg/Kg, i.p.). Bilateral samples from the paraspinal and pectoral muscles were then collected and promptly sent for biochemical evaluation of glycogenic content according to the phenol-sulfuric acid method proposed by Siu, Russeau and Taylor¹⁷.

The determination of DNA content followed the method of Giles and Myers¹⁸. A Bio Diagnóstica® lab kit was used to determine total proteins.

Kolmogorov-Smirnov was used to test normality, followed by ANOVA and Tukey's post hoc test, with a significance level of 5% ($p < 0.05$).

RESULTS

Initially, the focus of the study was to evaluate the body weight of the animals during the 6 weeks of the experiment. The S group presented a mean weight $22 \pm 1.6\%$ lower than the control group ($p < 0.05$) (Figure 2).

Figure 2

The radiological exam revealed that the S group presented "c" shaped right-convex scoliosis, with a $45.5 \pm 0.3^\circ$ ($p < 0.05$) angle of inclination. On the other hand, the C group presented no alterations in spine angle.

Figure 3

The glycogen reserves in the right paraspinal muscle (rPs) and the left Paraspinal muscle (lPe) were analyzed in the C and S groups. The data showed that there were statistically significant differences in the glycogen reserves of the paraspinal muscles, reaching 57% in the left paraspinal muscle (0.56 ± 0.01 mg/100mg Ce x 0.24 ± 0.01 mg/100mg lPs, $p < 0.05$) and 38.5% in the right paraspinal muscle (0.57 ± 0.04

mg/100mg Cd x 0.35 ± 0.01 mg/100mg rPs, $p < 0.05$) (Figure 3).

Figure 4

The pectoral muscle was also evaluated using the same parameters, and a significant reduction in the glycogen reserves was observed, reaching 43% in the left pectoral muscle (0.51 ± 0.02 mg/100mg CE x 0.29 ± 0.02 mg/100mg LP) and 35% in the right pectoral muscle (0.54 ± 0.03 mg/100mg CD x 0.35 ± 0.03 mg/100mg RP) as shown in Figure 5.

Figure 5

Finally, the total protein/DNA ratio of the paraspinal musculature was evaluated, and reductions of 50% in the right paraspinal muscle and 17% in the left paraspinal muscle ($p < 0.05$) were observed, as shown in Figure 6.

Figure 6

DISCUSSION

It is important to clarify that the main findings of the present study involve muscle glycogen concentrations and the protein/DNA ratio. The glycogen reserve was smaller in the S group, both in the paraspinal and the pectoral muscles. The total protein/DNA ratio was also reduced S group as well.

Studies on scoliosis in animals are scarce in the literature. The methodologies of extant studies involve invasive techniques that are difficult to perform and may complicate or even compromise the results of a chemical and metabolic evaluation¹⁹ since surgery and the use of drugs to induce scoliotic curvature affect not only the spine but also adjacent muscle, vascular and neural tissues. The model used in the present study preserves the tissues/structures, which can either be analyzed after the immobilization period or after therapeutic interventions to minimize the induced scoliosis.

The biomechanical analysis of the present study was based on radiological exams and indicated moderate right convex scoliosis at the thoracic-lumbar level with $45.5 \pm 0.3^\circ$ ($p < 0.05$) of inclination. There are reports in the literature that this type of curvature did not respond satisfactorily to traditional treatments over a short period of time and that the best option would be surgical techniques that might not obtain the expected results²⁰.

Due to the aforementioned considerations, studies with different experimental designs are

needed to advance clinical practice for patients who present scoliosis before other organic systems are compromised. It is known that there is a better chance of satisfactory results with early treatment. However, a basis for supporting intervention as early as possible is necessary^{19,20,21}.

The differences in glycogen concentrations between the groups show that the functional interrelation between continued contractile activity and the effectiveness of metabolic pathways were compromised.

Accordingly, it is known that variations in glycolytic content have a direct influence on the contractile dynamics profile of musculoskeletal tissue, given the importance of this substrate as a source of energy for muscle tissue. Thus, when the levels of muscle glycogen are altered, muscle performance is directly affected. High concentrations of muscle glycogen are linked with increased resistance to fatigue; on the other hand, low concentrations cause the activation of mechanisms that generate muscle fatigue and catabolism^{22,23}.

It is important to stress that the left paraspinal muscle presented 19% lower glycogen concentrations than the same muscle on the right side. This same effect was observed in the left pectoral muscle, which presented a reduction of 8% compared to the right side ($p < 0.05$). Since the right side was concave and the left side convex, it was expected that the right side would be more compromised.

The fact that the S group's glycogen content was significantly reduced may be related to the type of fiber involved in the variation, considering that Ploug et al.²⁴ reported greater susceptibility to atrophy in muscles with predominantly type I fibers.

These factors could have influenced the disuse factor; however, the device allowed motor function and locomotion by the animal. Furthermore, it has been proven in a previous study by Silva et al. that the device does not interfere in motor behavior²⁵.

The musculature suffered a significant retraction on the concave side, which could have been responsible for the metabolic alterations observed in this study.

Accordingly, several studies have observed physiological and morphological alterations in muscles immobilized in different models, such as denervation, musculoskeletal injuries, joint immobilization, prolonged repose, treatment using glucocorticoids, sepsis, cancer and even aging^{25,26}.

It was also observed that the S group's body weight was $22 \pm 1.6\%$ lower than the C group's ($p < 0.05$). This value does not refer to loss, but to underdevelopment, since there was no week in which

the weight of the S group was higher than the C group. The restriction imposed by the device may have contributed to this result.

It is important to point out the action of insulin as a regulator and modulator of carbohydrate metabolism, which influences the synthesis of protein and RNA in addition to the formation and storage of lipids²⁷. Insulin facilitates and increases the transport of glucose and amino acids to muscle cells and adipocytes, and thus increases the synthesis and storage of cell proteins, muscle glycogen and triglycerides in the adipose cells, in addition to reducing protein catabolism. Due to these functions, insulin is an important molecule for musculoskeletal system maintenance²⁷.

According to Branquinho et. al^{23,27}, the effects of insulin and muscle contraction contribute to the activation of glucose transporters by different mechanisms, which has a direct influence on the nutritional supply to the muscle. The use of the presented device to induce scoliosis could directly interfere in metabolism; however, the animal might adapt if the jacket is applied for a longer period, which would be analogous to disuse conditions from immobilization.

CONCLUSIONS

The experimental model used in this study induced scoliosis as well as bilateral metabolic alterations of the pectoral and paraspinal muscles. The total protein/DNA ratio of the muscle also presented a negative protein balance. These results demonstrate that the immobilization method used was appropriate. Knowledge of these events can open new perspectives on physiotherapy methods used to treat scoliosis.

REFERENCES

1. Reamy BV, Slakey JB. Adolescent idiopathic scoliosis: review and current concepts. *Am Fam Physician*. 2001; 64(1):111-6.
2. Del Curto D, Ueta RHS, Wajchenberg M, Martins Filho DE, Puertas EB. Variações na apresentação fenotípica da escoliose idiopática. *Coluna/Columna*. 2010; 9(1):19-23.
3. Stokes IAF. Analysis of symmetry of vertebral body loading consequent to lateral spinal curvature. *Spine*. 1997; 22(21): 2495-2503.
4. Coillard C, Rivard CH. Vertebral deformities and scoliosis. *European Spine Journal*. 1996 ; 5: 91-100.
5. Ferreira DMA, Defino HLA. Estudo clínico da mensuração da gibosidade e suas correlações com as medidas radiológicas na escoliose idiopática. Ribeirão Preto, 1999. 76 p. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia)- Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
6. Hebert S, Xavier R, Arlindo JRPG, Filho DBPE, Tarcisio et al. *Ortopedia e traumatologia: princípios e prática*, 2. ed. POA-RS: Artes Médicas, 1998.

7. Goto M, Kawakami N, Azegami H, Matsuyama Y, Takeuchi K, Sasaoka R. Buckling and bone modeling as factors in the development of idiopathic Scoliosis. *Spine*, 28 (4): 364-70, 2003
8. Smith TJ, Fernie GR. Functional biomechanics of the spine. *Spine*, v. 16, n. 10, p. 1197-1203, 1991.
9. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery*. 1999; 44(5): 1027-39.
10. 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.
11. Tanaka H, Kimura Y, Ujino Y. The experimental study of scoliosis in bipedal rat. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1982; 101(1): 1-27.
12. Sarwark JF, Dabney KW, Salzman SK. Scoliosis in the rat. Methodology, anatomic features. *Spine*. 1988; 13(5): 466-471.
13. Joe T. Studies of experimental scoliosis produced by electric stimulation. *Nippon Zasshi*. 1990; 57(5): 416-426.
14. Kasuga K. Experimental scoliosis in the rat spine induced by binding the spinous processes. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*. 1994; 68(9): 789-807.
15. 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): 843-848.
16. Stokes IA, Gwadera J, Dimock A, Aronsson DD. Mechanical modulation of vertebral and tibial growth: diurnal versus full-time loading. *Study Health Technol Inform*. 2002a; 91: 97-100.
17. Siu LO, Russeau JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol*. 1970; 28(2): 234-236.
18. Giles KW, Myers. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature*. 1965; 206(4979): 93-95.
19. Arruda EJ, Silva CA, Guirro RRJ. Avaliação das reservas glicogênicas dos músculos peitorais e paravertebrais após indução de escoliose em ratos. In: 6º Mostra Acadêmica da UNIMEP - XVI Congresso de Iniciação Científica, 2008, Piracicaba. **Anais da 6º Mostra Acadêmica da UNIMEP**, 2008.
20. Rezende R, Machado IC, Barbosa DM, Batista PR. Computed tomography aid in preoperative planning of patients with adolescent idiopathic scoliosis. *Coluna/Columna*. 2010; 9(1): 85-89.
21. Iunes DH, Cecílio MBB, Dozza MA, Almeida PR. Análise quantitativa do tratamento da escoliose idiopática com o método klapp por meio da biofotogrametria computadorizada. *Rev. bras. fisioter*. 2010; 14(2): 133-140.
22. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. *Fisiologia do Exercício: energia, nutrição e desempenho humano*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
23. Coderre L, Vallega GA, Pilch PF, Chipkin SR. Regulation of glycogen concentration and glycogen synthase activity in skeletal muscle of insulin-resistant rats. *Arch Biochem Biophys*. 2007; 277(2): 1514-23.
24. Ploug T, Ohkuwa T, Handberg A, Vissing J, Galbo H. Effect of immobilization on glucose transport and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1995; 268: 980-986
25. Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VKM, Nunez L, Clarkeba et al. Identification of Ubiquitin Ligases Required for Skeletal Muscle Atrophy. *Science*. v.15, n.12, p.1704-1708, 2001.

26. Silva CA, Guirro RRJ, Fonseca W, Arruda EJ, Grassi DO. Assessment of rat behavior with induced scoliosis by polyviny jackets. *Journal of Chinese clinical medicine*. 2008; 3: 621-626.
27. Branquinho R, Arruda EJ, Chingui LJ, Grassi DO, Silva CA. Insulin Secretion and muscle glycogen reserves in tamoxifen treated female rats. *Journal of Chinese clinical medicine*. 2008; 3: 254-260.

Figures

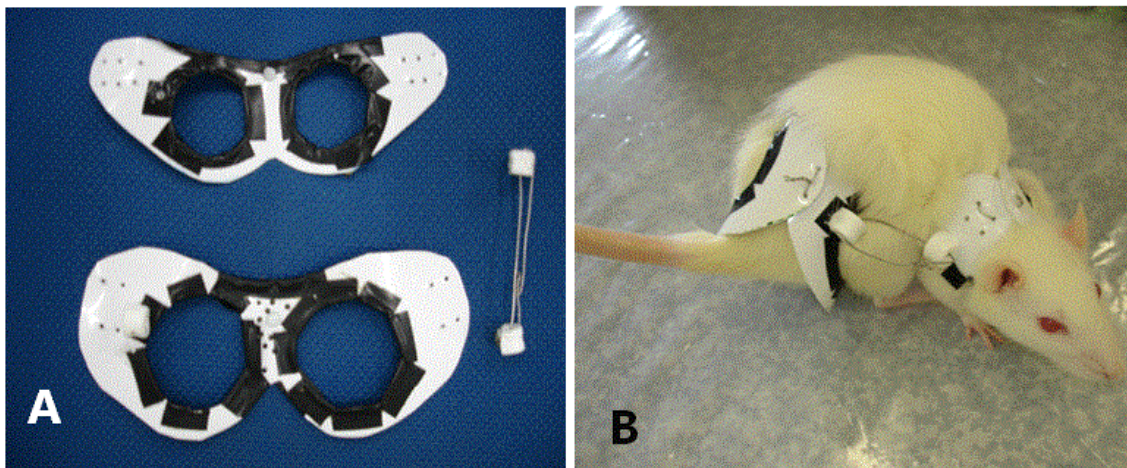


Figure 1. (A) Components of the PVC device. (B) Device adjusted and in use, drawing together the scapular and pelvic girdles to cause concavity on the animal's right side .

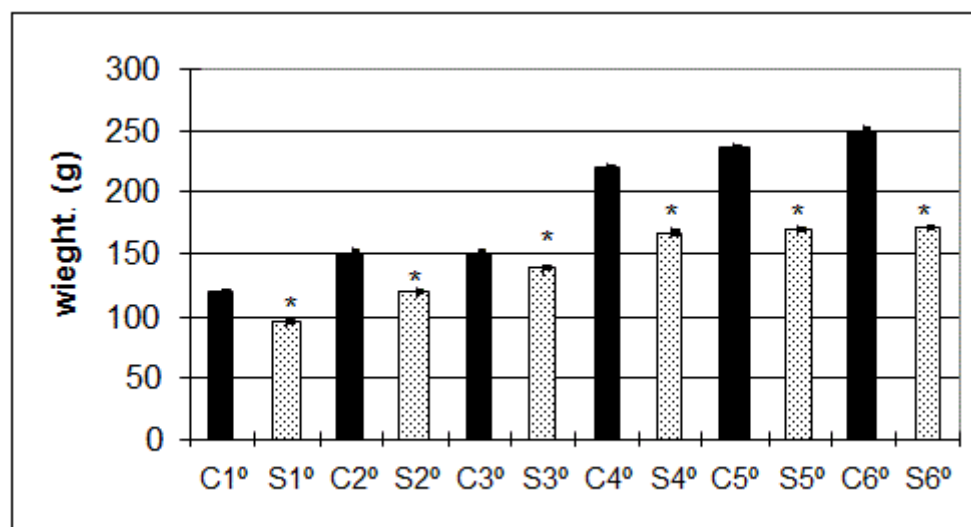


Figure 2. Weight (g) of the control rats (C) and scoliotic rats (S) from the 1st through the 6th week of follow up. The values correspond to the mean \pm sem (standard error of the mean), n=6. *p<0.05 compared to the control.

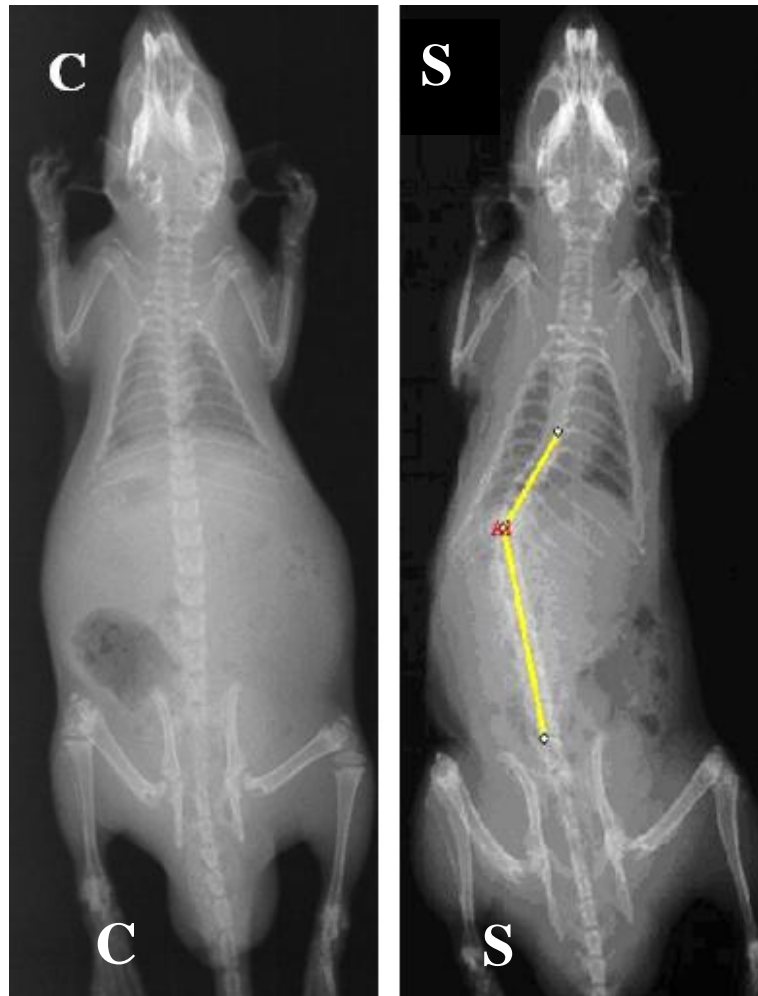


Figure 3 – Radiographic exams of the control (C) and scoliotic (S) groups show an inclination of the spine characteristic of scoliosis.

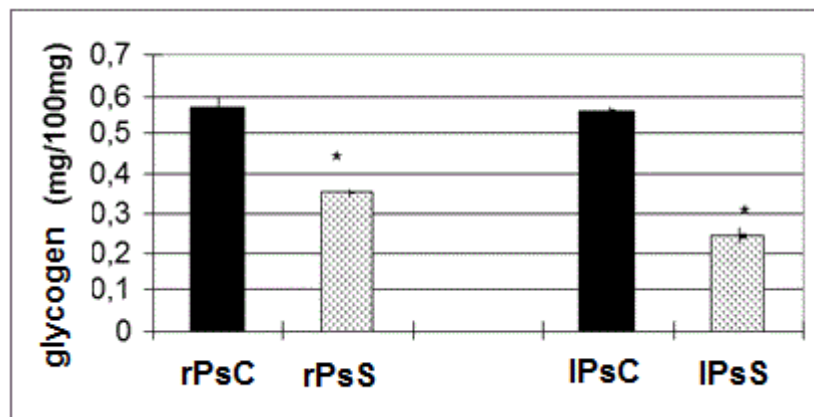


Figure 4. Glycogen content (mg/100mg) of the right (r) and left (l) paraspinal muscles (Ps) of control (C) and scoliotic (S) rats after 6 weeks. The values correspond to the mean \pm sem, n=6. *p<0.05 compared to controls.

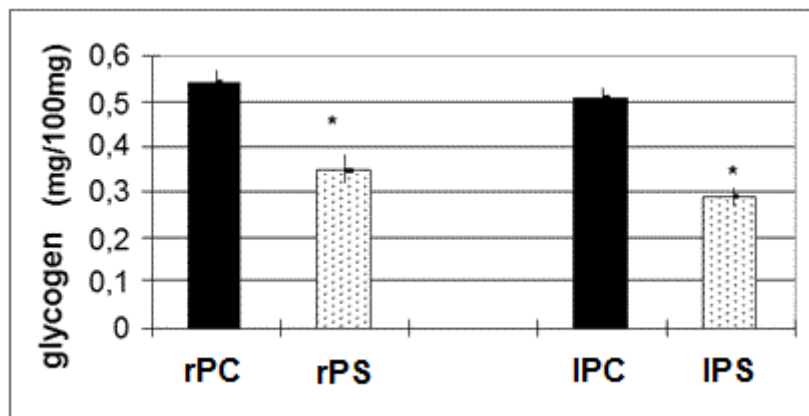


Figure 5. Glycogen content (mg/100mg) of the right (r) and left (l) pectoral muscle (P) of control (C) and scoliotic (S) rats after 6 weeks of scoliosis. The values correspond to the mean \pm sem, n=6. *p<0.05 compared to controls.

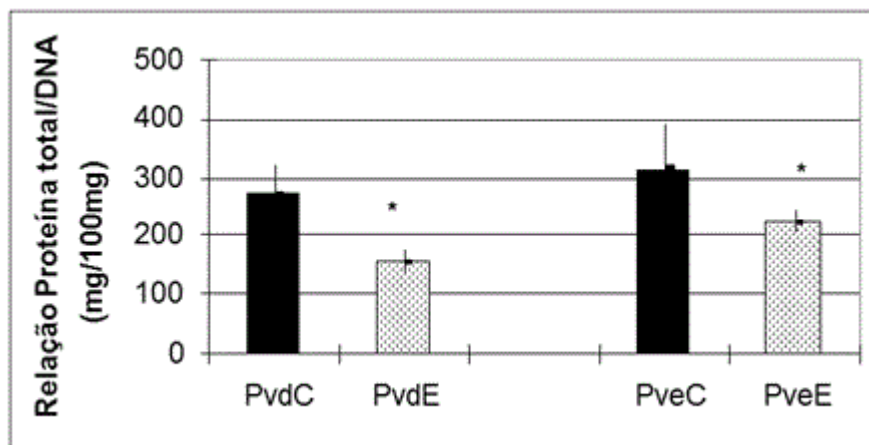


Figure 6. Total protein/DNA ratio (mg/100mg) of the right (r) and left (l) paraspinal muscle (Ps) of control (C) and scoliotic (S) rats after 6 weeks. The values correspond to the mean \pm sem, n=6. *p<0.05 compared to controls.

Anexo C

Versão submetida do estudo II

Influência do alongamento muscular sobre a concentração de interleucinas de ratos escolióticos

LUCIANO JULHO CHINGUI¹, APARECIDA MARIA CATAI², CARLOS ALBERTO DA SILVA³

- 1- Doutorando em Fisioterapia pela Universidade Federal de São Carlos
- 2- Professora do PPG-Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar
- 3- Professor do PPG-Fisioterapia da Universidade Metodista de Piracicaba - UNIMEP

Autor de correspondência:
Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva
Universidade Metodista de Piracicaba
Faculdade de Ciências da Saúde - PPG-FT
Rodovia do Açúcar, Km 156
Campus Taquaral – Piracicaba
CEP 13400-901
Fone: (19) 3124-1558
casilva@unimep.br

Palavras-chave: Escoliose, Exercícios de Alongamento Muscular, Interleucina-6, Fator de necrose tumoral alfa

Key words: Scoliosis, Muscle Stretching Exercises, Interleukin-6, Tumor Necrosis Factor-alpha

running title: Alongamento de ratos escolióticos

RESUMO

Objetivo: Analisar a concentração sérica das citocinas interleucina-2, interleucina-6, e fator de necrose tumoral-alfa após 36 sessões de alongamento muscular, em animais com escoliose. **Métodos:** Ratos machos foram distribuídos em quatro grupos de n=8: Controle (C), Alongado (A), Escoliótico (E) e Escoliótico Alongado (EA). O alongamento consistiu de 3 séries de 30 segundos com intervalos de 10 segundos entre as séries. A coleta de sangue foi realizada na veia renal, com o rato sob anestesia com pentobarbital sódico (40 mg/Kg). O sangue foi encaminhado para avaliação das citocinas. A análise estatística foi realizada por meio da ANOVA, seguido do teste t-Student e os resultados expressos em média \pm erro padrão da média, $p < 0,05$. **Resultados:** O grupo A não apresentou alterações de IL-2, contudo, no grupo E a IL-2 foi maior em 8%, ao passo que, no grupo EA a IL-2 foi maior em 6%. Quanto às concentrações de IL-6, o grupo A apresentou valores 9% menores, ao passo que o grupo E os valores foram maiores em 15%, porém, no grupo EA os valores foram apenas 4% maiores. A avaliação da TNF- α no grupo A não mostrou diferença do controle, contudo, no grupo E os valores foram 10% maiores e no grupo EA foram apenas 4% maiores. **Conclusões:** As variações nas concentrações séricas de citocinas sugerem que o processo de indução da escoliose promove desuso muscular enquanto que o alongamento constitui-se em uma intervenção capaz de se contrapor aos danos decorrentes do processo escoliótico.

ABSTRACT

Objective: to analyze serum concentrations of cytokines interleukin-2, interleukin-6, and tumor necrosis factor- alpha after 36 sessions of muscle stretching in animals with scoliosis. **Methods:** Male rats were divided into four groups, n = 8: Control (C), stretching (S) scoliotic (L) and scoliotic stretching (LS). The stretching consists of three sets of 30 seconds with 10 seconds intervals between them. While the rats were under the effect of the sodium pentobarbital (40 mg / kg), the blood was collected through the renal vein and then sent for evaluation of cytokines. Statistical analysis was performed using ANOVA followed by the t-Student test and the results expressed by mean \pm standard error of the mean, $p < 0.05$. **Results:** In spite of the group S does not provide alterations of IL-2, the groups L and LS show larger values represented by 8% and 6%, respectively. Regarding concentrations of IL-6, the group S were 9% lower, while the group L 15% higher, however, the group LS values were only 4% higher. The assessment of TNF- α in the group S showed no difference from the control, even so, the group L values were 10% and LS group were only 4% higher. **Conclusions:** Changes in serum cytokines suggest that the induction of scoliosis promotes muscle disuse while stretching consists in an intervention that can counteract the damage caused by scoliotic process.

INTRODUÇÃO

Escoliose é o termo utilizado para designar o desvio lateral da coluna vertebral. Frequentemente, essa alteração estrutural e funcional promove deformidades também nos planos frontal e sagital, e pode comprometer a funcionalidade corporal¹.

A incidência mundial de escoliose na população de adolescentes está em torno de 3%, o que é considerada alta². Em adultos a deformidade também se expressa em grandes proporções com severos prejuízos na qualidade de vida³.

A partir da concepção de que a escoliose promove na musculatura paravertebral um status de desuso⁴, torna-se sugestivo pensar que algumas citocinas inflamatórias possam estar envolvidas nesse processo, pois de acordo com a revisão realizada por Kandarín e Stenverson⁵, as citocinas inflamatórias IL1 e TNF- α estão entre as moléculas capazes de desencadear hipotrofia muscular em situações de desuso. Parte desses achados foram confirmados por Chopard, Hillock e Jasmin⁶, em trabalho de revisão, em que os autores observaram a participação da TNF- α nos mecanismos indutores de hipotrofia muscular em ratos.

No aspecto fisiológico sabe-se que as citocinas são proteínas de baixo peso molecular, as quais auxiliam no controle e mediação das interações entre as células responsáveis pelas respostas imunes. Neste sentido, tem sido descrito que concomitante a prática de exercício físico há modificações na liberação seqüencial de citocinas proinflamatórias (TNF- α e IL-6) e antiinflamatórias (IL-10 e IL1ra). Vários estudos têm relatado que atividade física altera a competência do sistema imunitário, tal interferência varia de acordo com o tempo e intensidade do exercício físico. Apesar dos mecanismos envolvidos ainda não estarem totalmente elucidados, há indícios de interações neuroendócrinas participantes do processo de ativação das citocinas⁷.

Na terapêutica para escoliose em humanos, diversas técnicas podem ser empregadas, entre as quais pode-se destacar a técnica de Klapp, a reeducação postural global e o alongamento. Vale salientar que na prática clínica a técnica de alongamento tem sido considerada a de maior efetividade⁸.

Um recente trabalho de revisão realizado por Salvini *et al.*⁹ observou que o alongamento é uma técnica vastamente utilizada, tanto em indivíduos saudáveis, como nos processos de reabilitação e também em estudos experimentais com animais. Nesse sentido, Gomes *et al.*,¹⁰ observaram em músculos de ratos, que o alongamento

desencadeia um importante estímulo em mRNA de proteínas musculares, e dessa forma promove hipertrofia por aumento de sarcômeros em série.

É nesse contexto que uma diversidade de estudos experimentais que abordam alongamento em animais têm sido desenvolvidos, especialmente com a finalidade de se buscar melhor compreensão dos diferentes mecanismos moleculares desencadeados pelo exercício de alongamento.

Dessa maneira, Yang *et al.*¹¹ ao estudarem o efeito do alongamento nos músculos extensor longo dos dedos, tibial anterior e sóleo de coelho observaram que o alongamento é uma manipulação capaz de melhorar a funcionalidade muscular pela capacidade de aumentar a vascularização, induzir mecanismos de síntese protéica, por estimular a liberação de fatores de crescimento, por reduzir a proliferação de tecido conjuntivo e conseqüentemente minimizar fibrose. As ponderações de Yang *et al.*¹¹ foram também observadas e ratificadas por Konno *et al.*¹². Nesse estudo os autores induziram imobilização do músculo sóleo de ratos, e posteriormente promoveram a remobilização por meio de alongamento estático.

Além dos efeitos do alongamento no tecido muscular, estudos recentes têm dedicado esforços no sentido de entender também as ações da técnica no tecido conjuntivo intramuscular. Assim, Coutinho, DeLuca e Salvini¹³ observaram em músculo sóleo de ratos que a imobilização promove efeito redutor tanto nas proteínas musculares quanto na matriz de tecido conjuntivo intramuscular, ao passo que o alongamento do sóleo encurtado se contrapõe a esses efeitos e promove reorganização molecular das lâminas de colágeno, além de hipertrofia do músculo sóleo encurtado.

Ainda nesse contexto, em trabalhos com humanos, Whatman, Knappstein e Hume¹⁴ observaram melhora da amplitude de movimento em ísquitibiais de humanos em resposta ao exercício de alongamento enquanto Gallon *et al.*¹⁵ observaram que a prática dos exercícios de alongamento melhorou a flexibilidade e o desempenho muscular em mulheres idosas.

Considerando que, a escoliose promove na musculatura paravertebral um status de desuso, e que algumas citocinas inflamatórias possam estar envolvidas nesse processo^{5,6}, e que o alongamento muscular propicia modificações dessa musculatura é que justifica o presente trabalho. Ressalta-se que, no nosso conhecimento, na literatura científica levantada não foram encontrados estudos que abordassem de forma conjunta escoliose, alongamento muscular e citocinas.

Nesse contexto, a hipótese do presente trabalho é de que a escoliose pode gerar danos na musculatura paravertebral, danos esses que podem ser acentuados em presença de algumas citocinas, ao passo que a manipulação com alongamento pode reverter os danos decorrentes da escoliose.

OBJETIVO

Os objetivos do presente trabalho foram: avaliar a concentração sérica das citocinas IL-2, IL-6 e TNF- α após 12 semanas de indução de escoliose por meio de colete de PVC e analisar a influência de 36 sessões de alongamento sobre a concentração das mesmas citocinas.

MATERIAIS E MÉTODOS

ANIMAIS: Foram utilizados 32 ratos albinos Wistar adquiridos da empresa ANILAB - Paulínia, SP. Os animais foram alimentados com ração e água *ad libitum*, submetidos a ciclo fotoperiódico claro/escuro de 12h e mantidos em gaiolas coletivas (4 animais) à temperatura ambiente controlada em torno de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$. O tratamento dos animais seguiu o “*Guide for Care use of Laboratory Animals* (National Research Council, 1996)”. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (Parecer 024/2006).

GRUPOS EXPERIMENTAIS: Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais, com $n=8$ em cada e denominados: Controle (C), Alongado (A), Escoliótico (E) e Escoliótico Alongado (EA).

Aplicação do Dispositivo: Os animais receberam o dispositivo de PVC (policloreto de vinil) na fase pós desmame (42 dias), o dispositivo exerce inclinação da coluna para a direita, com indução de escoliose sinistro convexa ou em “C” à direita. O dispositivo foi trocado a cada 07 dias até a 12ª semana de experimento, de acordo com o modelo proposto por Silva *et al.*¹⁶.

Alongamento: Foi utilizado um protocolo de alongamento estático, por ser de realização passiva e de fácil aplicabilidade. Esse constituiu-se de 3 séries de 30 segundos com intervalo de 10 segundos entre as séries¹⁷. O procedimento foi realizado 3 vezes por semana no período de 12 semanas totalizando 36 sessões.

A cada sessão de alongamento, o animal teve o dispositivo de PVC removido para que o experimentador segurasse o animal pela cintura escapular e pélvica no sentido longitudinal, e pressionasse a convexidade toracolombar com os polegares, de modo que a coluna ficasse em uma angulação de $\pm 70^\circ$ de inclinação e discreta flexão contrária à inclinação induzida pelo dispositivo. Os animais não foram anestesiados. Convém ressaltar que a mensuração da angulação do alongamento foi realizada com uso de goniômetro, de forma que o eixo foi posicionado sobre a vértebra vértice (junção das semi-retas) que teve a área de superfície tricotomizada. Essa posição de alongamento foi idealizada pelo nosso grupo de pesquisa, sendo essa a primeira vez em que é utilizada, não há na literatura científica estudos que tenham alongado músculos paravertebrais de ratos. Imediatamente ao término da sessão o dispositivo de indução foi recolocado, vide figura 1.

Ressalta-se que, a medida com o goniômetro foi utilizada como critério para garantir a mesma angulação em todos os animais alongados.

Coleta da amostra sanguínea:

A coleta do sangue foi realizada por meio da veia renal sob anestesia com pentobarbital sódico (40 mg/Kg, intra peritoneal). De cada animal foram coletados em torno de 4ml de sangue. Em seguida o sangue foi centrifugado por 10 minutos e o plasma separado foi acondicionado em *eppendorf*, armazenado em *freezer -70°* e posteriormente encaminhado para a análise de citocinas.

Dosagem sérica de IL-2, IL-6 e TNF- α

Para determinação das citocinas séricas foi utilizado o método ELISA, seguindo as especificações correspondentes ao Kit (Bio Source International)¹⁸.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi inicialmente realizada pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov. Uma vez constatada a distribuição normal das variáveis, os dados foram submetidos à ANOVA de uma via. Sempre que a diferença foi apontada, deu-se continuidade à análise por meio do teste t-Student. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média, $p < 0,05$.

RESULTADOS

A concentração sérica da Interleucina-2 (IL-2) não apresentou diferença estatística entre os grupos controle e o submetido às sessões de alongamento, enquanto no grupo escoliótico foram verificados valores 8% maiores, sendo as diferenças estatisticamente significantes se comparadas ao controle. O grupo escoliótico submetido a alongamento também apresentou diferença estatística em relação ao grupo escoliótico não tratado e as concentrações séricas ainda permaneceram 6% maiores que os valores constatados no grupo controle, como mostra a figura 2.

Quanto a concentração sérica de interleucina 6, os resultados também mostram diferenças estatísticas; observa-se que os valores foram 9% menores no grupo alongado comparativamente ao controle. Um fato importante foi observado no grupo escoliótico onde as concentrações séricas apresentaram valores 15% maiores em relação ao controle, ao passo que no grupo escoliótico alongado as concentrações foram somente 5,7% maiores, que as do grupo controle (vide figura 3). Na comparação entre os grupos escolióticos, observa-se que o alongado (EA) apresenta valores estatisticamente menores.

Na avaliação das concentrações séricas do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), não foram verificadas diferenças entre os grupos alongados e controle. Quanto ao grupo escoliótico verificou-se valores 10% maiores que o controle, enquanto o grupo escoliótico alongado apresentou valores somente 4% maiores nas concentrações séricas de TNF- α , comparativamente ao controle, como pode ser observado na figura 4.

Na análise geral entre os grupos escolióticos, observa-se que o escoliótico alongado apresentou menores valores de IL2 (Fig2), IL6 (Fig3) e TNF- α (Fig4), em relação ao grupo escoliótico, com diferenças estatisticamente significantes.

Na avaliação da variação do peso corporal dos animais durante as 12 semanas de indução da escoliose, por colete de PVC, foi observado que os ratos escolióticos

apresentaram pesos médios 29,4% menores se comparados ao controle, como pode ser observado na figura 5.

DISCUSSÃO

O principal achado do presente estudo é que o grupo de ratos jovens com escoliose induzida por colete de PVC e submetidos a 36 sessões de alongamento de musculatura paravertebral apresenta menores valores das concentrações plasmáticas de IL-2, IL6 e TNF- α , comparativamente ao grupo escoliótico.

De acordo com Pedersen¹⁹, dentre as múltiplas dinâmicas que podem induzir modificações no perfil sérico das citocinas a frequência da atividade muscular, a intensidade e a duração do exercício físico merecem destaque. Contudo, não foram encontrados estudos avaliando a concentração de citocinas frente ao exercício de alongamento.

As citocinas pró-inflamatórias favorecem a produção de reações inflamatórias no organismo. São elas: IL-1, IL-6, IL-8, fator de necrose tumoral- α (TNF α) e aquelas produzidas por células Th1 (IL-2 e interferon- γ). As citocinas com ação anti-inflamatória favorecem a produção de imunoglobulina E, e ativação e/ou produção de eosinófilos, nesse grupo se encontra o receptor antagonista de IL-1, o fator de crescimento de transformação- β (TGF- β), e as citocinas produzidas por células Th2 (IL-4, IL-5 e IL-10). Um desequilíbrio entre as citocinas pró e anti-inflamatórias pode induzir respostas inflamatórias²⁰.

A IL-2 exerce efeito regulador na maioria das células corporais, especialmente células do sistema imune, ela é primariamente produzida pelos linfócitos T e linfócitos NK, e exerce um importante papel nas respostas celulares humorais e inflamatórias²¹. As ações da IL-2 incluem a estimulação da proliferação e diferenciação de células B e T, elevação da citotoxicidade de linfócitos tanto pelas células NK como pelas células citotóxicas, ativação de monócitos/macrófagos, e a liberação de outras citocinas como TNF- α e IFN γ ²².

No que se refere as concentrações de IL-2, observa-se que os valores são maiores nos grupos escolióticos comparativamente ao controle, contudo o alongamento promoveu importante modificação, uma vez que o grupo escoliótico alongado

apresentou menor concentração dessa interleucina em comparação com o grupo escoliótico.

A comparação entre o grupo apenas alongado com o grupo controle não mostrou diferenças significativas na concentração de IL-2. Este dado tem suporte em diversos estudos realizados com humanos que se exercitaram (uma única sessão por uma hora) onde também não foram observadas alterações estatisticamente significativas na concentração sérica de IL-2²³.

Quanto à concentração plasmática da IL-6 foi observado que o alongamento também reduziu suas concentrações, esse efeito ocorreu tanto no grupo apenas alongado, quanto no grupo escoliótico alongado.

A IL-6 é uma molécula de sinalização intercelular tradicionalmente associada ao controle de respostas imunológicas. Ela é secretada pelos macrófagos e linfócitos em resposta a lesão ou infecção²⁴. Com relação ao músculo esquelético, sabe-se que a elevação de citocinas pró-inflamatórias como a IL-6, geralmente ocorre em consequência de lesão no tecido muscular induzida por atividades de alta intensidade²⁵. No entanto, cabe salientar que, já foi descrito que a produção da IL-6 durante o exercício ocorre mesmo na ausência de lesão muscular induzida pelo exercício ou em exercícios de intensidade leve em que a concentração de IL-6 apresenta-se reduzida²⁶. Esses fatos poderiam corroborar os achados do presente estudo onde foram encontradas menores concentrações de IL-6 após sessões de alongamento.

A partir dos resultados observados, bem como da compreensão do papel das citocinas no metabolismo muscular, compreende-se que o processo de indução de escoliose pode ser um método que promove desuso muscular, devido a imobilização da musculatura paravertebral sob os coletes¹⁶. Por outro lado, a intervenção com o exercício de alongamento mostrou resultados importantes no sentido de reduzir as citocinas IL-2 e IL-6, nos grupos escolióticos submetidos a alongamento.

Outra observação de grande valor é que a aplicação da técnica em ratos normais, ou seja, em ratos que foram apenas alongados, também resultou na redução significativa da concentração da IL-6. Evidentemente, esse fato sugere que o alongamento pode ser utilizado também como técnica de prevenção dos efeitos do desuso muscular.

Os resultados também mostram que a massa corpórea do grupo escoliótico foi significativamente menor que a massa do grupo controle. Classicamente os processos de desuso promovem redução na sensibilidade insulínica, redução na eficiência das vias

responsáveis pela geração de reservas de substratos metabolizáveis e aumento no catabolismo, e assim promovem hipotrofia²⁷. Este comprometimento no desenvolvimento da massa muscular poderia explicar a menor massa corporal dos animais escolióticos.

Outro estudo que pode acrescentar o entendimento da razão pela qual os animais escolióticos apresentaram menor massa corpórea é o de Wallenius *et al.*²⁸, onde foi observada redução significativa no peso corporal de ratos tratados com infusão de IL-6 durante 18 dias.

Neste aspecto, possivelmente o desuso promovido pelo colete, possa ter promovido catabolismo pela redução e limitação na capacidade contrátil. Sabe-se ainda que elevação na concentração sérica de IL-6 também tem relação com o maior estresse mecânico muscular, fato que pode ter ocorrido, por imposição do colete utilizado no processo de indução da curvatura escoliótica²⁹.

Segundo observações de Keller *et al.*²⁵, músculos esqueléticos de humanos sob atividade física ativaram a transcrição do gene de IL-6, e esta resposta foi particularmente aumentada quando o conteúdo de glicogênio muscular era baixo. A partir destes achados os mesmos autores estabeleceram que o tecido muscular é uma fonte de produção de IL-6, e que a concentração de glicogênio muscular pode ser um determinante crítico e regula a resposta desta molécula glicoproteica ao exercício.

Pedersen *et al.*¹⁹, sugeriram que a interleucina-6 é produzida setorizadamente pelo músculo esquelético e secretada na circulação em grandes quantidades, assim, é sugestivo o fato de que a IL-6 pode exercer um importante papel na manutenção da homeostasia da glicose, fato que caracteriza ação similar a um hormônio, e otimiza a resposta metabólica durante a atividade muscular.

No aspecto deste trabalho observa-se que a musculatura escoliótica apresenta crise energética que pode ter sido gerada por baixas reservas glicogênicas ou possíveis microlesões teciduais, as quais possibilitam a sinalização para produção e liberação aumentada de IL-6. O trabalho realizado por Silva *et al.*¹⁶ observou baixas reservas glicogênicas em músculos da curvatura escoliótica.

Quanto à concentração sérica de TNF- α , foram observadas concentrações séricas maiores no grupo escoliótico, as quais apresentam-se reduzidas no grupo escoliótico alongado. Nesse sentido, pode-se inferir que o imobilismo gerado pelo colete pode proporcionar um status geral estressor marcado por elevação nas

concentrações de glicocorticóides. Vale lembrar que a TNF- α é muito sensível aos glicocorticóides, fato que indica que as variações fisiológicas neste hormônio podem exercer importante papel na regulação da produção de TNF- α e também de outras citocinas como a IL-1 β e IL-6³⁰.

O fator de necrose tumoral (TNF- α) está inserido no grupo de citocinas pró-inflamatórias e atua de maneira significativa na coordenação das respostas inflamatórias do organismo. A partir da compreensão de que o exercício físico pode romper a homeostasia celular, não é surpreendente que este possa elevar as concentrações plasmáticas de várias citocinas. O TNF- α induz efetivamente respostas inflamatórias locais e auxilia no controle de infecções. No entanto, a produção sistêmica de TNF- α pode levar a sepse, choque, e morte³¹.

Sabe-se que o TNF- α , também é expresso no músculo esquelético humano³², e está associado também à resistência insulínica e a diabetes tipo 2³³. Possivelmente, o status energético do músculo esquelético pode ter relações com o aumento do TNF- α ²². Apesar de altas concentrações do RNAm de TNF- α terem sido demonstradas no tecido muscular em pacientes com resistência a insulina, não se pode afirmar a existência de uma relação causal entre insulina e TNF- α ³⁴. É importante salientar que o alongamento é um recurso terapêutico manual de alta efetividade, trata-se de uma técnica que tem sido amplamente aplicada na prática clínica de reabilitação, e seus efeitos têm sido fundamentados em diferentes trabalhos experimentais com animais⁹. Contudo não encontramos relatos na literatura científica entre alongamento e interleucinas.

Diante de todas as considerações é importante ressaltar que o trabalho em tela, bem como o modelo experimental utilizado traz contribuições ao evidenciar alterações nas citocinas frente ao *status* de escoliose e ao exercício de alongamento.

O presente estudo apresenta algumas limitações. A primeira delas é que o protocolo de alongamento foi realizado sem anestesia, com isso, não foi possível avaliar presença ou não de dor durante o procedimento; segunda, uma avaliação bioquímica de enzimas da via de sinalização insulínica, poderia expressar de forma mais precisa eventos deflagrados pela escoliose no sistema muscular, bem como os benefícios decorrentes do processo de alongamento.

CONCLUSÕES

A intervenção com alongamento, aplicada durante 36 sessões, promoveu uma significativa redução das concentrações das citocinas IL-2, IL-6 e TNF- α , em ratos escolióticos. Dessa maneira, esse trabalho sugere que o processo de indução de escoliose promove uma situação de desuso muscular, ao passo que o alongamento se configura como uma intervenção capaz de se contrapor aos danos decorrentes do processo escoliótico.

Adicionalmente, a aplicação da técnica em ratos que foram apenas alongados, também resultou em redução significativa da IL-6. Esse fato sugere que o alongamento pode ser utilizado também como técnica de prevenção dos efeitos do desuso muscular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lopez F, Guille J, Bowen J. Rotation of the Spine in Congenital Scoliosis. *J Pediatr Orthop.* 1995;15(4):528-34.
2. Trobisch P, Suess O, Schwab F. Idiopathic scoliosis. *Dtsch Arztebl Int.* 2010; Dec; 107(49): 875-83.
3. 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.
4. Silva CA, Guirro RRJ, Fonseca W, Arruda EJ, Grassi DO. Assessment of rat behavior with induced scoliosis by polyviny jackets. *Journal of Chinese clinical medicine.* 2008; 3: 621-626.
5. Kandarian SC, Stevenson EJ. Molecular events in skeletal muscle during disuse atrophy. *Exer Sports Sci Rev.* 2002; 30:111-6.
6. Chopard A, Hillock S, Jasmin BJ. Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. *J. Cell. Mol. Med.* 2009; 13(9B): 3032-50.
7. Sharon, J. *Imunologia básica.* 1ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2000.
8. Iunes 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.
9. Salvini TF, Durigan JL, Peviani SM, Russo TL. Effects of electrical stimulation and stretching on the adaptation of denervated skeletal muscle: implications for physical therapy. *Rev Bras Fisioter.* 2012; 16(3):175-83.
10. Gomes ARS, Soares AG, Peviani SM, Nascimento RB, Moriscot AS, Salvini TF. The effect of 30 minutes of passive stretch of the rat soleus muscle on the myogenic differentiation, myostatin and atrogen-1 gene expressions. *Arch Phys Med Rehabil.* 2006; 87(2):241-6.
11. 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.
12. 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.
13. Coutinho EL, DeLuca C, Salvini TF. Bouts of Passive Stretching after Immobilization of the Rat Soleus Muscle Increase Collagen Macromolecular Organization and Muscle Fiber Area. *Connective Tissue Research.* 2006; 47: 278–286.
14. 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.
15. Gallon D, Rodacki ALF, Hernandez SG, Drabovski B, Outi T, Bittencourt, L.R. and Gomes, A.R.S. The effects of stretching on the flexibility, muscle performance and functionality of institutionalized older women. *Braz J Med Biol Res,* March 2011, 44(3) 229-235.

16. Silva, CA; Guirro, RR; Arruda, EJ; Delfino, GB. Proposal of non-invasive experimental model to induce scoliosis in rats. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, 2012; 16(3) 254-60.
17. Bandy WD, Irion JM. The effect of time on static stretch on the flexibility of the hamstring muscles. *Phys Ther*. 1994; 74(9):845-52.
18. Nishiyama, A.; Cavaglieri, C.R.; Curi, R.; Calder, P.C. Arachidonic Acid-Containing Phosphatidylcholine Inhibits Lymphocyte Proliferation And Decreases Interleukin-2 And Interferon- γ Production From Concanavalin A-Stimulated Rat Lymphocytes. *Biochimica Et Biophysica Acta*. 2000; 1487:50-60.
19. Pedersen, B.K.; Woods, J.A.; Nieman, D.C. Exercise-Induced Immune Changes- An Influence On Metabolism? *Trends In Immunology*. 2001; 22(9): 473-475.
20. Kelly, D.A The Use Of Anti-Interleukin-2 Receptor Antibodies In Pediatric Liver Transplantation. *Pediatr Transplant*. 2001; 5(6): 386-9.
21. Janeway CA, Travers P. *Immunobiology: The Immune System In Health And Disease*. 2^a Ed. London: Current Biology Ltd. 1996.
22. Steensberg, A, Keller C, Starkie RL, Osada T, Febbraio MA, Pedersen, BK. IL-6 And Tnf- α Expression In, And Release From, Contracting Human Skeletal Muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002; 283: E1272-E1278.
23. Mcfarlin BK, Flynn MG, Stewart LK, Timmerman KL. Carbohydrate Intake During Endurance Exercise Increases Natural Killer Cell Responsiveness To Il-2. *J Appl Physiol*. 2004; 96: 271-275.
24. Pedersen, BK, Toft AD. Effects Of Exercise On Lymphocytes And Cytokines. *Br J Sports Med*. 2000; 34: 246-251.
25. Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, Osada, T, Saltin, B.; Pedersen, BK, *et al* Transcriptional Activation Of The Il-6 Gene In Human Contracting Skeletal Muscle: Influence Of Muscle Glycogen Content. *Faseb J*, 15:2748-2750, 2001.
26. Starkie RL, Rolland J, Angus DJ, Anderson MJ, Febbraio MA. Circulating Monocytes Are Not The Source Of Elevations In Plasma Il-6 And Tnf-Alpha Levels After Prolonged Running. *Am J Physiol*. 2001; 280: C769-C774.
27. Hirose M, Kaneki M, Sugita H, Yasuhara S E Martyn Ja. Immobilization Depresses Insulin Signaling In Skeletal Muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000; 279:1235-1241.
28. Wallenius V, Wallenius K, Ahrén B, Rudling M, Carlsten H, Dickson SL *et al*. Interleukin-6-Deficient Mice Develop Mature-Onset Obesity. *Nat Med*. 2002; 8: 75-79.
29. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, *et al*. Impact Of A Competitive Marathon Race On Systemic Cytokine And Neutrophil Responses. *Med. Sci. Sports Exerc*. 2003; 35(2): 348-355.
30. Derijk R, Michelson D, Karp B, Petrides J, Galliven E, Deuster P, *et al*. Exercise And Circadian Rhythm-Induced Variations In Plasma Cortisol Differentially Regulate Interleukin-1 β (Il-1 β), Il-6, And Tumor Necrosis Factor- α (Tnf α) Production In Humans: High Sensitivity Of Tnf α And Resistance Of Il-6. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82(7): 2182-91.
31. Goebel MU, Mills PJ, Irwin MR, Ziegler MG. Interleukin-6 And Tumor Necrosis Factor- α Production After Acute Psychological Stress, Exercise, And Infused Isoproterenol: Differential Effects And Pathways. *Psychosomatic Medicine*. 2000; 62: 591-598.

32. Starkie RL, Rolland J, Febbraio MA. Effect Of Adrenergic Blockade On Lymphocyte Cytokine Production At Rest And During Exercise. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001; 281: C1233-C1240.
33. Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan, G. Adipose Tissue Tumor Necrosis Factor And Interleukin-6 Expression In Human Obesity And Insulin Resistance. *Am J Physiolendocrinolmetab.* 2001; 280: E745-E751.
34. Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Keller P, Keller C, Pedersen BK. Insulin Stimulates Interleukin-6 And Tumor Necrosis Factor- α Gene Expression In Human Subcutaneous Adipose Tissue. *Am J Physiolendocrinolmetab.* 2004; 286: E234-E238.

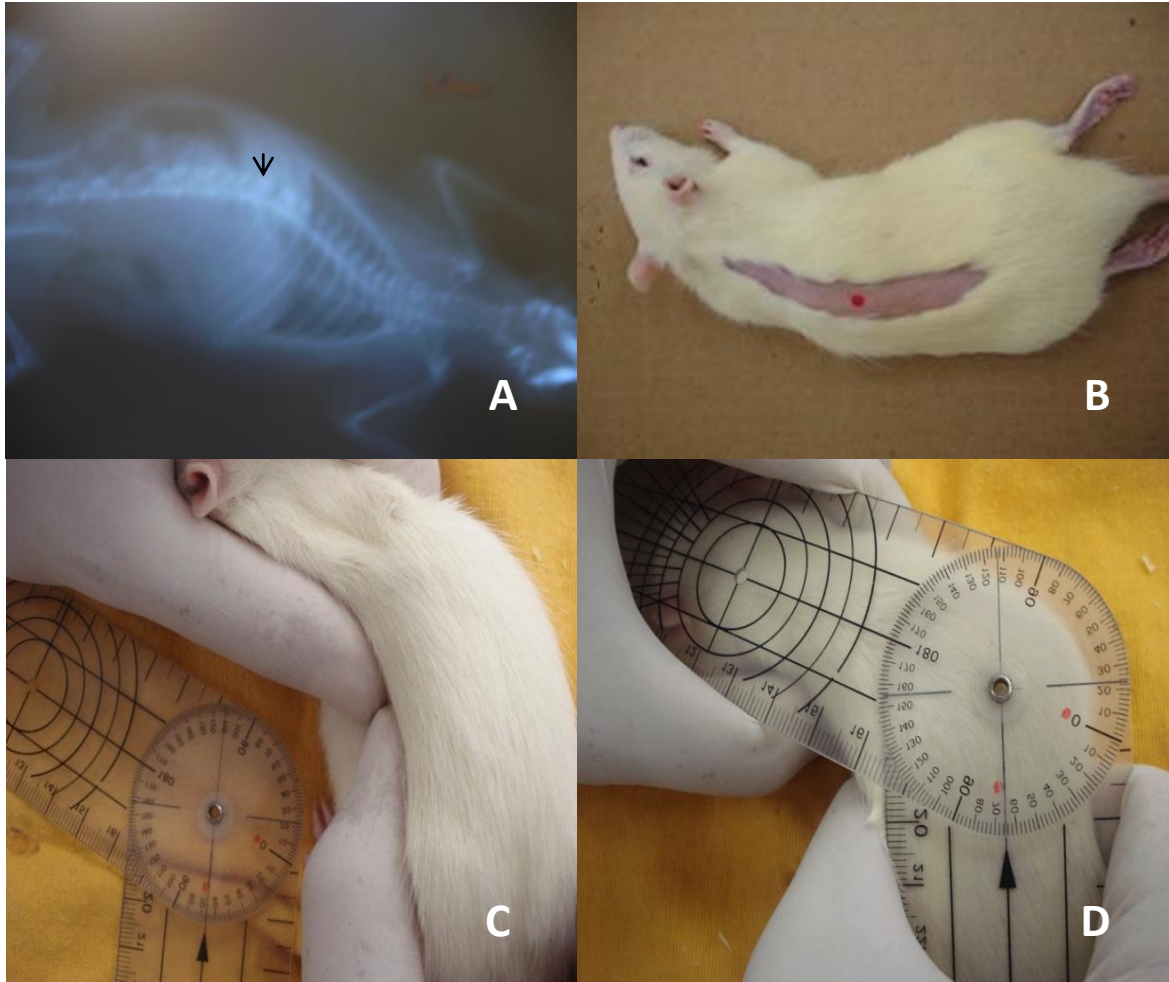
Figuras

Figura 1. Procedimento utilizado durante o experimento para alongar a musculatura do lado côncavo dos animais. Em A e B pode-se verificar a determinação da vértebra vértice sendo: em A na radiografia do animal e em B no próprio animal; C e D mostram a aplicação do método de alongamento em que a cintura pélvica é a base fixa e a cintura escapular é a parte móvel.

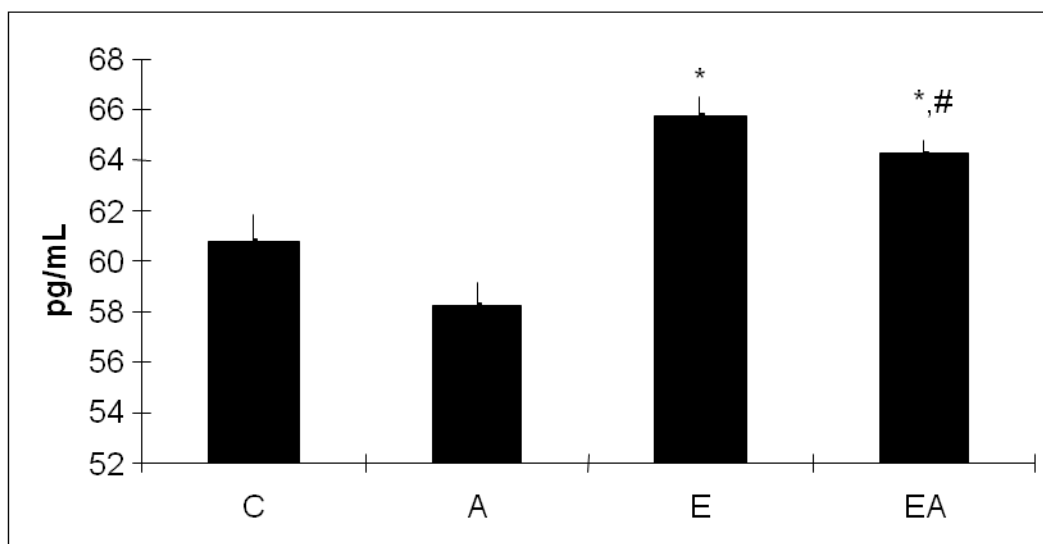


Figura 2. Concentração sérica de Interleucina 2 (pg/mL) dos grupos controle (C), alongados (A), escolióticos (E) e escolióticos alongados (EA). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao escoliótico.

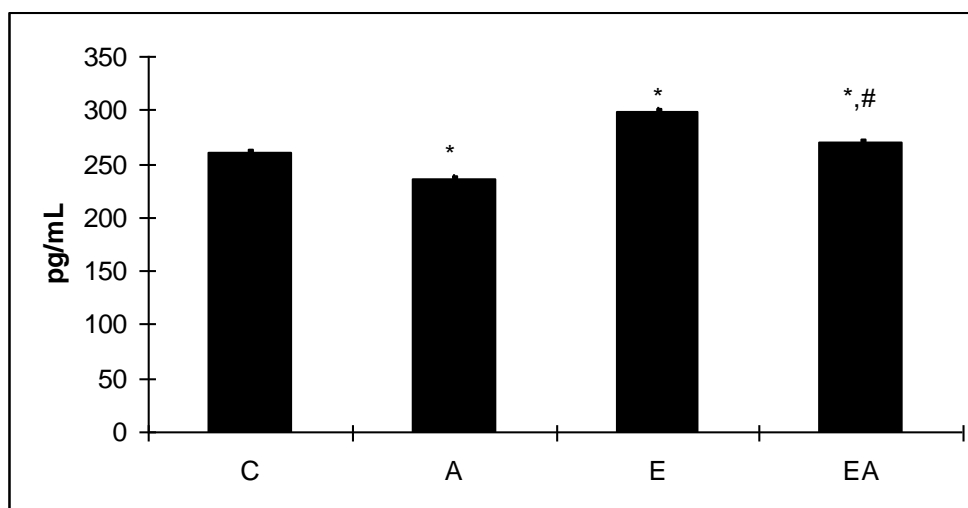


Figura 3. Concentração sérica de Interleucina 6 (pg/mL) dos grupos controle (C), alongados (A), escolióticos (E) e escolióticos alongados (EA). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao escoliótico.

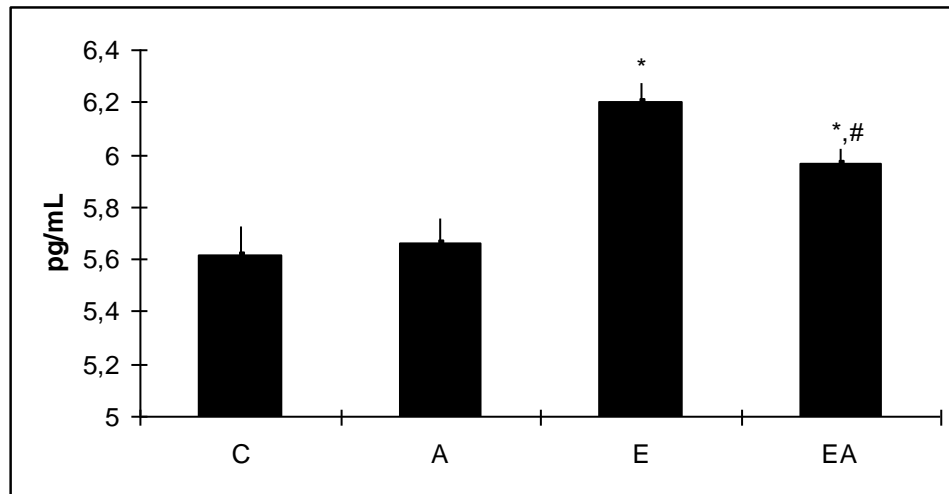


Figura 4. Concentração sérica de TNF- α (pg/mL) dos grupos controle (C), alongados (A), escolióticos (E) e escolióticos alongados (EA). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle; # p<0,05 comparado ao escoliótico.

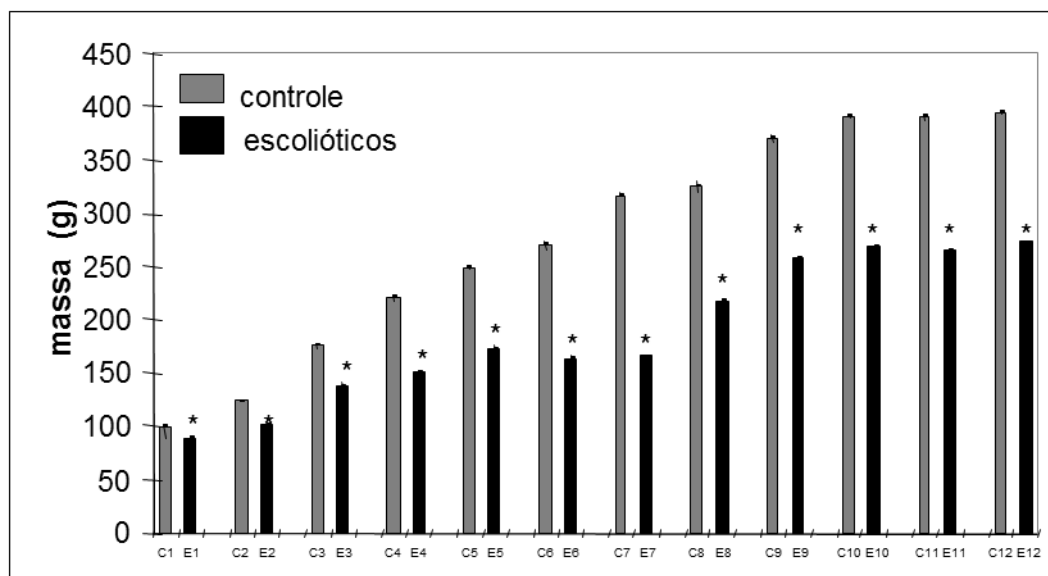


Figura 5. Massa corpórea (g) dos ratos controle (cinza, C) e escolióticos (preto, E) durante o período de indução de escoliose (1^o a 12^o semana). Os valores correspondem à média \pm epm, n=8. *p<0,05 comparado ao controle.

Anexo D

Comprovantes da submissão do estudo I

[AOB] Agradecimento pela Submissão

12/11/12

Fernanda Colmatti <suporte.aplicacao@scielo.org>

para mim

Sr. Luciano Júlio Chingui,

Agradecemos a submissão do seu manuscrito "Metabolic Alterations In Skeletal Muscles of Rats With Scoliosis Induced By A PVC Jacket" para **Acta Ortopédica Brasileira**. Através da interface de administração do sistema, utilizado para a submissão, será possível acompanhar o progresso do documento dentro do processo editorial, bastando logar no sistema localizado em:

URL do Manuscrito:

<http://submission.scielo.br/index.php/aob/author/submission/106170>

Em caso de dúvidas, envie suas questões para este email. Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de transmitir ao público seu trabalho.

Fernanda Colmatti
Acta Ortopédica Brasileira

Acta Ortopédica Brasileira -
<http://submission.scielo.br/index.php/aob>

Fernanda/Arthur Tadeu de Assis
Atha Comunicação e Editora Ltda
Fone/ Fax: 55 (11) 50879502/ 55795308

Submissões Ativas - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

Submissões Ativas

submission.scielo.br/index.php/aob/author/index?sort=authors&sortDirection=1

Mais visitados Primeiros passos Últimas notícias

Scielo

PÁGINA INICIAL SOBRE PÁGINA DO USUÁRIO

Página inicial > Usuário > Autor > Submissões Ativas

Submissões Ativas

ATIVO | ARQUIVO

ID	MM-DD ENVIADO	SEÇÃO	AUTORES	TÍTULO	SITUAÇÃO
AOB-735	11-12	AO	Chingui	METABOLIC ALTERATIONS IN SKELETAL MUSCLES OF RATS WITH...	EM AVALIAÇÃO

Iniciar nova submissão
[CLIQUE AQUI](#) para iniciar os cinco passos do processo de submissão.

Atha Comunicação e Editora Ltda Rua Machado Bittencourt, 190 conj. 410 CEP: 04044-903 Vila Clementino Tel.: 5579-5308/ 5087-9502

USUÁRIO
Logado como:
chingui
Meus periódicos
Perfil
Sair do sistema

AUTOR
Submissões
Ativo (1)
Arquivo (0)
Nova submissão

IDIOMA
Português (Brasil)

NOTIFICAÇÕES
Visualizar (1 nova(s))
Gerenciar

PT 01:36 22/05/2013

#AOB-735 Metabolic Alterations In Skeletal Muscles of Rats With Scoliosis Induced By A PVC Jacket - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

Enviar E-mail #AOB-735 Metabolic Alterations In Sk... x +

submission.scielo.br/index.php/aob/author/submission/106170

Mais visitados Primeiros passos Últimas notícias

SciELO

PÁGINA INICIAL SOBRE PÁGINA DO USUÁRIO

Página inicial > Usuário > Autor > Submissões > #106170 > **Resumo**

#AOB-735 Metabolic Alterations In Skeletal Muscles of Rats With Scoliosis Induced By A PVC Jacket

RESUMO | AVALIAÇÃO | EDIÇÃO

Submissão

Autores	Luciano Júlio Chingui
Título	Metabolic Alterations In Skeletal Muscles of Rats With Scoliosis Induced By A PVC Jacket
Documento original	AOB-735-106170-532692-1-SM.DOC 2012-11-12
Docs. sup.	Nenhum(a) INCLUIR DOCUMENTO SUPLEMENTAR
Submetido por	Sr. Luciano Júlio Chingui
Data de submissão	novembro 12, 2012 - 01:27
Seção	Artigos Originais
Editor	Olavo Camargo
Comentários do Autor	Estamos a disposição para quaisquer esclarecimentos.

Situação

Situação	Em avaliação
Iniciado	2012-11-12
Última alteração	2012-12-11

Metadados da submissão

USUÁRIO
Logado como:
chingui
Meus periódicos
Perfil
Sair do sistema

AUTOR
Submissões
Ativo (1)
Arquivo (0)
Nova submissão

IDIOMA
Português (Brasil)

NOTIFICAÇÕES
Visualizar (1 nova(s))
Gerenciar

PT 01:58 22/05/2013

Anexo E

Comprovantes da submissão do estudo II

Brazilian Journal of Physical Therapy - Manuscript ID RBFIS-2013-0094

Entrada x

rbfisio-se@ufscar.br por manuscriptcentral.com

para casilva, mim, ljchिंगui, mcatai, casilva

17-Apr-2013

Dear Dr. Silva:

Your manuscript entitled "Influência do alongamento muscular sobre a concentração de interleucinas de ratos escolióticos" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Brazilian Journal of Physical Therapy.

Your manuscript ID is RBFIS-2013-0094.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <http://mc04.manuscriptcentral.com/rbfis-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <http://mc04.manuscriptcentral.com/rbfis-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Brazilian Journal of Physical Therapy.

Sincerely,
Brazilian Journal of Physical Therapy Editorial Office

ScholarOne Manuscripts - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

ScholarOne Manuscripts

mc04.manuscriptcentral.com/rbfis-scielo#refX

Mais visitados Primeiros passos Últimas notícias

SciELO Brazilian Journal of Physical Therapy

SCHOLARONE Manuscripts

Main Menu → Author Dashboard

You are logged in as Luciano Chingui

Dashboard

Below you will find instructions that will assist you with navigating your Author Center. These instructions cover the various stages of submission. Be advised that any journal specific guidelines for authors can be found in the "Instructions & Forms" section at the top right hand corner of the site.

New Submissions

- To **start the submission** of a new manuscript, click on the submit a new manuscript link in the "Author Resources" area below.
- To **continue** with the submission of a new manuscript already in progress, click on the "Unsubmitted Manuscripts" queue in the "My Manuscripts" area below. Find the submission you wish to continue with and then click on the "Continue Submission" button.

Revised Submissions

- To **start the submission** of a revised manuscript, click on the revision link in the "Author Resources" area below or click the "Manuscripts with Decisions" queue in the "My Manuscripts" area below to display a list of decided manuscripts. Find the submission you wish to start the revision process for and click on the "Create Revision" link for that manuscript.
- To **continue** with a revised manuscript that has yet to be submitted, either click on the revision link as outlined above or click on the "Revised Manuscripts in Draft" queue in the "My Manuscripts" area below. Find the submission you wish to continue with and then click on the "Continue Submission" button.

Correcting/Updating Submissions

- To **correct or update a submission** that has been unsubmitted/returned to you by the journal, click on the "Unsubmitted Manuscripts" queue in the "My Manuscripts" area below. Find the submission you wish to correct/update and then click on the "Continue Submission" button. Be advised that if the submission that was unsubmitted/returned to you was a revision then it will be located in the "Revised Manuscripts in Draft" queue in the "My Manuscripts" area below.

What is the status of my manuscript?

- To **check the status** of a manuscript you have submitted, click on the "Submitted Manuscripts" queue in the "My Manuscripts" area below. All manuscripts you have submitted that are **currently** being evaluated will be listed in this area. The status of the manuscript can be found under the column heading "Status". Note: You can click on any queue under the "My Manuscripts" area to view all manuscripts currently in that status.

02:08 22/05/2013

ScholarOne Manuscripts - Mozilla Firefox

Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Ajuda

ScholarOne Manuscripts

mc04.manuscriptcentral.com/rbfis-scielo#refX

Mais visitados Primeiros passos Últimas notícias

What is the status of my manuscript?

- To **check the status** of a manuscript you have submitted, click on the "Submitted Manuscripts" queue in the "My Manuscripts" area below. All manuscripts you have submitted that are **currently** being evaluated will be listed in this area. The status of the manuscript can be found under the column heading "Status". Note: You can click on any queue under the "My Manuscripts" area to view all manuscripts currently in that status.

My Manuscripts		Author Resources	
0	Unsubmitted Manuscripts	Click here to submit a new manuscript	
0	Resubmitted Manuscripts in Draft	This section lists the subjects of the five most recent e-mails that have been sent to you regarding your submission(s). To view an e-mail, click on the link. To delete an e-mail from this list, click the delete link.	
0	Revised Manuscripts in Draft		
1	Submitted Manuscripts		
0	Manuscripts with Decisions		
0	Manuscripts I Have Co-Authored		
0	Withdrawn Manuscripts		
0	Invited Manuscripts		

Submitted Manuscripts

Manuscript ID	Manuscript Title	Date Created	Date Submitted	Status
RBFS-2013-0094	Influência do alongamento muscular sobre a concentração de interleucinas de ratos escolióticos [View Submission]	17-Apr-2013	17-Apr-2013	ADM: Aizza, Leonor ADM: Luce, Ana * Awaiting EIC Decision * Awaiting Reviewer Scores


top

02:09 22/05/2013

mc04.manuscriptcentral.com/downloads/linkpool/prod4/rbfis-scielo/2013/4/s1-ln51244-1925181413-1939656818Hwf-1886547340IdV153452556751244PDF_H0001.pdf - Google Chrome

mc04.manuscriptcentral.com/downloads/linkpool/prod4/rbfis-scielo/2013/4/s1-ln51244-1925181413-1939656818Hwf-1886547340IdV153452556751244PDF_H0001.pdf

Brazilian Journal of Physical Therapy



BJPT Brazilian Journal of Physical Therapy

Influência do alongamento muscular sobre a concentração de interleucinas de ratos escolióticos

Journal:	Brazilian Journal of Physical Therapy
Manuscript ID:	RB FIS-2013-0094
Manuscript Type:	Original Article
Keyword:	Escoliose, Exercícios de Alongamento Muscular, Interleucina-6, Fator de necrose tumoral alfa

SCHOLARONE[™] Manuscripts

PT 08:40 22/05/2013