



## 20º Congresso de Iniciação Científica

# APLICAÇÃO DE ÓRTESE PARA PROMOÇÃO DE ESCOLIOSE EM RATOS. AVALIAÇÃO DO PADRÃO DEXTRO CONVEXA

### Autor(es)

---

ANDRÉ ALVES LICO MASCARIN

### Orientador(es)

---

CARLOS ALBERTO DA SILVA

### Apoio Financeiro

---

FAPIC/UNIMEP

## 1. Introdução

---

Inúmeros são os desvios posturais que a coluna vertebral pode sofrer, sendo a escoliose um desses desvios que comprometem a biomecânica e refletem em mudança na qualidade de vida. Dessa forma, a escoliose é caracterizada como uma complexa deformidade tridimensional de múltipla etiologia, sendo potencialmente progressiva, onde se visualiza uma curvatura lateral no plano frontal, associada ou não à rotação dos corpos vertebrais nos planos axial e sagital (REAMY; SLAKEI, 2001). A investigação da etiologia da escoliose têm gerado inúmeras hipóteses que incluem causa genética, esquelética, muscular, neuro hormonal e fatores biomecânicos, no entanto, ainda não há consenso quanto a multifatorialidade (GOTO et al, 2003). Considera-se escoliose o desvio lateral da coluna com 10° ou mais. São classificadas como escoliose leve as curvaturas com menos de 20°, moderada entre 20° e 50° e grave 50° ou mais, sendo esta ultima a forma que apresenta resultados somente quando sobre tratamento cirúrgico (KISNER; COLBY, 2005). Em uma revisão da literatura, pode-se notar com o passar do tempo que cientistas tem se empenhado em desenvolver modelos experimentais que subsidiem novos direcionamentos no que diz respeito a investigação e tratamento da condição escoliótica. Assim, o caráter invasivo tem sido proposto em métodos como pinealectomia, limitação de amplitude de movimento ao suturar músculos próximos às vértebras, estimulação elétrica a fim de gerar alterações na coluna vertebral, separação mecânica das vértebras limitando a movimentação, trauma na coluna dos ratos, osteolatrismo com o fármaco carbazida, administração beta-aminopropionitrila intraperitoneal alterando os ligamentos vertebrais, baixos níveis plasmático de melatonina associado a postura bípede (NOGAMI et al., 1977; TANAKA et al.,1982; SARWARK et al.,1988; JOE et al., 1990; KASUGA,1994; STOKES et al., 2002; MACHIDA et al.,2005; OYAMA et al., 2006). Atualmente, tem sido usado um modelo indutor de escoliose de caráter não invasiva que tem se mostrado eficaz em implantar a curvatura de uma forma simples, que viabiliza o estudo experimental (SILVA et al., 2008; MASCARIN, 2011). Nosso grupo (metabolismo) tem trabalhado constantemente na busca de novas formas e métodos de aplicação do aparelho ortoptico utilizando a instalação da curvatura no sentido sinistro convexa baseado na proposta de indução de Sarwark et al; 1988. Recentemente Mascarin propôs a avaliação do processo de indução de escoliose no sentido dextro convexo, no intuito de comparar as relações funcionais em duas posições de curvatura (comunicação pessoal do grupo). Assim, há de se considerar que a escoliose, ao causar alterações posturais pode ter reflexo no perfil psíquico modificando o comportamento. Isso merece maior atenção em estudos no âmbito experimental, que contam com a vantagem da homogeneidade da amostra.

## 2. Objetivos

---

Pautado em trabalhos ligados a indução de escoliose com coletes de PVC na posição sinistro convexa, o objetivo deste trabalho foi induzir escoliose na posição dextro convexa em ratos para caracterizar parâmetros bioquímicos, comportamentais e radiológicos comparativos com o modelo original.

### 3. Desenvolvimento

---

Foram utilizados 20 ratos Wistar, sendo metade deles submetidos a imobilização com colete de PVC a partir da data do desmame até 12ª semana. Os animais foram alimentados com ração e água ad libitum, submetidos a ciclo fotoperiódico de 12h claro/escuro e divididos em 2 grupos de n=10: controle (C12) e escolióticos (E12). O projeto de pesquisa foi aprovado aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), sob protocolo n.º 011/2011. Para indução da curvatura escoliótica dextro convexa utilizou-se coletes de PVC e os seguintes parâmetros foram avaliados: peso corporal (semanalmente), análise radiográfica (quinzenalmente), avaliação bioquímica do conteúdo de glicogênio (músculos peitoral, abdominal, intercostal e paravertebral) através de metodologia bioquímica; testes comportamentais: campo aberto (Open Field) e o labirinto em cruz elevado (LCE). A análise estatística foi realizada inicialmente pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov seguido do teste de Tukey. Em todos os cálculos foi fixado um nível crítico de 5%.

### 4. Resultado e Discussão

---

O peso corporal dos animais avaliados durante as doze semanas experimentais mostrou que a partir da 3ª semana o grupo escoliótico apresentou pesos médios 9,1% ( $p < 0,05$ ) menores se comparado aos animais que não receberam o colete. Na avaliação do campo aberto (open field) os ratos escolióticos, apresentaram atividade locomotora 23% menores, se comparado ao grupo controle. No mesmo contexto de análise, o comportamento ansiogênico foi avaliado no Labirinto em Cruz Elevada e não houve diferença significativa tanto no tempo de permanência nos braços aberto quanto no braço fechado. O grupo controle não apresentou diferença entre as reservas glicogênicas ao se comparar o lado côncavo com o convexo, por outro lado foi verificado que as reservas dos músculos localizados na face convexa do grupo escoliótico apresentaram valores menores se comparado ao mesmo músculo posicionado na face côncava sendo representado por valores 37% menores nos paravertebrais, 24% no peitoral e 43% no intercostal. A seguir foi avaliada a relação proteína total/DNA e o grupo controle não apresentou diferença entre os músculos paravertebrais, peitoral e intercostal do lado esquerdo e direito. Por outro lado, no grupo escoliótico há diferença no tamanho entre côncavo e convexo representado por menores músculos na porção convexa, assim descrito: 5% no músculo paravertebral, 13% no peitoral e 10% no intercostal. A fim de obter uma análise fidedigna, o presente estudo mensurou as curvaturas escoliótica no software Alcimagem, sendo verificado a estabilização no ângulo de 27,3% em relação ao verificado no grupo controle. Convém ressaltar que, muito embora Vrtovec, Pernus e Likar, (2009), apontem que ainda não há consenso no que diz respeito à quantificação da rotação vertebral, o presente estudo atesta rotação vertebral, com base no estudo de Sarwak et al (1988), que justificaram a existência de rotação vertebral no modelo animal, ao correlacionarem a curvatura escoliótica com as articulações costovertebrais. No panorama do atual contexto científico, a utilização de animais de laboratório tem representado um dos dilemas mais conflitantes no debate bioético, visto que nesse âmbito, a redução do número de animais utilizados nos procedimentos, bem como o refinamento das técnicas experimentais que visem à minimização de dor e sofrimento animal, tem se fortalecido ao passo que a ciência descobre e explora métodos não invasivos, sendo que isso tem se tornado cada vez mais imperativo no meio científico (RUSSELL; BURCH, 1992). Como não bastasse o desenvolvimento de uma metodologia que possibilita o estudo da escoliose experimental em caráter não invasivo, existe uma preocupação em isentar ao máximo o animal do sofrimento, que pode direta ou indiretamente interferir nos resultados e projeções (SILVA et al. 2008). Com base nos estudos supracitados, é de se notar que impera a aplicação de metodologias invasivas, sendo que um dos esforços da ciência tem sido minimizar o sofrimento animal. O presente estudo, além de utilizar metodologia não invasiva, se atenta em avaliar possíveis alterações orgânicas e comportamentais decorrentes do uso do dispositivo indutor de escoliose. Nesse sentido, os ratos escolióticos apresentaram pesos menores comparado ao grupo controle, sugerindo que a limitação funcional possa ter contribuído para a alteração do peso, ou ainda, o modelo possa ter promovido alterações no trato gastroentérico comprometendo a interface ingesta/absorção. Convém ressaltar que dentre os estudos apresentados pela literatura, não se encontra um referencial que aponte uma curva de crescimento do animal padrão durante o período experimental. Fato sugestivo de que as metodologias experimentais não se atentam em avaliar os aspectos de desenvolvimento durante as fases iniciais do estudo, sendo que isso pode interferir diretamente nos resultados finais (NOGAMI et al., 1977; OYAMA et al., 2006). Em relação a atividade deambulatoria, foi constatado que houve uma diferença significativa no teste de campo aberto onde o grupo escoliótico apresentou menor atividade exploratória se comparado ao grupo controle, possivelmente esteja relacionado com a condição indutora de estresse gerada pelo dispositivo indutor, na manutenção da postura quadrúpede. Os dados coletados no teste de labirinto em cruz elevado demonstraram que não houve diferença significativa quando comparados os resultados do grupo controle e escoliótico. Nesta análise, considera-se a porcentagem da preferência (entradas e tempo gasto) pelos braços abertos e fechados um índice fidedigno de ansiedade: quanto maiores os níveis de ansiedade, menor a porcentagem de entradas nos braços abertos e de tempo gasto nos mesmos de acordo com Pellow e File (1986). Na avaliação das reservas glicogênicas de amostras bilaterais dos músculos; peitorais, intercostais e paravertebrais de ratos submetidos à indução de escoliose por 12 semanas foi observado que houve redução do

glicogênico de forma mais severa. Isso evidencia a alteração metabólica do tecido muscular na condição escoliótica, que se mostrou mais comprometida quando comparada ao controle. Gomes et al. (2004), atestam que contratura muscular é o encurtamento de um músculo ou de outros tecidos moles que cruzam uma articulação, fato este que resulta em limitação da mobilidade articular e consequente hipotrofia muscular. Nesse contexto, sugere-se que no presente estudo os achados referentes a proteína total, se devem a contratura e não a imobilização. Estudos sobre escoliose na condição experimental podem ser de grande importância no que diz respeito à projeção de estudos em humanos. Assim, Gorman e Briden, (2009) reforçam o fato de que a escoliose não é exclusiva dos humanos e nem tão pouco da postura bípede, haja vista que mamíferos, onívoros, répteis e anfíbios podem apresentar essa condição. No entanto, ainda sim alguns estudos empregam modelos extremamente invasivos, que se esforçam em estimular o desenvolvimento da escoliose por meio da postura bípede (LIU et al. 2011). Nota-se que a metodologia aplicada no desenvolvimento da curvatura escoliótica, interfere diretamente na atividade proprioceptiva, ciclos de encurtamento/estiramento e mobilidade articular. É nesse contexto que a atividade exploratória deve ser ressaltada, haja vista que os pontos acima não interferiram na funcionalidade (exploração) do animal. Outros estudos podem ser desenvolvidos no mesmo seguimento, com atenção ao aspecto molecular, que pode explicar de forma mais clara os acontecimentos relatados nos diferentes parâmetros de análise.

## 5. Considerações Finais

---

Os resultados mostram que: 1. Animais escolióticos apresentaram menor ganho de peso corporal; 2. A exploração do campo foi menor, sem manifestar ansiedade no LCE, indicando limitação funcional; 3. Há diferença na reservas glicogênicas comparando os lados côncavo e convexo, sendo menores no convexo; 4. O perfil proteína total/DNA acompanhou o comportamento das reservas de glicogênio.

## Referências Bibliográficas

---

GOMES, A. R. S.; COUTINHO, E. L.; FRANCA, C. N.; POLÔNIO, J.; SALVINI, T. F. Effects of one stretch a week applied to the immobilized soleus muscle on rat muscle fiber morphology. *Braz J Med Biol Res.* 37: 1473-80, 2004.

GORMAN, K. F.; BREIDEN, F. Idiopathic-type scoliosis is not exclusive to bipedalism. *Med Hypotheses.* 72(3): 348-52, 2009.

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.

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

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

KISNER, C.; COLBY, L. A. Exercícios terapêuticos: fundamentos e técnicas, 4. ed. São Paulo: Manole, 2005.

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

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.*; 14(9): 843-8, 2005.

MASCARIN, A. A. L. Indução de escoliose em ratas através de coleto de pvc: avaliações bioquímicas e comportamentais. Anais do 19º Congresso de Iniciação Científica, PIBIC/UNIMEP, 2011.

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

OYAMA J, MURAI I, KANAZAWA K, MACHIDA M. Bipedal ambulation induces experimental scoliosis in C57BL/6J mice with reduced plasma and pineal melatonin levels. *J Pineal Res.* 40(3): 219-224, 2006.

PELLOW, S.; FILE, S. E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* v. 24, p. 525-529, 1986.

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

---

RUSSEL, W. M. S.; BURCH, R. L. The principles of humane experimental technique. London: Universities Federation for Animal Welfare (UFAW), 1992. ISBN: 0900767782.

SARWARK, J. F.; DABNEY, K. W.; SALZMAN, S. K. Scoliosis in the rat. Methodology, anatomic features. Spine 13(5): 466-471,1988.

SILVA, C. A.; GUIRRO, R. R. J.; FONSECA, W.; ARRUDA, E. J.; GRASSI, D. O. Assessment of rat behavior with induced scoliosis by polyvinyl vests. Journal of Chinese Clinical Medicine. v. 3, p. 621-626, 2008.

STOKES, I. A.; GWADERA, J.; DIMOCK, A.; ARONSSON, D. D. Mechanical modulation of vertebral and tibial growth: diurnal versus full-time loading. Study Health Technol Inform. 91:97-100, 2002.

TANAKA, H.; KIMURA, Y.; UJINO, Y. The experimental study of scoliosis in bipedal rat. Arch Orthop Trauma Surg. 101(1): 1-27,1982.

VRTOVEC T; PERNUS F; LIKAR B. A review of methods for quantitative evaluation of axial vertebral .Rotation. Eur Spine J. 18(8): 1079-1090, 2009.