



16° Congresso de Iniciação Científica

AVALIAÇÃO DAS RESERVAS GLICOGÊNICAS DOS MÚSCULOS PEITORAIS E PARAVERTEBRAIS APÓS INDUÇÃO DE ESCOLIOSE EM RATOS

Autor(es)

EDER JOÃO DE ARRUDA

Orientador(es)

CARLOS ALBERTO DA SILVA, RINALDO ROBERTO DE JESUS GUIRRO

Apoio Financeiro

PIBIC/CNPq

1. Introdução

A coluna vertebral faz-se um sistema inerentemente instável quando o padrão de ativação da musculatura intrínseca e extrínseca está alterado, comprometendo assim sua estabilidade dinâmica. Quaisquer que sejam as alterações neste seguimento, ocorrerá desordens posturais e psíquicas ao indivíduo, sendo que das alterações sofridas pela coluna, a escoliose a mais freqüente de todas (SIZINIO, 2003).

Escoliose pode ser classificada segundo sua etiologia em estrutural e não estrutural, sendo que na estrutural tem-se a idiopática, a neuromuscular e a osteopática; a não estrutural pode ser causada pela discrepância de membros inferiores, espasmo ou dor nos músculos da coluna vertebral por compressão de raiz nervosa ou outra lesão na coluna e ainda pelo posicionamento do tronco (KISNER e COLBY, 2005).

As deformidades produzidas na superfície corpórea em decorrência da escoliose têm sido atribuídas aos fatores genéticos, esqueléticos, miogênicos, tóxicos ou químicos, mecânicos ou biomecânicos, neurohormonais e neurogênicos, porém independentemente do fator causal tem sido relatado que os músculos mais afetados são os respiratórios e os paravertebrais por estarem mais susceptíveis aos efeitos da restrição na mobilidade da coluna (TANGSRUD et al., 2001).

Dentro da avaliação dos métodos experimentais utilizados na indução de escoliose em ratos, observa-se que há predomínio de procedimentos invasivos, assim representados: administração de beta-aminopropionitrila intraperitoneal alterando os ligamentos vertebrais (NOGAMI et al. 1977); produção de osteolatrismo com o fármaco carbazida (TANAKA et al. 1982); separação mecânica das vértebras limitando a movimentação (DABNEY et al. 1988); indução por trauma na coluna dos ratos (SARWARK et al. 1988); estimulação elétrica de forma unilateral em ratos (JOE 1990); sutura nos músculos próximos às vértebras

limitando a movimentação (KASUGA, 1994); pinealectomia em ratos (MACHIDA et al. 1999); alterações mecânicas das vértebras e comprometimento do crescimento dos condrócitos (O' KELLY et al. 1999); deficiência genética na síntese de melatonina (MACHIDA et al. 2006). Convêm ressaltar que o presente estudo não apresenta caráter invasivo.

De acordo com Silva e Cancellero (2006), o tecido muscular apresenta mecanismos importantes no que concerne a captação de glicose e controle glicêmico, que quando em homeostase favorece um bom nível de trofismo e atividade da musculatura esquelética.

Frente ao exposto, a hipótese do presente estudo fundamentam-se no fato de que alterações músculo-esquelético, bem como na homeostasia glicêmica, podem ter correlação com o fator causal durante a indução da escoliose por um processo não invasivo de contenção .

2. Objetivos

Avaliar o comportamento das reservas musculares de glicogênio, bem como a relação proteína total/DNA após doze semanas de indução de escoliose em ratos através de um método não invasivo.

3. Desenvolvimento

Foram utilizados 12 ratos albinos Wistar com 42 dias de vida (período de desmame) até a 12^a semana de experimento, distribuídos em dois grupos (n=seis): controle (C) e escoliótico (E). Os animais foram alimentados com ração e água ad libitum e submetidos a ciclo fotoperiódico de 12h claro/escuro. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), sob protocolo n.º 010/07

A princípio foram confeccionados moldes em papel para posterior confecção da órtese de PVC (lâmina com espessura de 0,5 mm), tendo as circunferências revestidas com adesivo à base de solvente de borracha e resinas sintéticas. A órtese consistiu de duas peças que foram posicionadas sobre a região pélvica e escapular, envolvendo os membros inferiores e superiores. Foi utilizado ainda arame de 0,5 mm de espessura com 10 cm de comprimento, para aproximar os coletes, instalando assim a curvatura escoliótica.

Após o desmame (42 dias) o colete de PVC foi ajustado de modo que a coluna apresentasse uma inclinação de 40° à direita, desenvolvendo assim uma escoliose destro-convexa. Os coletes foram trocados a cada sete dias de acordo com o crescimento do animal, permanecendo até a 12^a semana de experimento. Para a avaliação bioquímica, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/Kg, i.p.) e amostras dos músculos peitoral maior e paravertebrais foram coletadas e prontamente encaminhadas para avaliação do conteúdo de glicogênio pelo método do fenol sulfúrico (SIU, RUSSEAU E TAYLOR, 1970). Para determinação do conteúdo de proteínas totais e DNA usou-se o método proposto por Giles e Myers (1965). A seguir, o sangue foi coletado e a insulina plasmática foi avaliada de acordo com o método descrito por Scott et al., (1981). A avaliação estatística foi realizada pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov seguido do teste de Tukey com nível crítico de 5%.

4. Resultado e Discussão

Inicialmente o estudo foi direcionado a avaliação da variação do peso corporal dos animais durante as 12 semanas e foi observado que os animais que receberam o colete para indução da escoliose apresentaram pesos médios $29.4 \pm 2.7\%$ menores se comparado aos animais que não receberam o colete. Esta variação no peso pode ter relação multifatorial representada pela limitação funcional exercida pelo colete, bem como a modificação no equilíbrio homeostático da musculatura que imobilizada, da início ao catabolismo, de acordo com Silva, et al., (2006). Pode-se associar esta alteração com o peso do colete, no entanto ao considerar a relação do peso da órtese com o peso corporal observou-se que correspondeu a $4,3 \pm 0,2\%$, não sendo significativo. A seguir avaliou-se a concentração de proteína total dos músculos paravertebrais e do peitoral maior comparando o grupo escoliótico com o controle, sendo observado que no grupo escoliótico houve redução de 12% na concentração de proteína total do lado direito (côncavo) e 5% no lado esquerdo (convexo) nos paravertebrais e 8% no peitoral direito e 17% no peitoral esquerdo. Os dados mostram uma significativa modificação na relação síntese/degradação protéica o que nos sugere a existência de dois padrões, ou seja, redução no processo de síntese ou predomínio de fatores indutores de proteólise. Com relação ao conteúdo de DNA também foi observado menores valores no grupo escoliótico, indicando uma expressiva redução no tecido muscular, podendo indicar perda de massa tecidual. Não podemos esquecer que a musculatura paravertebral faz parte de um grupo de músculos anti-gravitacionários (posturais) cuja ação está vinculada a movimentos de baixa intensidade/tensão muscular e longa duração. No mesmo aspecto de análise, foi avaliada a concentração de DNA nos músculos paravertebrais e peitorais das regiões côncava e convexa e foi observado que em média houve redução na porção convexa, se comparado aos dados dos animais controle o que sugere e reitera a proteólise.

A seguir foram avaliadas as reservas musculares de glicogênio comparando o grupo controle (C) ao escoliótico (ES). Os dados mostram que as reservas glicogênicas dos músculos paravertebrais do grupo escoliótico foram significativamente reduzidas ($p < 0,05$) atingindo valores 64% no paravertebral direito ($0,55 \pm 0,06$ C x $0,20 \pm 0,009$ ES) e 64% no paravertebral esquerdo ($0,44 \pm 0,02$ C x $0,16 \pm 0,008$ ES) demonstrando uma inter-relação funcional entre a manutenção da atividade contrátil e a efetividade das vias metabólicas. Sabe-se que o conteúdo de glicogênio é uma importante reserva energética, a qual quando submetida a alterações pode interferir na performance, ou seja, quando elevadas podem melhorar a resistência, porém, quando depletadas podem participar dos processos associados à fadiga muscular, assim a limitação funcional imposta pelo colete pode ter comprometido as vias de síntese ao mesmo tempo que no lado convexo pode ter ocorrido elevação na exigência funcional por estar sob tensão exigindo uma maior mobilização destas reservas (Coderre et al., 2007).

Por fim, frente às alterações quimio-metabólicas expressas nos músculos coletados de ratos escolióticos optou-se por avaliar o índice de HOMA (Homeostatic model assessment) que indica o quadro de resistência à insulina (HOMA-IR). Observou-se que no grupo controle o valor do HOMA-IR foi de $0,81 \pm 0,02$ e no grupo escoliótico foi de $0,66 \pm 0,03$, representando uma redução de 18%, o que pode indicar resistência à insulina (SESTI, 2006).

5. Considerações Finais

O colete de PVC utilizado no processo de indução da escoliose promoveu alterações fisiológicas nos músculos com diminuição nas reservas glicogênicas, na relação proteína total/DNA e na sensibilidade à insulina, sugerindo que modificações na homeostasia da musculatura acompanham o processo indutor da escoliose.

Referências Bibliográficas

- CODERRE, L.; VALLEGA, G.A.; PILCH, P.F.; CHINPKIN, S.R. 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.
- DABNEY, K.W.; SALZMAN, S.K e WAKABAYAYASHI, T. Experimental scoliosis in the rat. **Spine** v. 13, n. 5, p. 472-477, 1988.
- GILES, K.W.; MYERS, A. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. **Nature.** v. 206, n. 93, 1965.
- HENRIKSEN, E.J.; RODNICK, K.J.; MONDON, C.E.; JAMES, D.E.; HOLLOSZY, J.O. Effect of denervation or unweighting on GLUT 4 protein in rat soleus muscle. **J Appl Physiol.** v. 70, n. 5, p. 2322-2327, 1997.
- JOE, T. Studies of experimental scoliosis produced by electric stimulation. **Nippon Zasshi,** v.57, n. 5, p. 416-426, 1990
- 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.
- KISNER, C.; COLBY, L.A. **Exercícios terapêuticos:** fundamentos e técnicas, 4. ed. São Paulo: Manole, 2005.
- MACHIDA, M.; MURAI, I.; MIYASHIDA, I.; DUBOUSSET, J.; YAMADA, T.; KIMURA, J. Pathogenesis of idiopathic scoliosis. **Spine,** v. 1, n. 24, p. 1985-1989, 1999.
- MACHIDA, M.; DUBOUSSET, J.; YAMADA, T.; KIMURA, J.; SAITO, M.; SHIRAISHI, T.; YAMAGISHI, M. Experimental scoliosis in melatonin-deficient C57BL/6J mice without pinealectomy. **J Pineal Res.** v. 41, n. 1, p. 1-7, 2006.
- 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. 351-377, 1977.
- O'KELLY, C.; WANG, X.;RASO, J.; MOREAU, M.; MAHOOD, J.; ZHAO, J.; BAGNALL, K. The production of scoliosis after pinealectomy in young chickens, rats and hamsters. **Spine,** v. 1, n. 24, p. 35-43, 1999.
- ROSO, V.; BITU, S.O.B.; ZANOTELI, E.; BETETA, J.T.; CASTRO, R.C.; FERNANDES, A.C. Tratamento cirúrgico da escoliose na amiotrofia espinhal progressiva. **Arq Neuropsiquiatr.** v. 61, n. 3-A, p. 631-638, 2003.
- SARWARK, J.F.; DABNEY, K.W.; SALZMAN, S.K. Scoliosis in the rat. Methodology, anatomic features. **Spine.** v. 13, n. 5, p. 466-471, 1988.
- SCOTT, A.M.; ATWATER, I.; ROJAS, E. A method for the simultaneous measurement of insulin release and B cell membrane potential in single mouse islets of Langerhans. **Diabetologia.** v. 21, n. 5, p. 470-475, 1981.
- SESTI, G. Pathophysiology of insulin resistance. **Best Pract Res Clin Endocrinol. Metab.** v. 20, n. 4, p. 665-679, 2006.
- SIU LO, RUSSEAU JC, TAYLOR AW. Determination of glycogen in small tissue samples. **J Appl Physiol.** v.

28, n. 2, p. 234-236, 1970.

SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J.; POLACOW, M.L.O.; CANCELLIERO, K.M.; DURIGAN, J.L.Q. Rat hindlimb joint immobilization with acrylic resin orthoses. **Braz J Med Biol Res** v. 39, p. 979-985, 2006.

SILVA, C.A.; CANCELLIERO, K.M. Efeito da suplementação oral com creatina no músculo esquelético de membro imobilizado de ratos. **Rev Bras Nutr Clin.** v. 21, n. 1, p. 17-22, 2006.

SIZINIO, H. **Ortopedia e Traumatología: princípios e técnicas.** 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.

SOUCACOS, P.N. School-screening for scoliosis: a prospective epidemiological study in northwestern and central Greece. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 79, n. 10, p. 1498-1503, 1997.

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.** v. 91, p. 97-100, 2002.

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

TANGSRUD, S.E.; CARLSEN, K.C.L.; LUND-PETERSEN, I.; CARLSON, K.H. Lung function measurements in young children with spinal muscle atrophy; a cross sectional survey on the effect of position and bracing. **Arch Dis Child.** v. 84, p. 521-524, 2001.