

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA
FILHO”**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**REABILITAÇÃO EM CÃES COM ATROFIA
MUSCULAR INDUZIDA**

Soraia Figueiredo de Souza
Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**REABILITAÇÃO EM CÃES COM ATROFIA MUSCULAR
INDUZIDA**

Soraia Figueiredo de Souza
Orientador: Prof. Dr. João Guilherme Padilha Filho

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área de Cirurgia Veterinária.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2010

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

SORAIA FIGUEIREDO DE SOUZA - nascida em 25 de outubro de 1980, em Lages, Santa Catarina, é Médica Veterinária formada pela Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Santa Catarina, com ingresso em agosto de 1998 e término em 13 de dezembro de 2003. Em março de 2004 iniciou o mestrado no Programa de Pós Graduação em Cirurgia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, onde recebeu o título de Mestre em fevereiro de 2006, sob a orientação do Prof. Dr. Alexandre Mazzanti e co-orientação dos professores Alceu Gaspar Raiser e Ney Luis Pippi. Em março do mesmo ano começou o curso de Doutorado em Cirurgia Veterinária, junto à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, FCAV/UNESP/JABOTICABAL, sob a orientação do Prof. Dr. João Guilherme Padilha Filho e co-orientação da Profa. Dra. Vera Maria Villamil Martins - UDESC. De fevereiro de 2008 até o presente momento é professora substituta das disciplinas de Semiologia e Clínica Médica do curso de graduação em Medicina Veterinária na Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor João Guilherme Padilha Filho, meus agradecimentos e minha admiração pela confiança, apoio, conhecimentos transmitidos e tranquilidade em todos os momentos desta etapa.

Aos meus pais, Antonio Pereira de Souza e Creusa Figueiredo de Souza e meu irmão, Ezequiel, por todo o incentivo, apoio emocional e financeiro dedicados.

Ao meu marido, Charles Pelizzari pelo companheirismo, amor e amizade. Também pelo auxílio na realização das sessões de fisioterapia durante o período de natal e ano novo.

Ao programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da Universidade Estadual Paulista – Câmpus de Jaboticabal por ter me acolhido.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado.

À FAPESP pela concessão do auxílio pesquisa.

À empresa Manfrim alimentos por ter cedido grande parte da ração utilizada durante o experimento.

Aos professores e funcionários do Hospital Veterinário da UNESP – Câmpus Jaboticabal pelo apoio sempre que necessário.

Aos colegas que auxiliaram em várias etapas do trabalho, Nicole Zanetti, Luís Gustavo Gosuen, Emílio Belmonte, Maria Lígia Mistieri, Camila Paes Bürguer, Bruna Piva Maria, Erica Souza e Gustavo Oliveira.

Aos colegas pós-graduandos da anestesiologia, Roberto, Daniela, Luciana e André pelo auxílio durante os procedimentos anestésicos para realização das biopsias musculares.

Aos técnicos e residentes do Laboratório de Patologia Clínica da UNESP – Câmpus Jaboticabal pela realização da mensuração das enzimas avaliadas no trabalho.

À professora Renee Laufer Amorim e a doutoranda Marcela Marcondes por todo o auxílio com fornecimento de grande parte dos materiais utilizados e processamento das amostras de imunistoquímica.

Ao professor David Miquelutti pelo auxílio na realização da estatística.

Aos professores Cíntia Maniscalco e Carlos Daleck por terem cedidos os canis e cães para a realização do experimento.

Aos grandes amigos de Jaboticabal: Márcio Antônio Brunetto, Sabryna Gouveia Calazans, Sabrina Marin Rodigheri, Kellen Sousa de Oliveira, Simone Crestoni, Neida Bortoluzzi e Artur Gouveia Rocha por todos os momentos de alegria, companheirismo e, algumas vezes, auxílio na realização das sessões de fisioterapia.

À Universidade do Estado de Santa Catarina pelo apoio prestado, principalmente aos professores Nilson Oleskovicz, Ricardo Trezzi Casa, Aury Nunes Moraes, Mere Saito e Joandes Fonteque.

À professora Vera Maria Villamil Martins pelos conhecimentos transmitidos durante e após a graduação, auxílio neste trabalho, por todo o apoio que sempre recebo em todos os momentos e por ser um exemplo de profissionalismo e ética a ser seguido por todos.

Aos membros da banca, Dr. Marcelo Meller Alievi, Dra. Paola Castro Moraes, Dra. Renée Laufer Amorim e Dr. André Luis Selmi pelas contribuições com este trabalho.

E a todas as pessoas que colaboraram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

| | Página |
|--|---------------|
| LISTA DE FIGURAS | vii |
| LISTA DE TABELAS..... | xi |
| RESUMO..... | xii |
| SUMMARY | xiii |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA..... | 3 |
| 2.1 Tecido Muscular | 3 |
| 2.2 Contração Muscular | 4 |
| 2.3 Tipos de Fibras Musculares | 4 |
| 2.4 Resposta do Tecido Muscular ao Desuso | 5 |
| 2.5 Reabilitação em Medicina Veterinária..... | 6 |
| 2.5.1 Modalidades Terapêuticas | 7 |
| 2.5.1.1 Massagem | 7 |
| 2.5.1.2 Movimentação passiva da articulação | 9 |
| 2.5.1.3 Estimulação Elétrica Neuromuscular (EENM) | 10 |
| 2.5.1.4 Hidroterapia | 13 |
| 2.5.2 Métodos de avaliação da reabilitação em cães..... | 17 |
| 2.5.2.1 Avaliação clínica da marcha..... | 17 |
| 2.5.2.2 Amplitude articular | 17 |
| 2.5.2.3 Avaliação da massa muscular | 18 |
| 2.5.2.4 Avaliação sérica das enzimas creatina-quinase e lactato-desidrogenase | 20 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS..... | 21 |
| 3.1 Aquisição e adaptação dos cães | 21 |
| 3.2 Distribuição dos grupos e protocolos fisioterapêuticos..... | 21 |
| 3.3 Procedimentos anestésicos e analgésicos..... | 22 |
| 3.4 Procedimentos cirúrgicos..... | 23 |
| 3.4.1 Biopsias do músculo vasto lateral | 23 |

| | | |
|-------|---|-----------|
| 3.4.2 | Confecção do fixador externo para indução de atrofia muscular..... | 24 |
| 3.4.3 | Pós-operatório | 24 |
| 3.5 | Remoção do fixador externo..... | 24 |
| 3.6 | Modalidades Terapêuticas | 24 |
| 3.6.1 | Massagem | 26 |
| 3.6.2 | Movimentação passiva das articulações | 26 |
| 3.6.3 | Eletroterapia | 27 |
| 3.6.4 | Hidroterapia | 27 |
| 3.7 | Avaliações Clínicas..... | 29 |
| 3.7.1 | Graus de claudicação..... | 29 |
| 3.7.2 | Amplitude articular | 30 |
| 3.7.3 | Circunferência da Coxa | 31 |
| 3.8 | Avaliação das concentrações séricas de Creatina-quinase (CK) e Lactato-desidrogenase (LDH)..... | 32 |
| 3.9 | Avaliação Imunoistoquímica | 32 |
| 3.10 | Morfometria das Fibras Musculares Transversais Marcadas | 34 |
| 3.11 | Análise Estatística..... | 34 |
| 4. | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 36 |
| 4.1 | Resposta à fixação externa temporária do joelho e biopsias do músculo vasto lateral ³⁶ | |
| 4.2 | Sessões de fisioterapia | 37 |
| 4.3 | Graus de claudicação e avaliação da marcha | 38 |
| 4.4 | Amplitude articular e Arco do Movimento..... | 41 |
| 4.5 | Circunferência da coxa..... | 44 |
| 4.6 | Avaliação das concentrações séricas de Creatina-quinase (CK) e Lactato desidrogenase (LDH)..... | 47 |
| 4.7 | Morfometria das fibras musculares marcadas pela reação de imunoistoquímica ⁵⁰ | |
| 5. | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 58 |
| 6. | CONCLUSÕES..... | 59 |
| 7. | REFERÊNCIAS | 60 |

LISTA DE FIGURAS

| | Página |
|--|--------|
| Figura 1. Porcentagem de peso sustentado pelo cão (medido fora da água) em função da profundidade de imersão da água (adaptado de RIVIÈRE, 2007)..... | 14 |
| Figura 2. Fluxograma da distribuição dos 20 cães nos diferentes grupos, de acordo com o protocolo de reabilitação empregado após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010 | 22 |
| Figura 3. Imagem fotográfica do trans-operatório da confecção do aparelho de fixação externa temporária para imobilização do joelho. A. Sutura de pele com mononáilon na inserção de dois pinos de rosca central na tíbia e fêmur, respectivamente. B. Pinos dobrados e placa de metal angulada para posicionar a articulação fêmoro-tibio-patelar em 140°. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010..... | 25 |
| Figura 4. Imagem fotográfica da posição das mãos para massagem por deslizamento no sentido distal para proximal em cão após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. Universidade FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010 | 26 |
| Figura 5. Imagem fotográfica do membro pélvico direito de cão após tricotomia com quatro eletrodos acoplados com gel condutor, dispostos de maneira bipolar e os distais fixados com esparadrapo para sessão de estimulação elétrica neuromuscular FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010 | 28 |

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 6. | Imagem fotográfica de cão durante a sessão de hidroterapia em esteira aquática em cão após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010 | 29 |
| Figura 7. | Representação esquemática da técnica de goniometria com o membro pélvico em extensão (A) e flexão (B) para aferição da amplitude articular do joelho de cães (adaptado de JAEGGER et al., 2002)..... | 31 |
| Figura 8. | Imagem fotográfica capturada do programa Alpha Easer FC®, exibindo a morfometria da área transversal de fibra muscular (seta vermelha) marcadas pela técnica de imunistoquímica em amostra do músculo vasto lateral de cão com atrofia muscular induzida. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010 | 35 |
| Figura 9. | Representação gráfica do tempo médio de permanência, em dias, dos diferentes graus de claudicação, em cães submetidos ou não a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a imobilização externa rígida temporária do joelho. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010..... | 39 |
| Figura 10. | Representação gráfica dos valores médios de flexão, extensão e arco de movimento da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, nos diferentes tempos de observação em cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010..... | 42 |

- Figura 11. Representação gráfica do comportamento da perimetria da coxa direita, em centímetros, em valores médios, nos grupos, em diferentes tempos observação em cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010..... 46
- Figura 12. Representação gráfica dos valores séricos médios de creatina-quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) em U/L, por grupo, nos três intervalos de colheita (T0, T1, T2), em diferentes tempos observação, de cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010 48
- Figura 13. Fotomicrografia com objetiva 10X e aumento de 40X do aspecto da fibra muscular marcada pela técnica de imunoistoquímica (setas) com a utilização do anticorpo primário “*slow myosin*” e anticorpo secundário conjugado com peroxidase de cabra anti IgG de camundongo revelados por incubação com diaminobenzidina – DAB no cão 11, pertencente ao grupo H, submetido a massagem, movimentação passiva e caminhada em esteira aquática antes (A) da imobilização do joelho, 30 (B), 60 (C) e 105 (D) dias após a imobilização do joelho para indução de atrofia muscular. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010 51

- Figura 14. Fotomicrografia com objetiva 10X e aumento de 40X do aspecto da fibra muscular marcada pela técnica de imunistoquímica (setas) com o anticorpo primário “*fast myosin*” e anticorpo secundário conjugado com peroxidase de cabra anti IgG de camundongo revelados por incubação com diaminobenzidina – DAB no cão 11, pertencente ao grupo C ou controle, antes (A) da imobilização do joelho e 30 (B), 60 (C) e 105 (D) dias após a imobilização do joelho para indução de atrofia muscular. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010 ,..... 52
- Figura 15. Representação gráfica dos valores médios da morfometria das fibras do músculo vasto lateral, obtidos em pixels e convertidos em percentual, em diferentes tempos observação, de cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010 56

LISTA DE TABELAS

| | | Página |
|-----------|---|--------|
| Tabela 1. | Classificação dos graus de claudicação utilizados para avaliação clínica da marcha de cães submetidos ou não a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular com o uso de imobilização externa rígida do joelho durante 30 dias (adaptado de TUDURY & RAISER, 1985)..... | 30 |
| Tabela 2. | Valores da mensuração da circunferência da coxa direita de cada cão, em centímetros e percentual, nos diferentes grupos, durante o período de observação em cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias | 45 |
| Tabela 3. | Percentual obtido dos valores, em pixels, da morfometria da área das fibras transversais do músculo vasto lateral de cães, marcadas pela técnica de imunoistoquímica com o anticorpo “ <i>slow myosin</i> ” em cães submetidos ou não a diferentes protocolos de fisioterapia após a indução de atrofia muscular com aparelho de fixação externa temporária do joelho durante 30 dias | 54 |
| Tabela 4. | Percentual obtido dos valores, em pixels, da morfometria da área das fibras transversais do músculo vasto lateral de cães, marcadas pela técnica de imunoistoquímica com o anticorpo “ <i>fast myosin</i> ” em cães submetidos ou não a diferentes protocolos de fisioterapia após a indução de atrofia muscular com aparelho de fixação externa temporária do joelho durante 30 dias. | 55 |

REABILITAÇÃO EM CÃES COM ATROFIA MUSCULAR INDUZIDA

RESUMO – Avaliou-se a resposta de diferentes protocolos fisioterapêuticos em cães após a indução de atrofia muscular por meio da imobilização do joelho por 30 dias. Os grupos foram denominados grupo C ou controle, grupo M (massagem e movimentação passiva), grupo E (massagem, movimentação passiva e eletroterapia), grupo H (massagem, movimentação passiva e hidroterapia em esteira aquática) e grupo EH (massagem, movimentação passiva, eletroterapia e hidroterapia em esteira aquática). Foram mensurados, os graus de claudicação, amplitude articular, circunferência da coxa, variação sérica das enzimas creatina-quinase e lactato-desidrogenase, bem como a morfometria muscular das fibras de contração rápida e contração lenta do músculo vasto lateral marcadas pela técnica de imunistoquímica. Os cães do grupo H apresentaram retorno mais precoce à função do membro pélvico direito, mostrando que a hidroterapia pode ser benéficamente empregada para a recuperação em cães claudicantes. A fisioterapia reduziu a contratura articular. Verificou-se maior recuperação da área transversal das fibras musculares de contração lenta e rápida nos cães submetidos à eletroterapia aos 60 dias de pós-operatório. De acordo com os resultados encontrados, foi possível concluir que as modalidades terapêuticas de massagem, movimentação passiva da articulação, estimulação elétrica neuromuscular e hidroterapia por caminhada em esteira aquática aceleram a recuperação clínica em cães com atrofia muscular induzida.

Palavras-chave: Atrofia muscular, cães, cinesioterapia, eletroterapia, fisioterapia, hidroterapia.

REHABILITATION IN DOGS WITH TO INDUCED MUSCLE ATROPHY

SUMMARY - The response to different physiotherapeutic protocols was evaluated in dogs with muscle atrophy induced by a 30-day-long immobilization of the stifle joint. The animals were divided in groups namely: C (control), M (massage and passive range of motion), E (massage, passive range of motion and neuromuscular electrical stimulation), H (massage, passive range of motion and hydrotherapy in underwater treadmill), and EH group (massage, passive range of motion, neuromuscular electrical stimulation and hydrotherapy in underwater treadmill). The degree of lameness, range motion, thigh circumference, range of serum creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) were then evaluated, as well as the morphometry of fast- and slow-twitch muscle fibers of the *vastus lateralis* by immunohistochemistry. Group H dogs regained function of the right hind limb faster than the other groups. This result shows that hydrotherapy helped in the recovery process of lame dogs. Physiotherapy reduced the joint contracture. There was a higher recovery rate of cross-sectional area of slow-twitch and fast-twitch muscle fibers and thigh circumference in dogs submitted to neuromuscular electrical stimulation at 60 days post-surgery. According to these results, it was possible to conclude that therapeutics modalities such as massage, passive range of motion of the joint, neuromuscular electrical stimulation and hydrotherapy by walking on underwater treadmill accelerate clinical recovery in dogs with induced muscle atrophy.

Key-words: Muscle atrophy, dogs, kinesiotherapy, eletrotherapy, physiotherapy, hydrotherapy.

1. INTRODUÇÃO

A reabilitação física de animais é uma área relativamente nova na Medicina Veterinária, que tem se tornado essencial para promover melhores oportunidades de recuperação em cirurgias ortopédicas e de tecidos moles (CANAPP, 2007). Em estudo realizado na Irlanda detectou-se que a maioria dos cirurgiões veterinários reconhece que a fisioterapia deva ser amplamente utilizada, embora ressalte que falta comunicação entre o cirurgião e o especialista em reabilitação animal (DOYLE & HORGAN, 2006).

Todos os cães com problemas ortopédicos ou neurológicos são candidatos à terapia física, particularmente os que desempenham atividades físicas intensas, como de esporte e guarda. A fisioterapia também é aplicada a cães em recuperação pós-cirúrgica (CANAPP, 2007; LEVINE et al., 2008).

A reabilitação direcionada às condições ortopédicas é uma das mais importantes áreas da fisioterapia em cães. Dentre suas indicações estão a recuperação de fraturas, distúrbios articulares, rupturas de ligamentos e afecções tendíneas (DAVIDSON et al., 2008).

A formulação do protocolo de tratamento depende da identificação dos distúrbios apresentados. A priorização dos problemas, opção pelos métodos de tratamento apropriado e sua frequência irão determinar o sucesso da recuperação. O temperamento do paciente e os equipamentos disponíveis devem ser considerados na escolha das modalidades terapêuticas (VEENMAN, 2006).

A massagem é, provavelmente, a mais antiga das terapias. Possui efeitos reflexos, produzidos pelos receptores periféricos da pele que produzem sensação de prazer e relaxamento; efeitos sedativos, quando realizada de maneira suave e repetitiva; e ainda os efeitos mecânicos que auxiliam nos retornos venoso e linfático, além de desfazer aderências (BAUER & MIKAIL, 2006).

Embora muitas vezes possa ser necessária a imobilização de um membro, as consequências devem ser avaliadas. A redução da movimentação ocorre após curto

período de imobilização articular e pode levar entre oito e 12 semanas de remobilização para ocorrer melhora na amplitude de movimento. Os exercícios de movimentação passiva podem ajudar a diminuir este tempo (MILLIS, 2004a).

Com o objetivo de minimizar os eventos desencadeados pelo desuso muscular, diversas técnicas têm sido usadas, buscando melhorar as condições das fibras musculares, com destaque para a estimulação elétrica neuromuscular (EENM) (DURIGAN et al., 2006). A EENM utiliza corrente que ativa o nervo motor e permite o recrutamento e a contração muscular após lesões ortopédicas ou neurológicas (CANAPP, 2007), produzindo hipertrofia muscular (SOUZA et al., 2007; PELIZZARI et al., 2008a).

A hidroterapia se tornou muito popular na Medicina Veterinária. A caminhada em esteira aquática oferece benefícios variáveis dependendo da profundidade da água e da velocidade da esteira. Cães que caminham com a água na altura da articulação do tarso, joelho e trocanter maior sustentam 91, 85 e 37% do peso, respectivamente, quando comparados aos exercícios terrestres (SAUNDERS, 2007).

Embora as avaliações clínicas dos protocolos fisioterapêuticos como a amplitude articular, circunferência da coxa e graus de claudicação sejam subjetivas, elas podem ser muito úteis para avaliar a eficácia deles, além de serem métodos não invasivos. A avaliação por biopsia muscular deve ser empregada, pois o comportamento das fibras musculares frente às diferentes modalidades terapêuticas isoladas ou associadas em cães ainda não está bem esclarecido. Não foram encontradas publicações de estudos sobre o comportamento das fibras musculares frente aos exercícios em esteira aquática na Medicina Veterinária.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a resposta de cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a imobilização externa rígida temporária do joelho durante 30 dias, em diferentes tempos de avaliação, em relação à amplitude do movimento, circunferência da coxa, graus de claudicação, variação sérica das enzimas creatina-quinase e lactato-desidrogenase, bem como a morfometria muscular das fibras de contrações rápida e lenta, marcadas por imunoistoquímica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tecido Muscular

Uma das características que grande parte dos seres vivos possui é a motilidade (BYDLOWSKI & BYDLOWSKI, 2002). Ela pode ser atribuída a células específicas que se tornaram altamente especializadas, de modo que atuam quase exclusivamente na contração muscular (GARTNER & HIATT, 2002). Esta capacidade apresenta-se especialmente desenvolvida pelas células ou fibras musculares, que são, por sua vez, organizadas nos músculos (BYDLOWSKI & BYDLOWSKI, 2002).

As fibras musculares são diferenciadas e possuem características peculiares. A membrana é chamada sarcolema, o citoplasma de sarcoplasma, e o retículo endoplasmático é conhecido como retículo sarcoplasmático. Os músculos são formados por feixes de células longas, cilíndricas e multinucleadas, chamadas fibras musculares estriadas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). A maioria das fibras musculares tem entre 1 e 40mm (BANKS, 1992).

Cada fibra muscular possui subunidades denominadas miofibrilas, que lhe dão o aspecto estriado e ocupam a maior parte do volume celular. As miofibrilas apresentam um padrão de estriações, no qual regiões mais densas e escuras, as bandas A, que contêm os filamentos grossos, se alternam com regiões menos densas e mais claras, as bandas I, contendo os filamentos finos (BANKS, 1992). Cada banda I é cortada ao meio por uma linha delgada e escura, a linha Z. A região da miofibrila que se estende de uma linha Z a outra, o sarcômero, é a unidade de contração do músculo esquelético (GARTNER & HIATT, 2002).

As proteínas que participam da contração muscular são diversificadas quanto à sua estrutura e a função que realizam; são capazes de transformar a energia química em mecânica (BACILA, 2003). As miofibrilas do músculo estriado contêm pelo menos quatro proteínas principais: miosina, actina, tropomiosina e troponina. Os filamentos grossos são formados de miosina e as outras três proteínas são encontradas nos

filamentos finos (POWERS & HOWLEY, 2000; WILMORE & COSTILL, 2001; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004; WATRAS, 2004).

2.2 Contração Muscular

A contração muscular é um processo complexo que envolve diversas proteínas celulares e sistemas de produção de energia. O resultado é o deslizamento da actina sobre a miosina, fazendo com que o músculo encurte e, conseqüentemente, desenvolva tensão (POWERS & HOWLEY, 2000).

A contração muscular se inicia na placa motora. O potencial de ação chega à região pré-sináptica, onde é liberada a acetilcolina, um neurotransmissor colinérgico. A ativação dos receptores colinérgicos culmina na geração de potenciais na placa motora, os quais resultam na transmissão do potencial de ação a partir deste local. Esta interiorização da onda de despolarização provoca a liberação do cálcio do retículo sarcoplasmático, iniciando a contração (BANKS, 1992).

Durante a contração muscular, o sarcômero se encurta em 20 a 50 por cento do seu comprimento, e isso se deve ao processo de deslocamento dos filamentos grossos (miosina) e finos (actina), intercalados, que deslizam uns sobre os outros (BACILA 2003). A interação destas duas proteínas com o ATP resulta na contração muscular (SZENT-GYÖRGYI, 2004).

O relaxamento ocorre pelo transporte ativo do cálcio para o retículo sarcoplasmático, diminuindo a concentração de cálcio livre, assim ele se dissocia da troponina e o estado de relaxamento da contração é reestabelecido (HUXLEY, 1974).

2.3 Tipos de Fibras Musculares

Anatomicamente, o músculo esquelético não é uma massa homogênea de fibras musculares (RANDALL et al., 2000; BYDLOWSKI & BYDLOWSKI, 2002; MILLIS, 2004a). Diferenças de coloração óbvias são encontradas entre as espécies e entre os músculos individuais da mesma espécie (BANKS, 1991). A diversidade da composição dos músculos permite o desenvolvimento de respostas variáveis frente às diversas demandas corporais (BONDAN & LALLO, 2006). Eles apresentam diferenças em

relação à potência, velocidade de contração e resistência à fadiga (BYDLOWSKI & BYDLOWSKI, 2002).

O músculo esquelético pode ser classificado de diversas maneiras com base nas características histoquímicas, bioquímicas (POWERS & HOLEY, 2000), de coloração, metabolismo, limiar de fadiga e imunoistoquímicas (MINAMOTO, 2005).

Através da imunoistoquímica é possível identificar diferentes isoformas da cadeia pesada da miosina (*myosin heavy chain* – MHC), utilizando anticorpos antimiosina, sendo esta uma das classificações das fibras musculares. A MHC é a porção da cabeça da molécula da miosina que determina a velocidade da reação das pontes cruzadas da miosina com os filamentos de actina e, conseqüentemente, a velocidade de contração muscular (MINAMOTO, 2005).

Historicamente, as fibras musculares foram classificadas em duas características gerais: fibras rápidas (também denominadas de fibras de contração rápida) e fibras lentas (ou fibras de contração lenta) (POWERS & HOLEY, 2000; WATRAS, 2004). Embora alguns grupos musculares sejam compostos predominantemente por fibras rápidas ou lentas, a maioria dos grupos musculares do corpo contem uma combinação igual de suas fibras. A porcentagem dos tipos de fibra contidos nos músculos esqueléticos pode ser influenciada pela genética, níveis hormonais no sangue e pelos hábitos de exercício do indivíduo (POWERS & HOLEY, 2000).

2.4 Resposta do Tecido Muscular ao Desuso

As fibras musculares têm capacidade de alterar suas propriedades fisiológicas e bioquímicas de acordo com os estímulos a que são submetidas, com o resultado refletindo na quantidade ou tipo das proteínas musculares. Esta capacidade adaptativa envolvendo diferentes componentes da fibra diz respeito à plasticidade muscular (BOFF, 2008).

O envelhecimento e o desuso são as duas principais condições que levam a atrofia muscular em humanos (D'ANTONA et al., 2003; MINAMOTO, 2005). Em estudo realizado por D'ANTONA et al. (2003), foram colhidas amostras do músculo vasto lateral de pessoas jovens hígdas, idosas e jovens que tiveram o membro inferior direito

imobilizado por três meses e meio. Concluiu-se que a imobilização, seguida pelo envelhecimento, causam modificações nas propriedades e funções da miosina, sendo ela responsável pela força muscular.

A atrofia muscular inicia em 72 horas de imobilização. Os músculos posturais (fibras tipo I), como o quadríceps, são mais susceptíveis a atrofia muscular. O tempo de recuperação da massa muscular, força e metabolismo variam de duas a quatro vezes a duração da imobilização (DOYLE, 2004).

Clinicamente, o joelho é frequentemente imobilizado por períodos de até 10 semanas. Após a imobilização prolongada ocorrem alterações degenerativas na cartilagem e atrofia muscular significativa, alterando a morfologia muscular (LIEBER et al., 1989; MILLIS, 2004a; MILLIS, 2004b). Os músculos submetidos ao desuso tendem a apresentar maior incidência de fibras rápidas (MINAMOTO, 2005).

LIMA et al. (2007) analisaram as características morfométricas e mecânicas dos músculos sóleo e gastrocnêmio de ratos após imobilização do membro pélvico esquerdo e observaram que, aos sete dias, já existiam alterações nos parâmetros morfométricos das fibras musculares, com repercussões na mecânica muscular, sugerindo a necessidade da reabilitação em músculos submetidos à imobilização, mesmo a curto prazo.

A imobilização do joelho de ratos por 45 dias foi realizada por DEL CARLO et al. (2007), tendo os autores observado que houve interferência negativa sobre a marcha e amplitude articular. Observaram também que, em animais com atividade livre e submetidos à natação, houve o favorecimento do retorno das condições biomecânicas.

A atrofia muscular em cães foi induzida de maneira significativa e comprovada através da morfometria do músculo vasto lateral de cães decorrente da imobilização externa do joelho durante trinta dias (SOUZA et al., 2007; PELIZZARI et al., 2008a; PELIZZARI et al., 2008b).

2.5 Reabilitação em Medicina Veterinária

A fisioterapia pode ser definida como abordagem holística para a prevenção, diagnóstico e manejo terapêutico da dor, distúrbios no movimento ou otimização da

função para promover saúde e bem-estar de um indivíduo ou comunidade (McGOWAN et al., 2007). A idéia da aplicação dos princípios e técnicas da reabilitação em animais não é nova. Na verdade, muitos dos protocolos de tratamento utilizados em humanos foram e continuam sendo desenvolvidos utilizando-se animais como modelo experimental (McGONAGLE & TAYLOR, 2004). A reabilitação física em cães é, obviamente, diferente de humanos. A sessão precisa ser efetiva, prazerosa e segura para os cães e veterinários. Em casos de agitação ou agressividade pode ser indicado o término da sessão ou adaptação do protocolo terapêutico (ESTEP, 2004)

Recentemente tem ocorrido grande progresso nos tratamentos cirúrgicos e conservativos de pacientes com doenças articulares, o que criou maior demanda para terapias complementares como a reabilitação (BOCKSTAHLER, 2006). Em estudo realizado recentemente na Irlanda, foram entrevistados 97 cirurgiões veterinários, sendo que destes, 96% acreditavam que mais pesquisas precisam ser realizadas para aumentar a comprovação científica dos benefícios da fisioterapia animal (DOYLE & HORGAN, 2006).

2.5.1 Modalidades Terapêuticas

A reabilitação física é o tratamento de doenças e lesões com agentes físicos como calor, frio, água, som, eletricidade, massagem e exercício (CLARK & McLAUGHLIN, 2001).

Os objetivos da fisioterapia para os animais de companhia acometidos por desordens ortopédicas com diminuição da mobilidade são manejo da dor, melhora na movimentação da articulação afetada, manutenção ou restauração da massa muscular, aumento da força muscular, melhora no condicionamento físico e controle de peso em pacientes obesos (BOCKSTAHLER, 2006).

2.5.1.1 Massagem

A massagem pode ser definida como a manipulação de tecidos moles do corpo (SUTTON, 2004). É frequentemente utilizada na reabilitação física e tem como objetivo aumentar o fluxo arterial, venoso e linfático (CLARK & McLAUGHLIN, 2001; DOYLE

2004; MILLIS, 2004b; BOCKSTAHLER, 2006), alongar tecidos e desfazer aderências, promover relaxamento muscular, produzir analgesia (GOATS, 1994a; CLARK & McLAUGHLIN, 2001) reduzir edema (TAYLOR, 1992; DOYLE, 2004; MILLIS, 2004b), melhorar o desempenho esportivo e aumentar o bem estar (GOATS, 1994a; WEERAPONG et al., 2005).

Os efeitos mecânicos da massagem nos tecidos moles podem ajudar a aliviar a tensão muscular através do relaxamento, diminuir a dor, aumentar a mobilidade e melhorar a circulação e o fluxo linfático. Acredita-se que a massagem promova a liberação de endorfinas para alívio da dor (SUTTON, 2004).

A massagem é comumente vista como uma arte terapêutica sem fundamentação científica. Mais estudos são necessários, embora já existam alguns trabalhos sobre seus efeitos (GOATS, 1994a).

Os efeitos da massagem foram estudados por SOUZA et al. (2006) em cães submetidos a artroplastia do joelho seguida de imobilização por 30 dias. Um protocolo terapêutico constituído por massagem, movimentação passiva e caminhada foi instituído durante 15 dias após a remoção do fixador externo, e houve influência positiva na recuperação clínica dos animais tratados em comparação aos não tratados.

A massagem também mostrou efeitos benéficos quando associada à adaptação de um aparelho de flexão do joelho, no manejo de um cão com contratura de quadríceps secundária à fratura cominutiva de fêmur (MOORE & SUTTON, 2010).

Em humanos, foi avaliado o efeito da massagem aplicada antes e após a realização de teste clínico de elasticidade, sobre o grupo muscular do jarrete. Não foi constatada diferença significativa entre o grupo tratado e não tratado com relação a elasticidade muscular nos indivíduos testados (BARLOW et al., 2004).

Segundo MARCHETTI & GONÇALVES (2006) a massagem, como intervenção na recuperação pós-exercício, principalmente no que se refere ao treinamento de força, parece ser uma forma efetiva de remoção da fadiga comparada ao repouso entre as séries no treinamento de força.

2.5.1.2 Movimentação passiva da articulação

Exercícios de movimentação passiva são necessários para acelerar a recuperação funcional após procedimentos cirúrgicos ortopédicos (MILLIS, 2004b), ou em pacientes acometidos por doenças articulares crônicas (MILLIS et al., 2004).

Quando a imobilização é utilizada para estabilizar fraturas, as demais articulações do membro são susceptíveis a contraturas periarticulares e diminuição da nutrição pela cartilagem devido à falta de difusão dos nutrientes (DOYLE, 2004), além da lesão muscular causada no local de inserção dos pinos (REZENDE et al., 2006). Mesmo quando não é necessária a imobilização por talas ou fixadores externos, alguns pacientes podem manter o membro estático na postura flexionada por causa da dor (DOYLE, 2004).

Os exercícios de movimentação passiva são úteis para diminuir os efeitos causados pelo desuso e imobilização articular (DOYLE, 2004; MILLIS et al., 2004). Alguns animais que não receberam exercícios de movimentação passiva logo após a cirurgia de reconstrução do ligamento cruzado cranial apresentaram diminuição da extensão do joelho, que pode se tornar permanente (MILLIS, 2004b).

A movimentação passiva tem melhores efeitos se realizada em ambientes calmos com o paciente em decúbito lateral. A utilização de massagem antes da realização dos exercícios de movimentação passiva ajuda o paciente a relaxar e alivia a tensão no membro acometido (CANAPP JR, 2004).

SOUZA et al. (2006) realizaram movimentação passiva após massagem em cães submetidos à imobilização do joelho durante 30 dias após artroplastia e observaram diminuição da rigidez articular nos animais tratados.

A movimentação passiva quando realizada em humanos após cirurgia de reconstrução do ligamento cruzado anterior trouxe benefícios para a redução do edema e do quadro algico, ganho de amplitude do movimento e melhora funcional (BELCHIOR et al., 2008).

LIMA et al. (2000) utilizaram protocolo de tratamento que incluía a movimentação passiva em humanos portadores de Doença de Klenböck e submetidos à técnica cirúrgica de ressecção da fileira proximal do carpo. Ele foi eficaz na redução da dor,

aumento do arco de movimento e favoreceu a melhora da capacidade funcional da mão afetada. A avaliação da satisfação das pessoas tratadas também foi estimada, estando em torno de 90%.

2.5.1.3 Estimulação Elétrica Neuromuscular (EENM)

Desde as Olimpíadas de Montreal (1976), quando o médico russo Yakov Kots publicou, sem muitos detalhes, ter obtido ganhos de força de 30 a 40% em atletas de elite (WARD & SHKURATOVA, 2002), diversos outros estudos preconizam a estimulação elétrica neuromuscular, principalmente durante os processos de reabilitação, como no período pós-operatório de cirurgias de joelho (STEVENS et al., 2004). A utilização da EENM na tentativa de prevenir os efeitos deletérios dos processos de imobilização e dos procedimentos cirúrgicos tem grande aplicabilidade, pois reduz o tempo de reabilitação, promove o retorno dos pacientes às suas atividades normais em tempo menor, além de propiciar o prolongamento da sobrevida nos casos de mielopatia degenerativa (KATHMANN et al., 2006).

A estimulação elétrica neuromuscular é uma forma de eletroterapia clínica usada para tratar várias desordens fisiológicas e lesões em humanos como por exemplo os casos de ruptura do ligamento cruzado anterior (SNYDER-MACKLER et al., 1994; REBAL et al., 2002; SALBEGO, 2006), a reabilitação de pacientes com hemiplegia (BOGATAGI et al., 1995), o aumento na amplitude de movimentos em indivíduos hemiparéticos (MARTINS et al., 2004), a reversão da atrofia muscular por desuso (APPELL, 1986; EDGERTON et al., 2002) e o fortalecimento do esfíncter urinário (JANKNEGT et al., 1995), constituindo-se em uma modalidade promissora para o tratamento de desordens semelhantes em pacientes veterinários (JOHNSON & LEVINE, 2004).

Em pacientes com disfunções neurológicas acompanhadas por fraqueza ou queda de resistência física, a utilização da estimulação elétrica tem por objetivo a despolarização do neurônio motor que causa a contração muscular (STEISS & LEVINE, 2008).

Existem diferentes aparelhos para a realização da EENM disponíveis comercialmente. Basicamente, as correntes geradas são a direta, alternada ou pulsada (MIKAIL, 2006). A corrente pulsada é caracterizada por uma unidade elementar: o pulso elétrico. Pulsos elétricos podem exibir formas diferentes, gerando vários tipos de correntes (BRASILEIRO et al., 2002), como a interferencial e a russa (MIKAIL, 2006).

A corrente russa, também conhecida como corrente de Kots, é sinusoidal, alternada em frequência média de 2,5kHz (2000 a 10000Hz), e os pulsos modulados na frequência de 50Hz, com ciclo em 50% (WARD & SHKURATOVA, 2002). Os pulsos são agrupados com intervalos entre eles, o que permite maior conforto ao paciente. Outro fator que contribui para o conforto é o efeito da frequência média sobre a impedância dos tecidos, que pode ser reduzida pela tricotomia da região a ser estimulada (MIKAIL, 2006). Conforme a frequência é aumentada, há menor resistência ao fluxo da corrente (BRASILEIRO et al., 2002), tornando o tratamento mais confortável. Esses fatores determinam também níveis mais profundos de contração muscular (MIKAIL, 2006).

A amplitude de corrente ou intensidade é a distância vertical do pico mais alto ao mais baixo durante uma onda elétrica. Pode ser medida em miliamperes. Quando aumentada, induz-se a maior força de contração muscular, pois promove o recrutamento adicional de fibras em distâncias maiores entre os eletrodos (JOHNSON & LEVINE, 2004).

A duração do pulso indica o tempo que a corrente está fluindo em um ciclo. Ao aumentarmos a amplitude ou duração do pulso afetamos a força de contração, uma vez que mais unidades motoras são recrutadas (MIKAIL, 2006).

Os controles de ciclo "on/off" ou taxa de repetição dos trens de pulso são essenciais quando se objetiva o fortalecimento muscular. A contração estimulada contínua leva a fadiga muscular rápida, o que implica em queda da força gerada (BRASILEIRO et al., 2002). Este controle é necessário devido a contração muscular ter como fonte energética o sistema trifosfato de adenosina e fosfocreatina (ATP-PC), que está em ação durante a produção de contrações musculares máximas, porém tendo duração do substrato limitada a alguns segundos (MARTINI, 1995).

Para a realização da eletroterapia são necessários eletrodos para a condução da corrente elétrica. Existem vários tipos, como os de borracha de silício eletricamente condutora. Neste caso, é necessário um agente de acoplamento, como gel eletrolítico, para fornecer menor resistência à passagem da corrente elétrica (BRASILEIRO et al., 2002). A disposição pode ser realizada de maneira monopolar, bipolar ou quadripolar. Na orientação bipolar, dois eletrodos provenientes do mesmo canal são colocados sobre os pontos motores do músculo a ser estimulado (MIKAIL, 2006).

Durante a estimulação elétrica neuromuscular ocorre o recrutamento das fibras de contração rápida (tipo II), seguidas pelas fibras de contração lenta (tipo I), sendo este padrão contrário ao recrutamento nas contrações voluntárias (JOHNSON & LEVINE, 2004; MIKAIL, 2006).

A estimulação elétrica neuromuscular promoveu o retorno precoce à função do membro e reduziu o grau de osteoartrite em cães submetidos à cirurgia para reconstituição do ligamento cruzado cranial (JOHNSON et al., 1997). Após 19 semanas os pacientes tratados demonstravam maior circunferência da coxa, diminuição da claudicação e das alterações radiográficas.

Alguns estudos envolvendo a eletroterapia em cães com atrofia muscular são recentes. SOUZA et al. (2007) e PELIZZARI et al. (2008b) utilizaram a estimulação elétrica neuromuscular de baixa frequência, na modalidade de estimulação elétrica funcional (FES) e observaram que os cães com atrofia muscular induzida experimentalmente e tratados com eletroestimulação apresentaram hipertrofia do músculo vasto lateral altamente significativa, quando comparados aos animais não tratados. PELIZZARI et al. (2008a) empregaram a corrente de média frequência (corrente do tipo russa) e obtiveram resultados semelhantes.

A utilização da EENM de baixa frequência como tratamento para reabilitação após cirurgia de reconstrução do ligamento cruzado cranial em cães foi avaliada por SALBEGO (2006). Não houve diferença significativa entre os grupos tratados e não tratados com relação à circunferência da coxa, embora a recuperação clínica tenha ocorrido de forma mais precoce nos pacientes submetidos à fisioterapia.

DURINGAN et al. (2006) avaliaram a morfometria e a atividade metabólica da musculatura do membro pélvico de ratos sob os efeitos da estimulação elétrica neuromuscular no membro imobilizado durante 15 dias. Os autores concluíram que esta modalidade minimizou a redução das reservas de glicogênio, preveniu a redução da área das fibras e a proliferação do tecido conjuntivo nos músculos submetidos à imobilização.

A utilização da estimulação elétrica neuromuscular durante a imobilização do membro pélvico de ratos foi estudada por MATHEUS et al. (2007) para avaliar seus efeitos sobre o músculo gastrocnêmio. Neste modelo experimental, os autores observaram que houve atraso no processo de atrofia muscular.

A remobilização do músculo gastrocnêmio de ratos com estimulação elétrica neuromuscular e alongamento passivo foi avaliada por CARVALHO et al. (2006). Foi possível verificar que a imobilização reduziu significativamente as propriedades mecânicas como rigidez e resiliência do músculo gastrocnêmio de ratos, sendo que a remobilização por estimulação elétrica neuromuscular promoveu o restabelecimento das funções musculares nestes animais.

2.5.1.4 Hidroterapia

A terapia aquática ou hidroterapia se tornou muito popular na reabilitação física humana e Veterinária. A água possui qualidades únicas que permitem opções incontáveis de técnicas fisioterapêuticas (SAUNDERS, 2007). É necessário conhecer os princípios e propriedades da água, para entender os benefícios da hidroterapia (LEVINE et al., 2004).

A densidade relativa de um objeto é a taxa de peso que irá deslocar um volume igual de água. Ela depende da composição do objeto. A densidade de várias substâncias pode ser definida pelo valor numérico conhecido como gravidade específica. A gravidade específica da água é de 1,0. A gordura, músculo e ossos possuem 0,8, 1,0 e 2,0 respectivamente. Se a gravidade específica do objeto for maior que 1,0 ele irá afundar (LEVINE et al., 2004).

A flutuação é a capacidade do corpo manter-se sem apoio na superfície. Trata-se de uma força (empuxo) que age contra a gravidade, e está relacionada com o volume de água deslocado pelo corpo submerso. A gravidade pode ser relativamente anulada e ocasionar menor descarga de peso corporal (CARREGARO & TOLEDO, 2008). Enquanto flutua, o animal encontra-se em estado de ausência de peso relativa, que diminui a carga sobre as articulações do aparelho locomotor (Figura 1) (MARSOLAIS et al., 2002; RIVIÈRE, 2007).

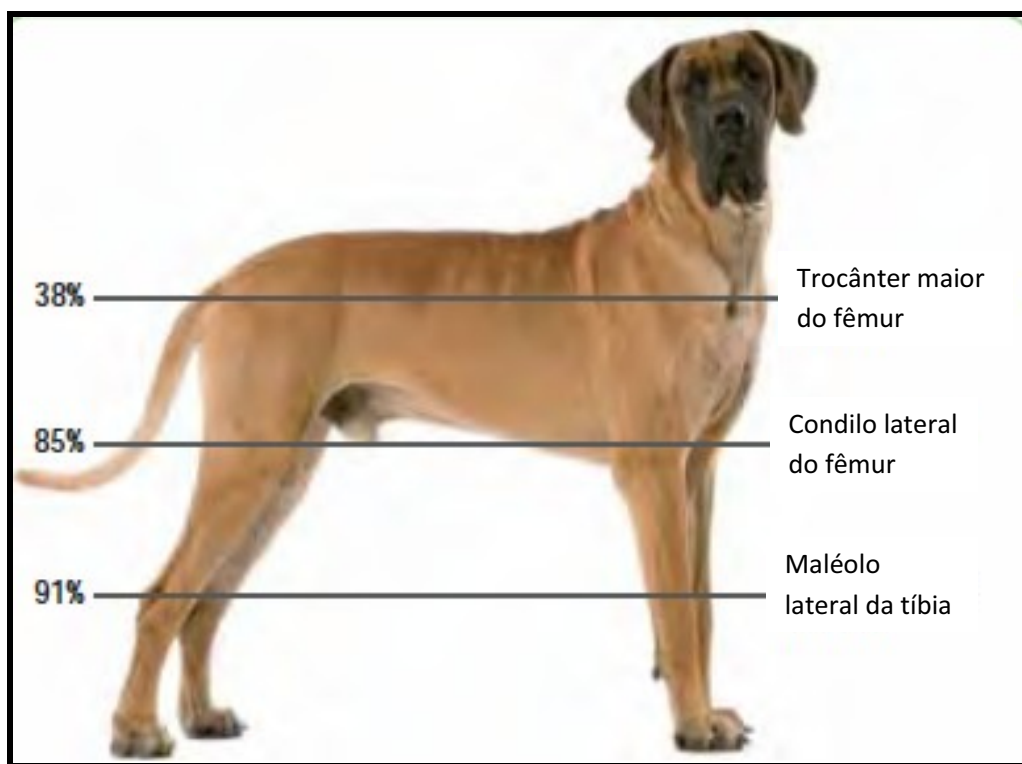


Figura 1. Porcentagem de peso sustentado pelo cão (medido fora da água) em função da profundidade de imersão da água (adaptado de RIVIÈRE, 2007).

Assim como todos os líquidos, a água exerce pressão em todas as direções. Quanto maior a profundidade, maior a pressão exercida (CARREGARO & TOLEDO, 2007). A pressão hidrostática age nos tecidos e exerce compressão de vasos

sanguíneos, podendo auxiliar no retorno venoso e redução de edemas (LEVINE et al., 2004; CARREGARO & TOLEDO, 2007).

A viscosidade é o resultado do atrito entre as moléculas de um líquido devido à força de adesão e coesão, causando resistência ao movimento. A flutuação e a viscosidade sozinhas ou combinadas possibilitam o uso da água como facilitadora, meio de resistência ou suporte para o movimento corporal ou determinado segmento (ORSINI et al., 2008).

A água possui ainda a propriedade de reter ou transferir calor, pelos mecanismos de condução e convecção (CARREGARO & TOLEDO, 2007). A elevação da temperatura corpórea ocorre mesmo no repouso em imersão, desde que a temperatura da água esteja mais elevada que a temperatura corpórea. O aumento na temperatura provoca diversas alterações, dentre elas o aumento do metabolismo e do suprimento de sangue aos músculos, o que facilita a contração muscular (ORSINI et al., 2008).

A hidroterapia pode ser realizada de diversas maneiras, entre elas o emprego de duchas (MIKAIL, 2006; SALBEGO, 2006), turbilhão, natação (MIKAIL, 2006), caminhada em esteira aquática (MILLIS, 2004c) e banhos de contraste (MIKAIL, 2006).

A caminhada em esteira aquática é indicada para estimular o uso do membro. Os benefícios da caminhada em esteira terrestre ou aquática são semelhantes. Além disso, os cães se beneficiam da propriedade de flutuação na água para diminuir a carga sobre o membro no período pós-operatório. A viscosidade da água resulta em resistência ao movimento e auxilia no fortalecimento muscular e condicionamento físico (MILLIS, 2004b).

KATHMANN et al. (2006) elaboraram um protocolo fisioterapêutico para cães com mielopatia degenerativa, que incluía massagem, movimentação passiva, exercícios ativos e caminhada em hidroesteira. Observaram aumento no tempo de sobrevida dos pacientes, além de perceber que os cães que receberam o tratamento foram capazes de se locomover por mais tempo que aqueles sem a fisioterapia.

Para os casos de cirurgia reconstrutiva do ligamento cruzado cranial em cães, foi instituído um protocolo com massagem, crioterapia, movimentação passiva e exercícios terapêuticos nas três primeiras semanas, seguido de caminhada em esteira aquática,

três vezes por semana, durante seis semanas (MONK et al., 2006). Os resultados foram muito satisfatórios, na opinião dos autores, sendo que nos cães tratados houve prevenção da atrofia muscular, aumento da força e massa muscular e aumento da flexão e extensão do joelho.

Outro protocolo que incluía a hidroterapia foi testado por MARSOLAIS et al. (2002) no pós-operatório de cães submetidos a reconstituição do ligamento cruzado cranial. As modalidades escolhidas foram natação, massagem, movimentação passiva da articulação e exercícios de caminhada. Os autores recomendam a utilização da reabilitação como parte do tratamento padrão necessário aos pacientes após essa cirurgia.

A utilização da esteira aquática em humanos portadores de artrite reumatóide é bastante difundida, porém HALL et al. (2004) avaliando os efeitos cardiorrespiratórios em pacientes portadores de artrite reumatóide comentaram que a eficácia é equivocada, quando usada como exercício de condicionamento, pois na maioria das vezes eles apresentam força muscular reduzida e podem ser incapazes de caminhar na velocidade adequada para treino aeróbico em função da resistência do movimento ser aumentada na água em relação ao solo.

CARVALHO et al. (2005) analisaram a resposta cardiorrespiratória e metabólica de pacientes humanos tetraplégicos em duas situações, durante a caminhada em hidroesteira com o auxílio de estimulação elétrica e suporte de peso corporal parcial, diminuindo o peso corporal entre 30 e 50%, e durante a realização de exercícios de resistência muscular com EENM. Os autores concluíram que o exercício em hidroesteira promoveu maior aumento da capacidade física em relação aos exercícios de resistência.

Os efeitos da caminhada em esteira terrestre sobre o músculo sóleo de ratos submetidos à imobilização foram estudados por NATALI et al. (2008). Os autores concluíram que o exercício foi eficaz na remobilização e, quando realizados de maneira intensa (em velocidade de 12m/min), proporcionou melhores resultados com relação ao número de sarcômeros em série; contudo, para o peso muscular, apenas a marcha em 10m/min foi suficiente para reverter os efeitos negativos da imobilização.

2.5.2 Métodos de avaliação da reabilitação em cães

Atualmente tem ocorrido o aumento na busca por comprovações tanto na fisioterapia Humana como Veterinária. Os resultados obtidos nas avaliações objetivas ganharam atenção dos pesquisadores, clínicos e público em geral (HESBACH, 2007).

A monitoração dos resultados permite verificar a eficácia do tratamento assim como justificar modificações nos protocolos terapêuticos e custos da reabilitação (CLARK & McLAUGHLIN, 2001).

Para validar os efeitos da fisioterapia, todos os resultados devem ser anotados e a documentação deve incluir os achados das avaliações iniciais e seriadas durante a reabilitação (TAYLOR, 1992).

2.5.2.1 Avaliação clínica da marcha

A avaliação clínica da marcha deve ser realizada com o animal caminhando e trotando para determinar qual o membro afetado (MUIR, 1997). A reabilitação de animais de companhia pode incluir a análise qualitativa e quantitativa da marcha estática e dinâmica, características do paciente em estação, ao caminhar e correr. Existem muitas ferramentas disponíveis ao clínico para esta análise (HESBACH, 2007).

A avaliação clínica dos graus de claudicação tem sido utilizada em alguns trabalhos. TUDURY & RAISER (1985) criaram uma tabela que estima, em cinco graus, as características clínicas da marcha de cães, para determinar o período de retorno funcional do membro posterior após a redução de fraturas distais de fêmur, com de pinos de Steinmann. Esta mesma classificação foi utilizada por SANTOS JÚNIOR & SCHOSSLER (2002) para avaliar a deambulação após o uso de aparelhos de fixação externa ou pinos intramedulares na tíbia de cães saudáveis e classificar os graus de claudicação em cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos (SALBEGO, 2006; SOUZA et al., 2006; PELIZZARI et al., 2008a; PELIZZARI et al., 2008b).

2.5.2.2 Amplitude articular

A goniometria, ou mensuração da amplitude articular é um método que permite medir objetivamente a taxa de movimentação das articulações dos animais de

companhia (HESBACH, 2007). É de simples realização e fornece informações adicionais aos clínicos ou pesquisadores quanto ao grau de alteração articular e evolução pós-operatória de pacientes ortopédicos (MANN et al., 1988).

A mensuração da amplitude articular tem sido utilizada como um dos métodos de determinação da eficácia de protocolos fisioterapêuticos em Medicina Veterinária. Entre eles, é possível citar o acompanhamento do pós-operatório de cães após cirurgia reconstrutiva do ligamento cruzado cranial (MARSOLAIS et al., 2002; MARSOLAIS et al., 2003; MONK et al., 2006; SALBEGO, 2006), após artroplastia do joelho (SOUZA et al., 2006) e para avaliar a recuperação de cães submetidos a imobilização temporária de articulações (ALIEVI et al., 2004; SOUZA et al., 2007; PELIZZARI et al., 2008a; PELIZZARI et al., 2008b).

A confiabilidade da técnica em cães da raça Labrador Retriever foi confirmada por JAEGER et al. (2002) que obtiveram as medidas goniométricas em animais em estado alerta e sob sedação, comparando-os com os achados radiográficos dos animais sedados. Os autores realizaram aferições por diferentes avaliadores e encontraram variação de, no máximo, seis graus, não demonstrando diferença estatisticamente significativa. A partir destes resultados foi possível concluir que a goniometria é confiável para aferição da amplitude articular.

Ainda com relação à confiabilidade deste método, BATISTA et al. (2006) mensuraram a amplitude articular com goniômetro universal e dinamômetro isocinético em humanos e encontraram alto grau de correlação entre as medidas, considerando os dois métodos confiáveis.

2.5.2.3 Avaliação da massa muscular

As avaliações da massa muscular são medidas úteis na reabilitação Veterinária. A massa muscular indica o uso do membro e pode ser estimada com a medida da circunferência do membro, ultrassom, tomografia computadorizada, ressonância magnética (MILLIS, 2004c) e pela morfometria das fibras musculares após biópsia muscular (SOUZA et al., 2007).

A mensuração da circunferência do membro com fita métrica é um método indireto de verificar as modificações na massa muscular, sendo barato, rápido e facilmente realizado nos pacientes clínicos. Resultados confiáveis dependem da padronização das aferições. Fatores como a presença dos pêlos e contração muscular podem mostrar resultados variáveis em um mesmo cão (MILLIS, 2004c).

Após cirurgia de reconstrução do ligamento cruzado cranial em cães, a mensuração da circunferência da coxa foi realizada por SALBEGO (2006) para determinar a eficácia de diferentes métodos fisioterapêuticos. Não foram encontradas variações significativas entre os diferentes grupos testados, embora o autor afirme que clinicamente foi possível observar melhores resultados em cães submetidos a estimulação elétrica neuromuscular. MONK et al. (2006) realizaram estudo semelhante, porém encontraram diferença altamente significativa entre os animais submetidos a fisioterapia e os sem nenhum tipo de reabilitação pós-cirúrgica.

A biopsia muscular para avaliação do comportamento e morfometria das fibras musculares foi empregada em diferentes estudos em equinos (RIVERO & HENCKEL, 1996; D'ANGELIS, 2004; PADILHA et al., 2008) e cães (REYNOLDS et al., 1995; SOUZA et al., 2007, PELIZZARI et al., 2008a; PELIZZARI et al., 2008b). Apesar de REYNOLDS et al. (1995) afirmarem que a biopsia por agulha é um excelente método de colheita do músculo de cães para o diagnóstico de miopatias, SOUZA et al. (2007) encontraram dificuldades quando utilizaram agulha do tipo "Trut-cut", tendo coletado, em alguns casos, fragmentos com tamanhos insuficientes para o processamento das amostras obtidas.

D'ANGELIS (2004) realizou a biopsia muscular por meio de agulha específica em equinos suplementados com creatina e submetidos a treinamento aeróbico em esteira terrestre, para a verificar o comportamento das fibras musculares através das técnicas de imunoistoquímica e histoquímica. Foi possível verificar que o treinamento aeróbico, associado ou não a suplementação com creatina, modificou as características contráteis e metabólicas do músculo, promovendo a conversão de fibras de contração rápida e glicolíticas em fibras de contração lenta e oxidativa.

A morfometria da área das fibras musculares obtidas através da biopsia em cães, durante e após a fisioterapia, mostrou que a estimulação elétrica neuromuscular produziu hipertrofia muscular, devendo ser utilizada em pacientes submetidos à imobilização do joelho (SOUZA et al., 2007; PELIZZARI et al., 2008a; PELIZZARI et al., 2008b).

2.5.2.4 Avaliação sérica das enzimas creatina-quinase e lactato-desidrogenase

Os resultados de exames laboratoriais podem sofrer alterações por inúmeros fatores (LOPES et al., 2005; COMIS, 2006). O exercício físico pode induzir modificações nos constituintes bioquímicos do plasma, como por exemplo, da creatina-quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) (DUNCAN & PRASSE, 1982; KANEKO et al., 1997; CHANOIT et al., 2002), causando sobrecarga nos músculos, gerando ruptura das fibras musculares levando a maior infiltrado de neutrófilos com subsequente liberação de proteínas celulares para a circulação, como a creatina quinase e lactato desidrogenase (SIQUEIRA et al., 2010). As lesões da musculatura esquelética são frequentemente encontradas na clínica de equinos (CÂMARA E SILVA et al., 2007).

CHANOIT et al. (2002) avaliaram as variações enzimáticas de cães não treinados da raça Beagle antes, durante e após 60 minutos de corrida em esteira terrestre a 9km/h. Foi possível concluir que o exercício intenso em cães sedentários não aumentou os níveis séricos de CK e LDH. Resultados semelhantes para CK e aspartato aminotransferase (AST) foram encontrados por SOUZA et al. (2007) em cães submetidos a 30 minutos de eletroterapia de baixa frequência como tratamento fisioterapêutico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aquisição e adaptação dos cães

Os 20 cães adultos jovens, machos ou fêmeas, sem raça definida, com massa corpórea entre 10 e 25kg, foram doados pelo centro de controle de zoonoses de Araraquara-SP, e mantidos em canis individuais de isolamento durante 60 dias. Neste período realizaram-se os exames clínico e ortopédico, hemograma e contagem plaquetária. Mediante qualquer alteração ortopédica em algum dos animais, este era substituído.

Os cães foram vermifugados com a associação de pamoato de pirantel e praziquantel, receberam vacina polivalente com intervalo de 20 dias, totalizando três doses, e foram tratados clinicamente contra hemoparasitas com a associação de doxiciclina (5mg/kg a cada 12 horas) durante 28 dias e dipropionato de imidocarb (7mg/kg) em duas aplicações realizadas em intervalos de 15 dias. Os cães receberam água e ração¹ *ad libidum*.

O trabalho seguiu as normas de experimentação do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado com protocolo número 004246-06 pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da FCAV/UNESP/Jaboticabal em 23 de março de 2006.

3.2 Distribuição dos grupos e protocolos fisioterapêuticos

Os 20 cães foram distribuídos, de forma aleatória, em cinco grupos experimentais constituídos por quatro animais (Figura 2). Foram formulados quatro protocolos de reabilitação incluindo as modalidades terapêuticas de massagem, movimentação passiva, eletroterapia e hidroterapia.

Nos cães do grupo C (controle), não houve tratamento fisioterapêutico durante ou após a indução da atrofia muscular. Para os cães dos demais grupos, a musculatura da coxa direita foi massageada durante dez minutos e cada articulação do membro

¹ Special Dog – Manfrim Alimentos – Santa Cruz do Rio Pardo, SP

pélvico direito submetida a 10 repetições de movimentação passiva. Adicionalmente, para os cães do grupo E foram realizados 20 minutos de estimulação elétrica neuromuscular de média frequência. No grupo H, os cães foram submetidos a 20 minutos de caminhada em esteira aquática e os do grupo EH a sessões de 10 minutos de eletroterapia, seguidas de caminhada em esteira aquática.



Figura 2. Fluxograma da distribuição dos 20 cães nos diferentes grupos, de acordo com o protocolo de reabilitação empregado após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

3.3 Procedimentos anestésicos e analgésicos

Para a realização da primeira biópsia muscular e imobilização do joelho, o protocolo anestésico adotado foi a associação de clorpromazina 0,05mg/kg e cloridrato de tramadol 4mg/kg como medicação pré-anestésica, seguida da indução com propofol na dose de 5mg/kg. Os cães foram intubados e mantidos com isoflurano vaporizado em

oxigênio a 100%. Após posicionamento em decúbito esternal foi realizada anestesia epidural, com a associação de cloridrato lidocaína a 2% sem vasoconstritor e bupivacaína 0,5% sem vasoconstritor (1ml/5kg, na proporção de 1:1). A antibioticoprofilaxia foi realizada mediante a aplicação de uma dose de cefalotina sódica, 20mg/kg, por via intravenosa (IV), 20 minutos antes da cirurgia. Após o procedimento cirúrgico foram administrados cetoprofeno (2mg/kg) em intervalos de 24 horas e cloridrato de tramadol a cada 8 horas, na dose de 4mg/kg, ambos durante três dias, para analgesia e ação antiinflamatória.

O protocolo anestésico adotado para a remoção do fixador externo e demais biopsias musculares foi de medicação pré-anestésica com clorpromazina (0,5mg/kg) associada a cloridrato de tramadol (5mg/kg) e indução com propofol (5mg/kg). A analgesia pós-operatória foi mantida com uma dose de cetoprofeno (2mg/kg).

3.4 Procedimentos cirúrgicos

Os procedimentos cirúrgicos foram efetuados em duas etapas. Inicialmente realizou-se a biopsia do músculo vasto lateral, seguida da colocação do fixador externo. A imobilização foi padronizada no membro pélvico direito em todos os cães.

3.4.1 Biopsias do músculo vasto lateral

Após tricotomia do membro pélvico direito, foi realizada a higienização com solução degermante seguida de antissepsia com álcool-iodo-álcool e povidine.

Incisou-se a pele, subcutâneo, fáscia muscular e retirou-se uma amostra de aproximadamente 1cm² da porção superficial do músculo vasto lateral que foi imersa na solução fixadora de formalina tamponada a 10% até o processamento para inclusão em parafina e realização da técnica de imunistoquímica. As biopsias foram realizadas em diferentes porções do músculo vasto lateral.

A sutura da fáscia, subcutâneo e pele foi realizada plano a plano, com fio mononáilon 3-0.

Este procedimento foi realizado nos dias zero, 30, 60 e 105 de pós-operatório.

3.4.2 Confeção do fixador externo para indução de atrofia muscular

Para a colocação do fixador externo foram realizadas incisões na pele na região de inserção dos pinos. Os músculos foram divulsionados e afastados para facilitar a exposição óssea. Inseriu-se quatro pinos de rosca central de 3mm ou 3,5mm, com perfuratriz, sendo dois no fêmur e dois na tíbia (Figura 3A). A sutura da pele foi efetuada com mononáilon 3-0. Imobilizou-se a articulação fêmoro-tibio-patelar em angulação de aproximadamente 140°. Para tal, os pinos foram dobrados e o joelho posicionado com o auxílio de uma placa de metal angulada em 140° (Figura 3B), para então serem fixados com resina acrílica autopolimerizável.

3.4.3 Pós-operatório

Durante os 30 dias de permanência do fixador externo e no dia de sua remoção, foram efetuados curativos diários. Após limpeza da região de inserção dos pinos na pele, com solução fisiológica 0,9%, colocou-se gazes embebidas em pomada de nitrofurazona, cobertas por atadura de crepe fixada com esparadrapo. Durante este período os cães permaneceram com colar elizabetano para evitar auto-traumatismos.

3.5 Remoção do fixador externo

Após 30 dias de pós-operatório os cães foram anestesiados conforme protocolo descrito anteriormente, para a remoção do fixador externo. Os pinos foram seccionados com alicate específico e removidos, por meio de movimentos de rotação auxiliados por alicate ortopédico de pressão. Uma vez removidos os pinos, as feridas foram higienizadas com solução de cloreto de sódio a 0,9% e protegidas por gaze estéril acrescida de solução de iodo povidine tópico.

3.6 Modalidades Terapêuticas

As modalidades terapêuticas descritas a seguir foram realizadas três vezes por semana, a partir do 38º dia de pós-operatório. Houve o intervalo de uma semana sem a realização das sessões entre o 60º e 67º dia para a realização da terceira biopsia muscular. Os procedimentos de massagem, movimentação passiva, eletroterapia e hidroterapia foram realizados no membro pélvico direito.

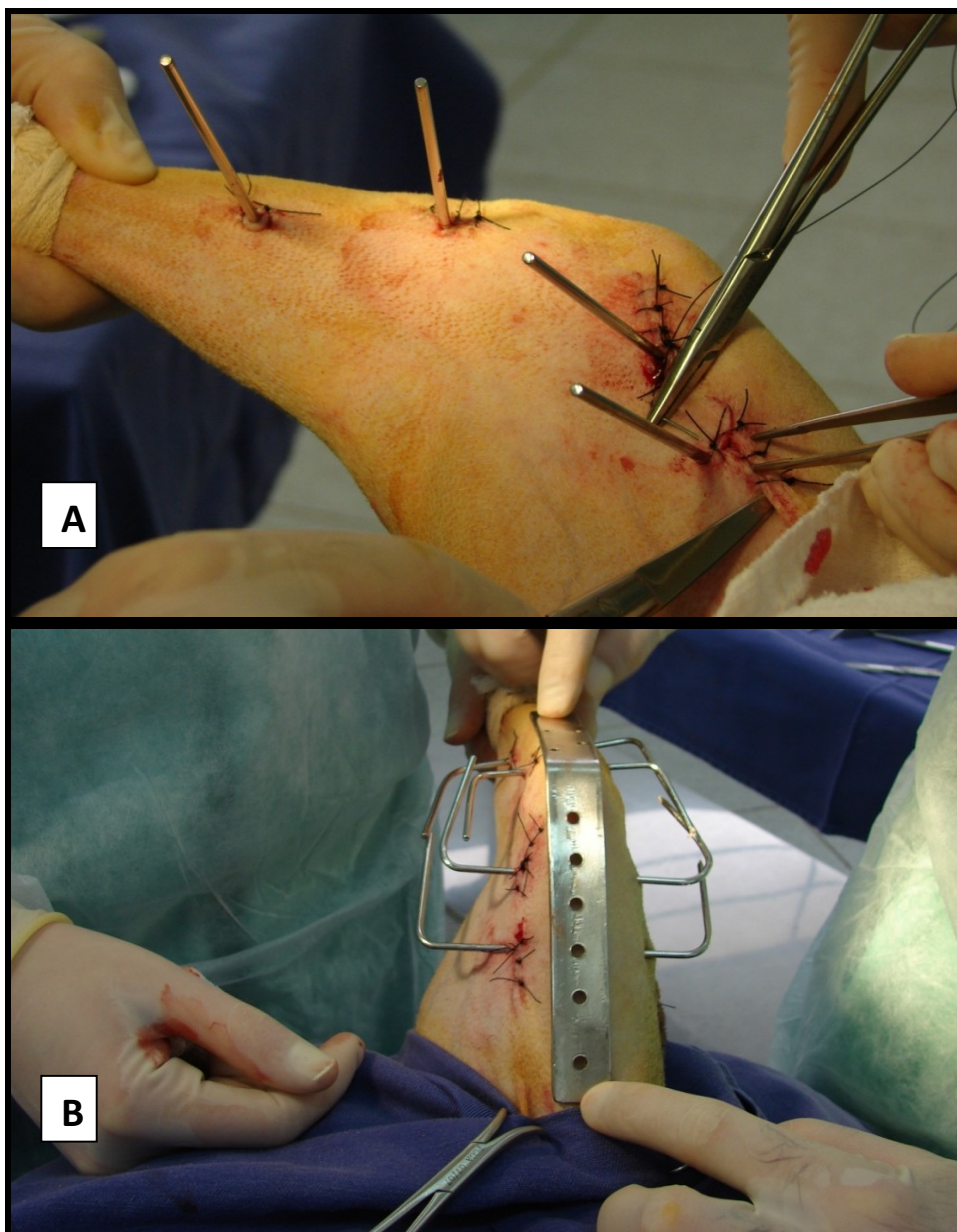


Figura 3. Imagem fotográfica do trans-operatório da confecção do aparelho de fixação externa temporária para imobilização do joelho. A. Sutura de pele com mononáilon na inserção de dois pinos de rosca central na tíbia e fêmur, respectivamente. B. Pinos dobrados e placa de metal angulada para posicionar a articulação fêmoro-tibio-patelar em 140°. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

3.6.1 Massagem

A massagem foi o primeiro recurso fisioterapêutico empregado em cada sessão. Foram realizados movimentos de deslizamento na face lateral externa da musculatura da tíbia e do fêmur, no sentido distal/proximal (Figura 4), em intensidade de pressão leve durante cinco minutos seguida por intensidade moderada por mais cinco minutos.



Figura 4. Imagem fotográfica da posição das mãos para massagem por deslizamento no sentido distal para proximal em cão após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. Universidade FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

3.6.2 Movimentação passiva das articulações

Após a massagem, foi realizada a movimentação passiva das articulações do membro pélvico direito, com dez repetições em cada uma delas. Os movimentos

realizados foram de flexão e extensão, exceto para articulação coxofemoral, que foi submetida a movimentos de flexão e extensão e adução e abdução.

3.6.3 Eletroterapia

Após a massagem e movimentação passiva, foram realizadas sessões de estimulação elétrica neuromuscular (EENM) nos animais dos grupos E e EH. A corrente aplicada foi do tipo russa em modo de estimulação recíproco nos seguintes parâmetros:

- **Intensidade:** suficiente para vencer uma carga adequada e de acordo com a tolerância do animal.
- Milisegundos **50%** - 10 “on”, 10 “off”
- “RISE” (rampa de subida do pulso) – 3 segundos
- “DECAY” (rampa de descida do pulso) - 5 segundos
- “ON TIME” (tempo ligado) - 10 segundos
- “OFF TIME” (tempo desligado) - 50 segundos
- **Duração:** 20 minutos para o grupo E e 10 minutos para o grupo EH

A intensidade foi aumentada no decorrer do período pós-operatório.

Os músculos estimulados foram o vasto lateral e o semitendinoso. Após tricotomia do membro pélvico direito e aplicação de gel condutor, com aproximadamente três milímetros de espessura, foram utilizados dois canais, com o posicionamento dos eletrodos sobre os pontos motores dos músculos. Os eletrodos, quando necessário, foram fixados à pele com esparadrapo (Figura 5).

3.6.4 Hidroterapia

Após massagem e movimentação passiva, e, para os cães do grupo EH a eletroterapia, foram realizadas sessões de hidroterapia nos animais dos grupos H e EH. Os cães foram submetidos à caminhada no interior de esteira aquática com água aquecida, imersos até a altura do trocanter maior do fêmur (Figura 6), durante 20 minutos para o grupo H e 10 minutos para o grupo EH. A velocidade foi ajustada de acordo com o condicionamento físico adquirido, aumentando-se gradativamente no decorrer das sessões até o máximo de 2,7Km/h.

Para os cães que demonstrassem medo, a profundidade da esteira era aumentada gradativamente para adaptação, desde a região do maléolo lateral da tibia até a altura do trocanter maior do fêmur.

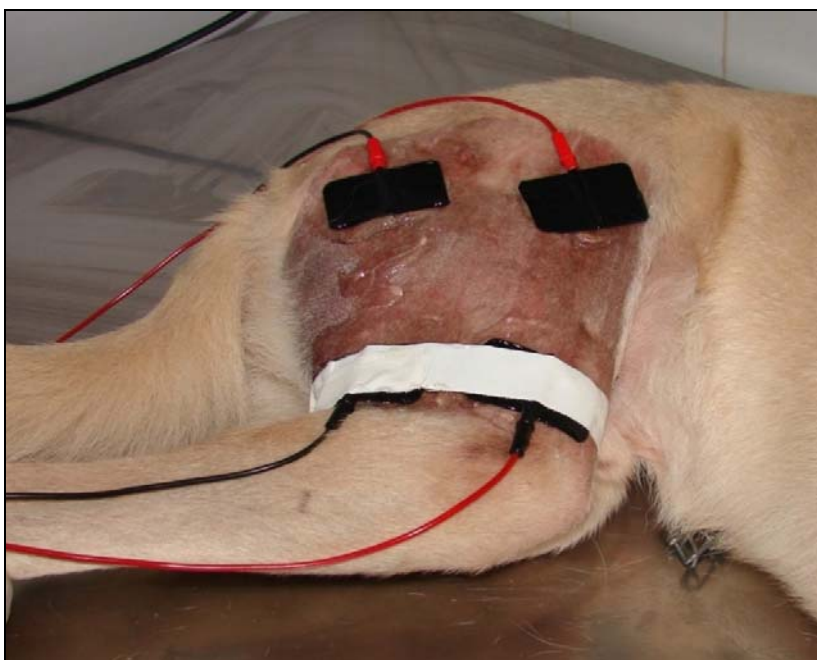


Figura 5. Imagem fotográfica do membro pélvico direito de cão após tricotomia com quatro eletrodos acoplados com gel condutor, dispostos de maneira bipolar e os distais fixados com esparadrapo para sessão de estimulação elétrica neuromuscular FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.



Figura 6. Imagem fotográfica de cão durante a sessão de hidroterapia em esteira aquática em cão após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. FCAV/ UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

3.7 Avaliações Clínicas

As avaliações foram realizadas pelo mesmo observador.

3.7.1 Graus de claudicação

A análise da marcha foi realizada avaliando-se os graus de claudicação em dias alternados. A recuperação do uso funcional do membro pélvico direito foi estimada clinicamente mediante cinco graus, estipulados por TUDURY & RAISER (1985) (Tabela 1). Esta avaliação iniciou-se no dia da remoção do fixador externo, pois durante o

período de imobilização os cães não apoiavam o membro ao solo, e teve seu término 15 dias após a recuperação funcional.

Tabela 1. Classificação dos graus de claudicação utilizados para avaliação clínica da marcha de cães submetidos ou não a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular com o uso de imobilização externa rígida do joelho durante 30 dias (adaptado de TUDURY & RAISER, 1985).

| GRAUS | DESCRIÇÃO |
|--------------|---|
| I | Não utilização ou apoio do membro; |
| II | Uso e apoio infrequente dos membros em posição quadrupedal e ao caminhar, deitando-se com frequência. Não há sustentação do peso no membro afetado, elevando-o ao correr; |
| III | Uso claudicante do membro em posição quadrupedal e ao caminhar. Sustentação parcial do peso, elevando o membro ao correr; |
| IV | Caminha sem claudicar e posiciona-se normal em posição quadrupedal. Claudica ao correr sem elevar o membro; |
| V | Uso funcional do membro |

Adaptado de TUDURY & RAISER (1985)

3.7.2 Amplitude articular

A mensuração da angulação da articulação fêmoro-tibio-patelar em flexão e extensão foi efetuada com um goniômetro universal, segundo os critérios de JAEGER et al. (2002). O centro do goniômetro foi mantido no centro do joelho, sendo uma das extremidades de sua régua posicionada sobre o fêmur, em direção ao trocânter maior e a outra sobre o centro da tibia (Figura 7). Em seguida, a articulação foi submetida à flexão e extensão. Este procedimento foi realizado antes do procedimento cirúrgico inicial e nos dias 30, 45, 60, 75, 90 e 105 de pós-operatório. Os valores de extensão subtraídos pelos de flexão resultaram na obtenção do arco do movimento.

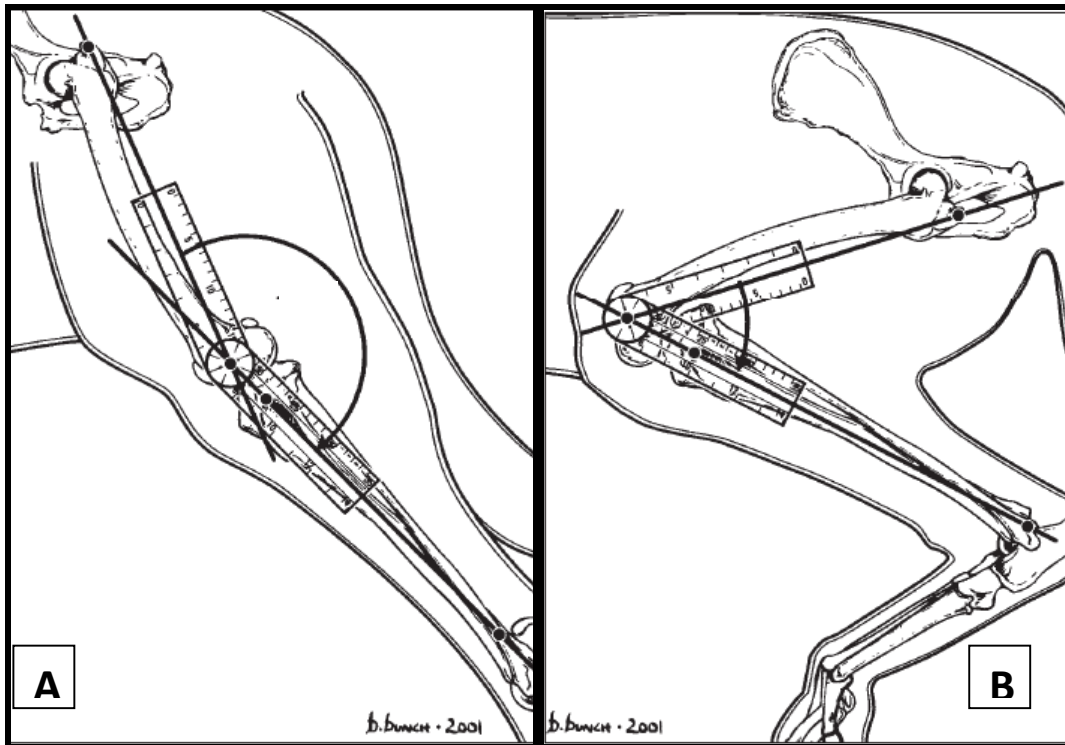


Figura 7. Representação esquemática da técnica de goniometria com o membro pélvico em extensão (A) e flexão (B) para aferição da amplitude articular do joelho de cães (adaptado de JAEGGER et al., 2002).

3.7.3 Circunferência da Coxa

A circunferência da coxa do membro pélvico direito foi medida com o auxílio de fita métrica graduada em centímetros. Para a mensuração foi padronizado o ponto médio entre o trocânter maior e o côndilo lateral do fêmur, pelo mesmo observador, procurando-se manter a mesma tensão sobre a fita métrica. Este procedimento foi realizado antes do procedimento cirúrgico e nos dias 30, 45, 60, 75, 90 e 105 de pós-operatório. Os resultados, em centímetros, foram convertidos em porcentagem, considerando-se a primeira avaliação como 100%, com o objetivo de minimizar a diferença de porte físico entre os cães, que poderia influenciar nos resultados.

3.8 Avaliação das concentrações séricas de Creatina-quinase (CK) e Lactato-desidrogenase (LDH)

Os níveis séricos das enzimas creatina-quinase (CK) e lactato-desidrogenase (LDH) foram processados no Laboratório de Patologia Clínica da UNESP – Câmpus de Jaboticabal, aos 38, 45, 68, 75, 90 e 105 dias de pós-operatório. Foram colhidos 5ml de sangue por venopunção, acondicionados em tubos para o processamento das amostras utilizando os kits específicos CK-NAC² Labtest e LDH³ Labtest seguindo instruções do laboratório de origem dos kits.

Foram instituídos três tempos para a colheita das amostras, sendo o primeiro (T0) antes da fisioterapia, trinta minutos após a sessão (T1) e a última delas (T2) quatro horas após a terapia física. Para os cães do grupo controle (C), a colheita de T1 e T2 foram realizadas após 30 minutos e 4 horas da primeira colheita (T0).

3.9 Avaliação Imunoistoquímica

Os fragmentos do músculo vasto lateral, obtidos através das biopsias, foram conservados em solução de formalina tamponada a 10% e posteriormente processados, emblocados em parafina e, com auxílio de micrótomo, foram realizados cortes que foram distendidos em lâminas histológicas.

A técnica de imunoistoquímica foi realizada no Laboratório de Imunoistoquímica do Serviço de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Câmpus de Botucatu.

As lâminas sofreram desparafinização em estufa a $57\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Após este período, foram transferidas para cubas verticais de plástico para concluir o processo de desparafinização, por imersão em dois banhos de xilol por 30 minutos cada, em temperatura ambiente. O processo de desidratação foi realizado com imersões em álcool absoluto (três vezes de três minutos), álcool 95° seguida por álcool

² CK NAC – LABTEST, Lagoa Santa, Minas Gerais.

³ LDH – LABTEST, Lagoa Santa, Minas Gerais.

85°, por três minutos cada. Após este processo foram realizados dez banhos em água destilada.

A etapa seguinte foi de recuperação antigênica, para a liberação dos epítomos antigênicos do tecido, bloqueados pela solução de formol. As lâminas foram imersas em solução de citrato (pH 6,0), composta por 1,92g de ácido cítrico PA em um litro de água destilada, e aquecidas por três vezes em forno de microondas em potência alta, durante 5 minutos cada. Entre cada tempo, as cubas eram verificadas com relação à evaporação da solução tampão e, se necessário, era acrescida solução de citrato. Após o resfriamento do material em temperatura ambiente foram realizadas dez lavagens em água destilada.

O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado com solução de água oxigenada PA e álcool metílico por 20 minutos, seguido por dez lavagens em água destilada e imersão em solução tampão de TRIS (Trizma base, Sigma, T1503) até a incubação.

As lâminas foram retiradas das cubas de plástico e depositadas em câmara úmida para incubação com o anticorpo monoclonal. Foram utilizados dois anticorpos, sendo o *anti-slow myosin* 1:4000 (clone NOQ7.5.4D Sigma Aldrich®) e *anti-fast myosin* 1:800 (clone MY-32 M4276 Sigma Aldrich®), em diluidor (DAKO S3022). A técnica utilizada foi a mesma para ambos anticorpos em lâminas separadas. O período de incubação foi de duas horas a 37° em câmara úmida.

Os cortes foram lavados novamente em TRIS e em seguida foi realizada a incubação com o anticorpo secundário conjugado com peroxidase de cabra anti IgG de camundongo (A4416 – Sigma Aldrich®) durante uma hora em temperatura ambiente.

Após lavagem com tampão fosfato, os complexos antígeno-anticorpo foram revelados por incubação com diaminobenzidina – DAB (DAKO K34466) por cinco minutos, segundo a recomendação do fabricante. Lavou-se o material em TRIS e água destilada, e realizou-se à contra-coloração de Hematoxilina de Mayer por dois minutos.

Após a lavagem em água corrente por 10 minutos e passagem em bateria de desidratação de três minutos com alcoóis 85%, 95% e absolutos, seguidas por três

passagens em xilol, procedeu-se a desidratação e montagem das lâminas com lamínulas.

3.10 Morfometria das Fibras Musculares Transversais Marcadas

Realizou-se a fotomicrografia das lâminas histológicas em microscópio óptico de luz Zeiss com câmara fotográfica Nikon acoplada, com a objetiva de 40 vezes. Através do programa Alpha Easer FC® (Figura 8), foi possível circular as fibras musculares transversais marcadas pela técnica de imunoistoquímica, e obter a área, em pixels. Os valores encontrados, em pixels, foram posteriormente convertidos em porcentagem, considerando-se os valores do dia zero como 100%, com o objetivo de minimizar a diferença de porte físico entre os cães. Foram mensuradas até 50 fibras por amostra examinada.

3.11 Análise Estatística

As análises estatísticas foram conduzidas a partir dos dados de todos os animais. Adotou-se um modelo linear de análise da variância com medidas repetidas no tempo (LITTEL et al., 2006). As comparações entre os valores médios, de cada uma das variáveis analisadas nos diferentes tratamentos em cada momento de leitura foram efetuadas por meio de contrastes de médias e testadas através do teste t de Student (STEEL et al., 1997). Todas as análises foram realizadas usando-se o procedimento MIXED (LITTEL et al., 2006) do software computacional estatístico SAS® (Statistical Analysis System). Para todos os testes efetuados foi considerado o nível mínimo de significância de 5%.

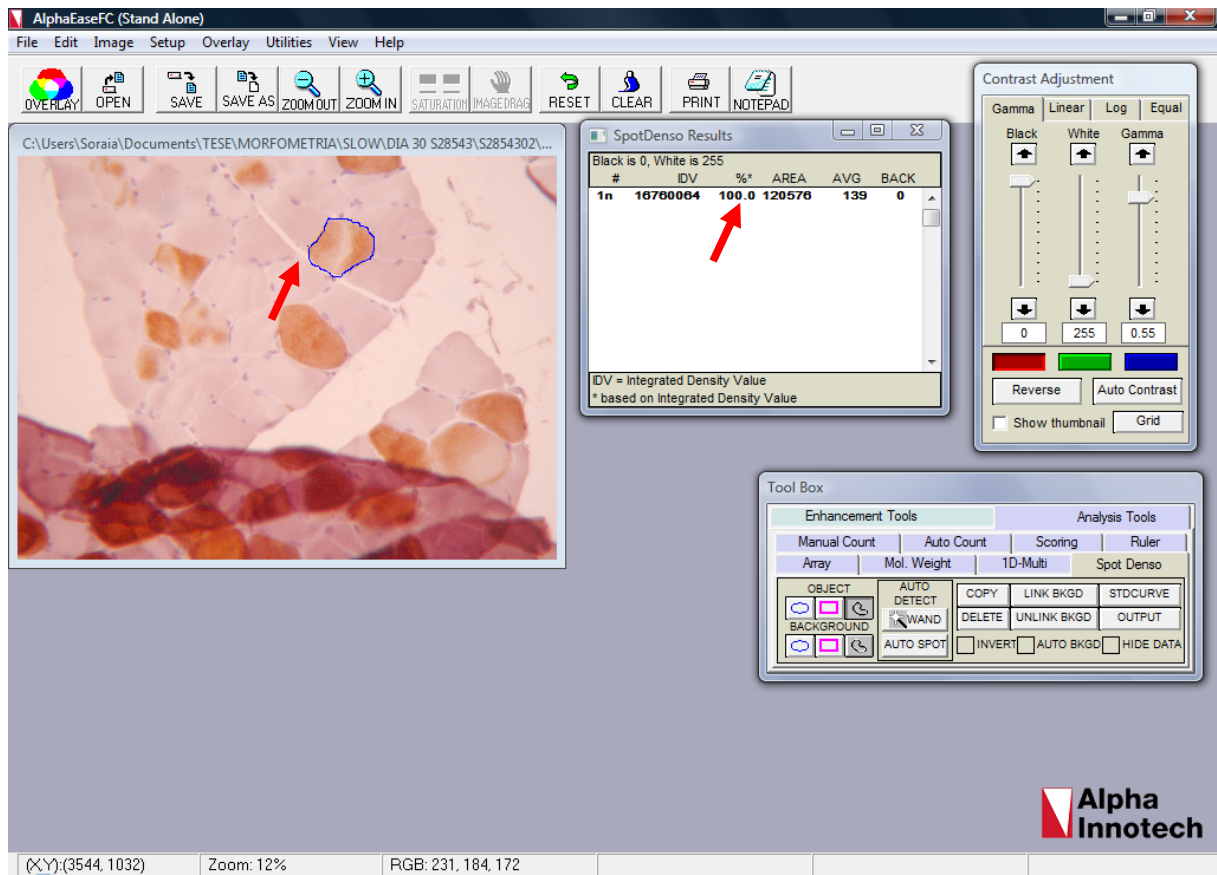


Figura 8. Imagem fotográfica capturada do programa Alpha Easer FC®, exibindo a morfometria da área transversal de fibra muscular (seta vermelha) marcadas pela técnica de imunohistoquímica em amostra do músculo vasto lateral de cão com atrofia muscular induzida. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resposta à fixação externa temporária do joelho e biopsias do músculo vasto lateral

A utilização do aparelho de fixação externa, além da fácil confecção, mostrou-se eficaz para a indução da atrofia muscular em cães, o que também foi observado por LIEBER et al. (1989); SOUZA et al. (2007); PELIZZARI et al. (2008a) e PELIZZARI et al. (2008b).

Houve fratura de fêmur em um dos cães do Grupo M, 26 dias após a fixação do joelho, sendo o mesmo retirado da pesquisa. Outra complicação encontrada, para o mesmo grupo, foi durante o processo de parafinização das amostras obtidas por biopsia muscular, inviabilizando a utilização de três amostras pertencentes à avaliação dos 60 dias de pós-operatório. Por estes motivos, o Grupo M foi excluído dos resultados deste trabalho.

Considerando que a secreção no local de inserção dos pinos é a complicação mais comum relacionada aos fixadores externos, pelo excesso de mobilidade e/ou tensão dos tecidos moles circunjacentes (REZENDE et al., 2006), neste estudo observou-se que apenas um dos cães (6,25%) do grupo H, apresentou secreção purulenta ao vigésimo segundo dia de pós-operatório. Esse percentual foi similar àquele de 8% observado por SALBEGO (2006), em que houve troca diária das bandagens, diferindo, no entanto, daquele obtido por REZENDE et al. (2006) em que 38% dos cães apresentaram secreção após a transfixação percutânea de rádio e ulna ou tíbia e fíbula, com tempo médio de 8,1 dias entre a troca dos curativos. A diferença entre resultados obtidos mostrou que os cuidados diários de higienização dos pinos e suas inserções na pele foram fatores importantes para a prevenção de infecção na maioria dos cães. Neste estudo, o único animal (grupo H) que apresentou secreção purulenta foi tratado com ampicilina benzatínica (20mg/kg), uma vez ao dia, durante sete dias, com resolução dos sinais clínicos.

Entre os cães do grupo C, ainda que com a utilização do colar Elizabetano, um animal apresentou sangramento na inserção dos pinos devido ao auto-traumatismo, evidenciando que este deve ser incluído entre as complicações decorrentes do uso de fixador externo mencionadas por REZENDE et al. (2006).

A obtenção de amostras do músculo vasto lateral mediante biopsia incisional não determinou complicações, permitindo recomendá-la na obtenção de espécimes para posterior avaliação imunoistoquímica. Embora a colheita de amostras musculares possa ser realizada com agulhas para biopsia, tornando o procedimento pouco invasivo (PADILHA et al, 2008) em equinos (RIVERO & HENCKEL, 1996; D'ANGELIS, 2004; PADILHA et al., 2008) e humanos (REYNOLDS et al., 1995), nos cães esse procedimento traz mais riscos de trauma, hemorragia e lesão a nervos (REYNOLDS et al., 1995). Além disso, as amostras obtidas podem ser de tamanho insuficiente para o processamento adequado (SOUZA et al., 2007).

4.2 Sessões de fisioterapia

Ainda que o ideal seja iniciar a reabilitação antes dos procedimentos cirúrgicos ortopédicos (CLARK & McLAUGHLIN, 2001), a observação de que na rotina dos centros de reabilitação a maioria dos pacientes encaminhados já apresenta atrofia muscular e redução da amplitude articular, direcionou neste estudo o início da terapia ao 38º dia de pós-operatório, período em que já se estabeleceu a limitação física, permitindo a avaliação mais próxima à realidade.

As diferentes modalidades terapêuticas físicas estão bem documentadas na literatura, sendo amplamente indicadas para pacientes com lesões ortopédicas ou distúrbios neurológicos (CANAPP, 2007; CANAPP JR, 2007). Neste estudo, a escolha da massagem teve por objetivo o aquecimento superficial e diminuição dos espasmos musculares, o que foi mostrado nos trabalhos desenvolvidos por GOATS (1994a); GOATS (1994b); BARLOW et al. (2004); DOYLE (2004); SUTTON (2004); WEERAPONG et al. (2005); BAUER & MIKAIL (2006) e MARCHETTI & GONÇALVES (2006). Os exercícios de movimentação passiva foram aplicados para reduzir a rigidez articular decorrente da imobilização, conforme indicado por CLARK & McLAUGHLIN

(2001), DAVIDSON et al. (2004) DOYLE (2004), MILLIS et al. (2004), BELCHIOR et al. (2008) e MOORES & SUTTON (2009). Para a reversão da atrofia muscular optou-se pela aplicação de eletroterapia, considerando os resultados obtidos por SNYDER-MACKLER et al. (1994); JOHNSON et al. (1997); BRASILEIRO et al. (2002); WARD & SHKURATOVA (2002); JOHNSON & LEVINE (2004); STEVENS et al. (2004); MIKAIL (2006) e MATHEUS et al. (2007) e hidroterapia recomendada por MILLIS (2004b) e MOORES & SUTTON (2009).

A reabilitação física em cães é diferente de humanos. A sessão precisa ser efetiva, prazerosa e segura para os cães e veterinários. Em casos de agitação ou agressividade pode ser indicado o término da sessão ou adaptação do protocolo terapêutico (ESTEP, 2004). Neste trabalho, alguns animais mostraram-se impacientes nas sessões de fisioterapia, contudo, para fins de padronização, a sessão não foi interrompida. Durante a massagem e movimentação passiva a contenção física em decúbito lateral, quando necessária, foi realizada por um auxiliar. Em nenhum dos cães houve manifestação de dor. No decorrer dos 105 dias de pós-operatório foi possível perceber o condicionamento dos animais às sessões, o que demonstrou a adaptação dos mesmos se manipulados de forma adequada.

Optou-se pelo início das sessões no dia 38 de pós-operatório e a interrupção dos dias 60 a 68 para que houvesse cicatrização da ferida cirúrgica, já que os exercícios em água são contra-indicados para pacientes que apresentam feridas em cicatrização (LEVINE et al., 2004).

4.3 Graus de claudicação e avaliação da marcha

A análise da marcha em animais de companhia sob fisioterapia inclui a avaliação das características do paciente em estação, caminhando e correndo. Existem muitas formas disponíveis para a realização da avaliação da marcha (HESBACH, 2007). Neste estudo, o uso funcional do membro pélvico foi determinado segundo os parâmetros adaptados de TUDURY & RAISER (1985) (Tabela 1). Nenhum dos cães apoiou o membro pélvico direto durante o período de imobilização. A avaliação iniciou após a

remoção do aparelho de fixação externa, a partir 30 dias de pós-operatório. O tempo de permanência, em dias, de cada grau de claudicação está exposto na Figura 9.

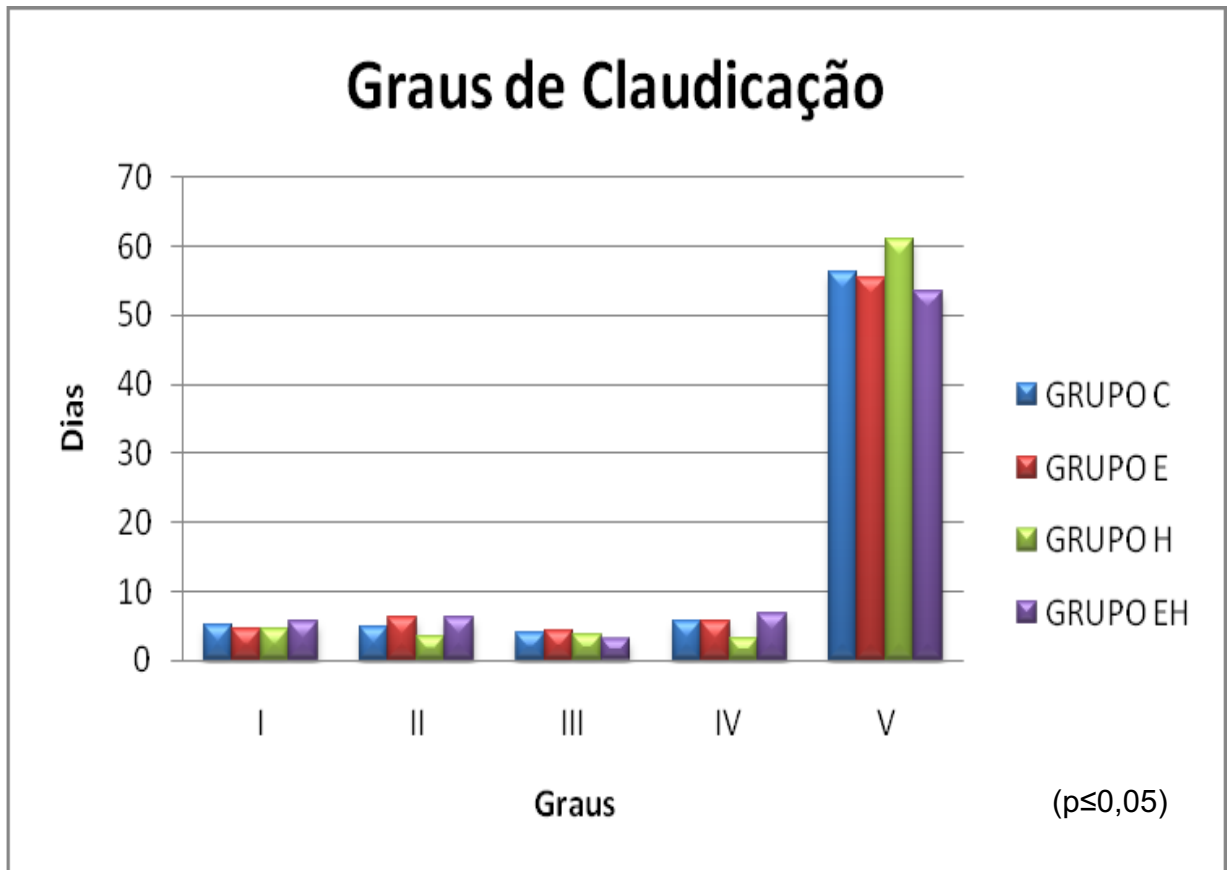


Figura 9. Representação gráfica do tempo médio de permanência, em dias, dos diferentes graus de claudicação, em cães submetidos ou não a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a imobilização externa rígida temporária do joelho. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

O rápido retorno ao uso funcional da extremidade é a meta do cirurgião ortopedista (TUDURY & RAISER, 1985) e do fisioterapeuta veterinário (DAVIDSON et al., 2008). Dois cães do grupo H apoiaram o membro ao solo no trigésimo oitavo dia de pós-operatório, durante a primeira sessão de fisioterapia, na caminhada em esteira

aquática. Provavelmente o fato de dois cães não apoiarem o membro ao solo se deve a fatores individuais e comportamentais, mostrando que a caminhada em hidroesteira pode ser benéfica para pacientes completamente restabelecidos de lesões ortopédicas e que exibem reflexo de proteção, não apoiando o membro ao solo. Também neste grupo houve diferença ($p \leq 0,05$) para o tempo de permanência no grau V, durante os 105 dias de observação, tendo os cães do grupo H apresentado recuperação funcional do membro pélvico mais precocemente que os demais grupos. O erro padrão para esta avaliação foi de 1,4128. Este resultado corrobora com MILLIS (2004b), ao afirmar que a caminhada em esteira aquática é um método utilizado para encorajar o uso do membro afetado. Fatores como a densidade (MARSOLAIS et al., 2002; LEVINE et al., 2004; RIVIÈRE, 2007; CARREGARO & TOLEDO, 2008), pressão hidrostática (CARREGARO & TOLEDO, 2008); viscosidade (ORSINI et al., 2008) e transferência de calor (CARREGARO & TOLEDO, 2008) são responsáveis por este benefício.

A marcha foi avaliada pelo mesmo método de SOUZA et al. (2007) e PELIZZARI et al. (2008a), que induziram a atrofia muscular em cães saudáveis e realizaram, como protocolo fisioterapêutico, apenas a estimulação elétrica neuromuscular. Os autores não observaram diferença entre os grupos submetidos ou não à eletroterapia. Com base nos resultados obtidos no presente estudo salienta-se a importante colaboração da caminhada em esteira aquática para restabelecimento clínico da marcha em cães com a musculatura pélvica atrofiada e uso claudicante do membro.

As técnicas de fixação externa e colocação de pinos intramedulares, para redução de fraturas de tíbia em cães saudáveis foram comparadas estimando-se clinicamente a recuperação funcional pelos graus de claudicação, conforme classificação de TUDURY & RAISER (1985). SANTOS JÚNIOR & SCHOSSLER (2002) observaram que nos cães com fixador externo a recuperação foi mais lenta quando comparada aos que receberam pinos intramedulares. Essa observação ressalta a importância da fisioterapia para os animais onde exista a necessidade de imobilização articular.

4.4 Amplitude articular e Arco do Movimento

Em flexão, houve diferença ($p \leq 0,05$) entre os grupos nos dias zero, 30 e 45 de pós-operatório. O erro padrão para estes dados variou entre 0,8539 e 3,7493. Houve diferença entre os grupos nos dias 30 e 45 dias de pós-operatório para os valores de extensão. O erro padrão foi de 3,1573 para extensão em todos os tempos avaliados. As médias dos valores de flexão e extensão nos grupos, em graus, encontradas nos diferentes tempos de pós-operatório estão representadas na Figura 10.

O arco do movimento foi diferente ($p \leq 0,05$) apenas aos 30 dias de pós-operatório, onde foi possível observar que os cães do grupo E apresentaram maior contratura articular quando comparados aos demais. Esta diferença não foi observada nos outros tempos de avaliação, o que mostra que o início das sessões de fisioterapia foi benéfico para reduzir a contratura articular nestes cães.

Na avaliação realizada no dia zero houve diferença ($p \leq 0,05$) entre os cães dos grupos E e H que apresentaram, em média, ângulo de flexão do joelho de 29° e 32° , respectivamente. Quanto à contratura articular em flexão e extensão resultantes da imobilização do joelho após a remoção do fixador externo (dia 30), houve diferença ($p \leq 0,05$) para flexão entre os cães do grupo E, com média de $57,25^\circ$ e grupo EH com $44,5^\circ$; e a contratura articular em extensão foi maior para os animais do grupo E. Estas diferenças podem ser consideradas como variação individual, já que as sessões de fisioterapia iniciaram apenas no dia 38º dia de pós-operatório.

Aos 30 dias de pós operatório foi possível perceber a presença de contratura articular. O fixador externo como método para imobilização temporária da articulação tibio-tarsal foi empregado por ALIEVI et al. (2004), sendo verificado que o mesmo provoca perda significativa na flexão e extensão após sua remoção. A contratura articular também esteve presente em um estudo realizado por SALBEGO (2006) que imobilizou o joelho de cães durante trinta dias após cirurgia corretiva de ruptura do ligamento cruzado em cães, verificando que em 8% dos cães não recuperaram a amplitude articular, mesmo sob fisioterapia.

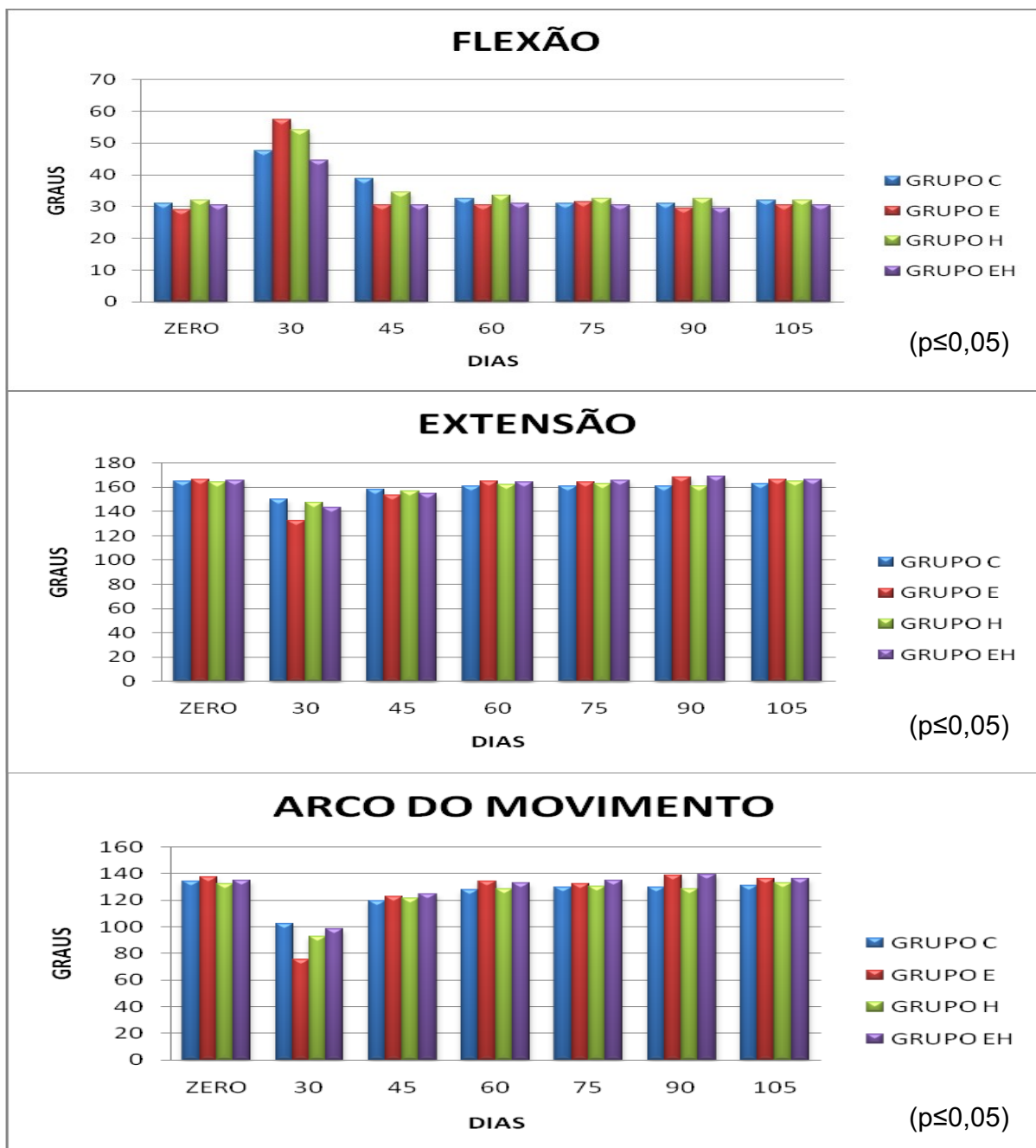


Figura 10. Representação gráfica dos valores médios de flexão, extensão e arco de movimento da articulação fêmoro-tibio-patelar direita, nos diferentes tempos de observação em cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

Aos 45 dias de pós-operatório houve diferença ($p \leq 0,05$) nos graus de flexão entre os cães dos grupos E e EH quando comparados com o grupo C, com valores médios de $30,5^\circ$ para os grupos E e EH e $38,75^\circ$ nos cães do grupo controle. Estes valores mostram que houve melhor recuperação dos cães tratados em relação ao grupo controle, a partir da terceira sessões de fisioterapia, uma vez que os cães não tratados apresentaram maior contratura articular quando comparados aos demais. Após a realização de eletroterapia em joelhos imobilizados de cães, PELIZZARI et al. (2008a e b) não encontraram diferença entre os grupos testados. É possível que esta diferença encontrada se deva a associação da eletroterapia ou eletroterapia e hidroterapia com a movimentação passiva, que tem por função diminuir o bloqueio articular.

A imobilização articular foi empregada por SOUZA et al. (2006) após a artroplastia do joelho em cães, seguida de protocolo fisioterapêutico, constituído de massagem, alongamento e caminhada em solo. Não foi observada diferença para os valores de flexão nos diferentes tempos de avaliação, embora os valores de extensão tenham diferido. Mesmo após os 30 minutos de alongamento, SOUZA et al. (2006) não verificaram redução da rigidez articular em flexão. Os resultados deste trabalho permitem recomendar a associação da eletroterapia e hidroterapia para casos semelhantes.

MONK et al. (2006) encontraram diferenças nos valores de flexão e extensão em cães submetidos a caminhada em esteira aquática, crioterapia, movimentação passiva, massagem e exercícios terapêuticos, porém com o tratamento iniciado logo após o procedimento cirúrgico e ressaltam que não é possível determinar qual dos agentes terapêuticos pode ter maior contribuição para estes resultados. Para estes autores, a fisioterapia deve ser iniciada o mais precocemente possível para a obtenção de melhores resultados, porém, a imobilização articular afeta de forma negativa principalmente a cartilagem articular, músculos, ligamentos, tendões e ossos (MILLIS, 2004a). O fato da permanência do fixador externo nos primeiro trinta dias de pós-operatório impossibilitou o início precoce da terapia.

A avaliação da amplitude articular é de grande importância para o acompanhamento da recuperação de pacientes submetidos a tratamentos fisioterapêuticos após cirurgias ortopédicas. A maioria dos autores recomenda a utilização da fisioterapia, embora os resultados encontrados nas diferentes publicações não sejam unânimes quanto à eficácia em acelerar a recuperação da amplitude de movimento articular. Apesar de alguns autores não encontrarem diferença entre grupos tratados ou não, não há relatos de que a fisioterapia cause diminuição na amplitude articular, devendo ser recomendada para pacientes com distúrbios ortopédicos ou neurológicos.

4.5 Circunferência da coxa

Um dos métodos de avaliação da massa muscular do membro imobilizado foi a aferição da circunferência da coxa direita nos dias zero, 30, 45, 60, 75, 90 e 105 (Tabela 2).

Após a conversão dos valores obtidos em centímetros para percentual de circunferência, considerando-se a primeira avaliação como 100%, foi possível observar diferença ($p \leq 0,05$) entre os grupos para as avaliações realizadas nos dias 90 e 105 de pós operatório. Os cães do grupo E e EH apresentaram maiores valores de circunferência de coxa, quando comparados aos demais.

O comportamento médio destes valores para cada grupo, nos diferentes tempos de observação pode ser verificado na Figura 11.

Tabela 2. Valores da mensuração da circunferência da coxa direita de cada cão, em centímetros e percentual, nos diferentes grupos, durante o período de observação em cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias.

| CÃO/GRUPO | DIA ZERO | | DIA 30 | | DIA 45 | | DIA 60 | | DIA 75 | | DIA 90 | | DIA 105 | |
|-------------|----------|-----|--------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|
| | cm | % | cm | % | cm | % | cm | % | cm | % | cm | % | cm | % |
| 01 – C* | 27,0 | 100 | 22,5 | 83,33 | 23,0 | 85,18 | 24,0 | 88,89 | 25,0 | 92,60 | 26,5 | 98,15 | 28,0 | 103,70 |
| 02 – C* | 31,0 | 100 | 26,5 | 85,48 | 27,5 | 88,71 | 28,0 | 90,32 | 28,0 | 90,32 | 28,5 | 91,35 | 28,5 | 91,35 |
| 03 – C* | 30,5 | 100 | 27,5 | 90,16 | 28,5 | 93,44 | 29,5 | 96,72 | 29,5 | 96,72 | 29,5 | 96,72 | 29,0 | 95,08 |
| 04 – C* | 29,0 | 100 | 24,0 | 82,76 | 25,0 | 86,21 | 25,0 | 86,21 | 25,0 | 86,21 | 24,5 | 84,48 | 24,5 | 84,48 |
| 05 – E** | 31,5 | 100 | 23,0 | 73,02 | 26,0 | 82,54 | 29,5 | 93,65 | 30,5 | 96,82 | 31,0 | 98,41 | 31,0 | 98,41 |
| 06 – E** | 26,0 | 100 | 21,0 | 80,77 | 22,8 | 87,69 | 25,0 | 96,15 | 25,0 | 96,15 | 26,5 | 101,92 | 27,0 | 103,85 |
| 07 – E** | 24,0 | 100 | 20,0 | 83,33 | 23,0 | 95,83 | 23,0 | 95,83 | 23,5 | 97,92 | 25,0 | 104,17 | 26,5 | 110,42 |
| 08 – E** | 25,5 | 100 | 20,0 | 78,43 | 22,0 | 86,27 | 24,5 | 96,08 | 24,0 | 94,12 | 25,0 | 98,04 | 25,0 | 98,04 |
| 09 – H*** | 39,0 | 100 | 32,0 | 82,05 | 34,0 | 87,18 | 34,0 | 87,18 | 35,0 | 89,74 | 37,0 | 94,87 | 38,0 | 97,44 |
| 10 – H*** | 35,0 | 100 | 30,0 | 85,71 | 30,0 | 85,71 | 32,0 | 91,43 | 32,5 | 92,86 | 33,0 | 94,29 | 34,0 | 97,14 |
| 11 – H*** | 35,0 | 100 | 27,0 | 77,14 | 28,5 | 81,43 | 29,5 | 84,29 | 31,0 | 88,57 | 31,0 | 88,57 | 33,0 | 94,29 |
| 12 – H*** | 27,0 | 100 | 23,0 | 85,18 | 25,5 | 94,44 | 26,0 | 96,29 | 26,5 | 98,15 | 27,0 | 100 | 28,0 | 103,70 |
| 13 – EH**** | 31,5 | 100 | 27,0 | 85,71 | 28,0 | 88,89 | 32,0 | 101,59 | 31,0 | 98,41 | 31,0 | 98,41 | 32,5 | 103,17 |
| 14 – EH**** | 28,0 | 100 | 25,0 | 89,29 | 27,0 | 96,43 | 27,0 | 96,43 | 28,5 | 101,78 | 30,0 | 107,14 | 30,0 | 107,14 |
| 15 – EH**** | 26,5 | 100 | 19,5 | 73,59 | 21,0 | 79,24 | 21,5 | 81,13 | 23,0 | 86,79 | 24,5 | 92,45 | 25,0 | 94,34 |
| 16 – EH**** | 26,0 | 100 | 23,5 | 90,38 | 24,5 | 94,23 | 26,0 | 100 | 27,0 | 103,85 | 28,0 | 107,69 | 29,5 | 113,46 |

*C ou controle, **E ou eletroterapia, ***H ou hidroterapia, ****EH ou eletroterapia+hidroterapia

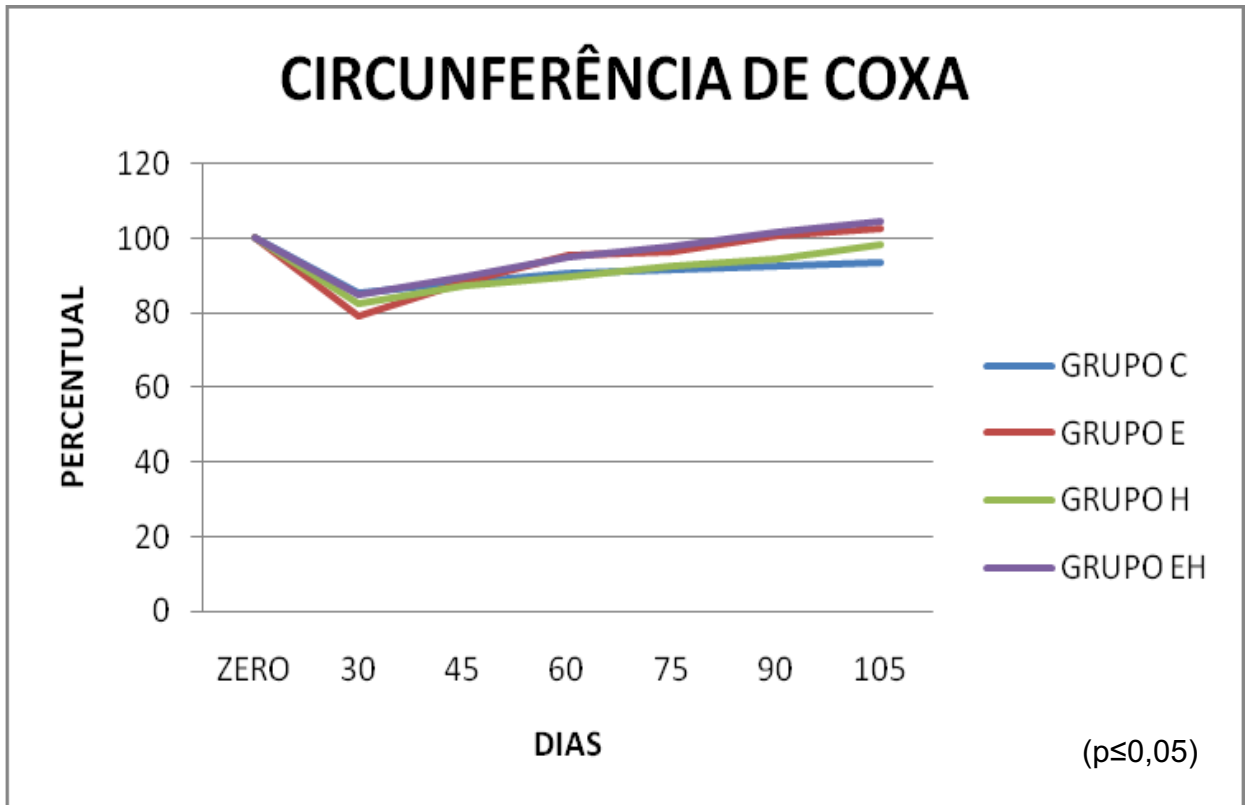


Figura 11. Representação gráfica do comportamento da perimetria da coxa direita, em percentual médio nos grupos, em diferentes tempos observação em cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

Os valores de circunferência mostram que houve aumento da circunferência de coxa ao final dos 105 dias de pós-operatório, quando comparados aos valores aferidos antes da imobilização do joelho, nos cães submetidos à estimulação elétrica durante 10 e 20 minutos (grupos E e EH). Estes resultados são semelhantes aos encontrados por JOHNSON et al. (1997) que realizaram estimulação elétrica neuromuscular em cães após ruptura do ligamento cruzado cranial induzida experimentalmente. Os autores observaram diminuição da claudicação, menor lesão na cartilagem articular e aumento na circunferência de coxa nos cães tratados.

SOUZA et al. (2007) não encontraram diferença significativa nos valores de circunferência de coxa nos cães, porém houve hipertrofia do músculo vasto lateral após indução da atrofia muscular e reabilitação com estimulação elétrica funcional confirmada pela morfometria das fibras musculares longitudinais.

4.6 Avaliação das concentrações séricas de Creatina-quinase (CK) e Lactato desidrogenase (LDH)

O valor sérico de CK e LDH médio nos diferentes grupos e em diferentes tempos está ilustrado na Figura 12. O nível de significância ($p \leq 0,05$) foi o mesmo em todas as avaliações.

Houve hemólise em diferentes graus de algumas amostras colhidas em todos os tempos. Quando presente, ela resultou em elevados níveis de CK e LDH, assim como citado por COMIS (2006). Para que este fator não comprometesse a avaliação, os resultados das amostras processadas e identificadas com hemólise pelo laboratório clínico foram retirados da análise estatística.

Os níveis séricos normais de CK encontrados na literatura são divergentes, concordando com as informações de LOPES et al. (2005). DUNCAN et al. (1994) estabeleceram valores entre 52 e 368 U/L como normais, enquanto KANECO et al. (1997) estabelecem variação entre 1,15 a 28,4U/L. Estas variações podem estar relacionadas ao tempo de armazenamento e processamento das amostras após a colheita e sua submissão ou não ao congelamento. Para padronização optou-se por realizar a avaliação sérica de CK e LDH no mesmo dia da colheita.

A atividade da LDH é maior nos músculos de rápida contração que nos músculos de contração lenta pelo maior uso de energia para contração muscular. Embora seja muito utilizada para avaliação clínica, a LDH não é órgão específica, podendo estar aumentada em situações como distúrbios nutricionais e hepatopatias (KANEKO et al., 1997). Os valores de referência citados por KANEKO et al. (1997) são compreendidos entre 45-233U/L.

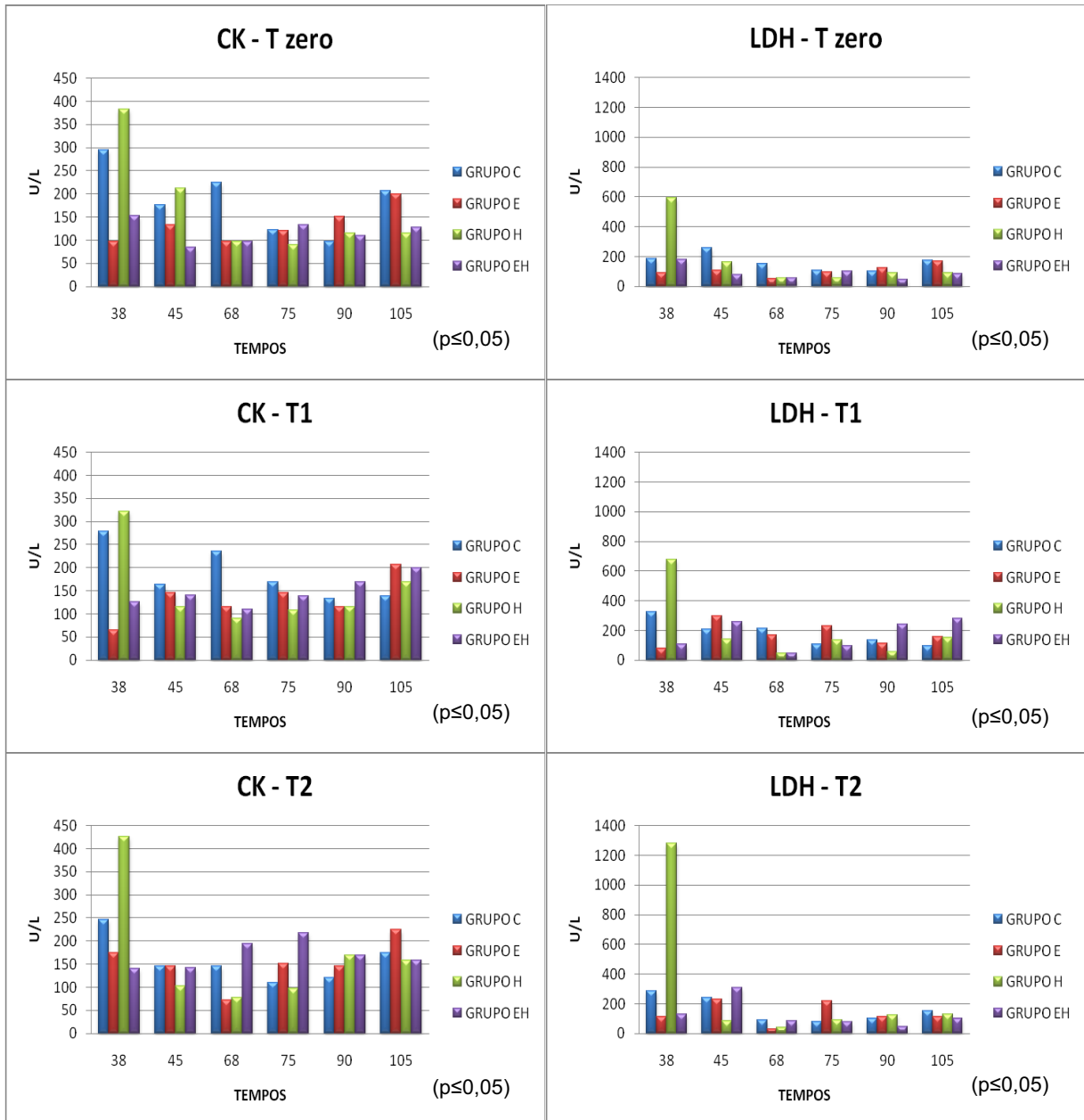


Figura 12. Representação gráfica dos valores séricos médios de creatina-quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) em U/L, por grupo, nos três intervalos de colheita (T0, T1, T2), em diferentes tempos observação, de cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

As atividades de CK e LDH em equinos foram estudadas por CÂMARA E SILVA et al. (2007), que concluíram que o tipo de atividade (tração, reprodução ou esporte) pode determinar diferentes valores. Com relação aos cães, o comportamento extremamente agitado do cão 01 (grupo controle) pode ter determinado a elevação dos valores de CK e LDH em alguns momentos.

Para o tempo zero de CK e LDH, houve diferença ao 38º dia de pós-operatório, sendo o valor sérico médio foi superior para os cães do grupo H, em relação a E e EH. O erro padrão para esta avaliação foi de 53,0277. Com relação aos valores séricos de LDH para este mesmo tempo, o erro padrão calculado foi de 67,9715. Antes da primeira sessão de fisioterapia, os valores de CK e LDH foram inferiores nos cães do grupo E.

Estas diferenças não podem ser consideradas como fadiga muscular ocasionada pela sessão de fisioterapia, já que estão relacionadas à colheita realizada imediatamente antes da sessão. Outros fatores que podem causar alteração nos resultados de exames laboratoriais são a idade, espécie, estresse, hidratação, dieta, estado reprodutivo, estase venosa, medicamentos, método de colheita e manipulação da amostra, além de variações biológicas normais (COMIS 2006) e tempo prolongado até a remoção do soro (LOPES et al., 2005).

Os grupos diferiram para CK e LDH em T1, com erro padrão de 44,068 e 178,85, respectivamente. No dia 38, os valores séricos de CK para os grupos C e H foram superiores aos de E e EH, e no dia 68 os valores de CK do grupo C foram maiores que em H e EH. Com relação a LDH, houve diferença entre os grupos no dia 38, sendo que os cães do grupo H obtiveram maiores níveis séricos de LDH.

Estes resultados podem sugerir a presença de fadiga muscular após 30 minutos da realização da primeira sessão de fisioterapia, embora os cães não tenham demonstrado sinais de desconforto na sessão seguinte. Nas demais avaliações é possível perceber que os valores individuais de CK e LDH foram, na maior parte do tempo, inferiores aos obtidos no dia 38º dia.

Após submeter cães da raça Beagle, sedentários e treinados, a 60 minutos de corrida em esteira terrestre, CHANOIT et al. (2002) realizaram a colheita de sangue para avaliação de CK e LDH, verificando não haver variação em LDH e aumento leve

de CK imediatamente após o exercício, não sendo considerado relevante para o diagnóstico de fadiga muscular. Apesar dos cães terem realizado caminhadas em esteira aquática durante 20 minutos, os exercícios aquáticos podem ser mais extenuantes, pois a viscosidade da água resulta em resistência ao movimento e auxilia no fortalecimento muscular e condicionamento físico (MILLIS, 2004b).

O erro padrão de CK em T2 foi 5,5052 e LDH de 178,85. Houve diferença entre os grupos após a primeira sessão de fisioterapia, tendo o grupo H apresentado valores séricos de CK e LDH superiores.

Mesmo com todos os fatores que podem afetar os valores de CK e LDH é possível perceber que o grupo H apresentou valores superiores ao demais, aos 38 dias, sugerindo-se portanto o início gradual das sessões para os cães, o que não foi realizado por motivo de padronização dos grupos.

4.7 Morfometria das fibras musculares marcadas pela reação de imunoistoquímica

Optou-se pela utilização de um anticorpo para imunoistoquímica das fibras musculares para marcação da miosina de contração lenta ou "*Slow myosin*" (Figura 13) e um anticorpo para miosina de contração rápida ou "*Fast myosin*" (Figura 14). A técnica de imunoistoquímica foi de fácil padronização para ambos os anticorpos avaliados. Em uma das amostras (cão 04, dia 30) não houve marcação, pelo anticorpo "*Slow myosin*" e para o cão 15, aos 105 dias de pós-operatório não houve marcação para "*Fast myosin*", mesmo após duas repetições da técnica, não sendo possível realizar a aferição da área transversal das fibras do músculo vasto lateral.

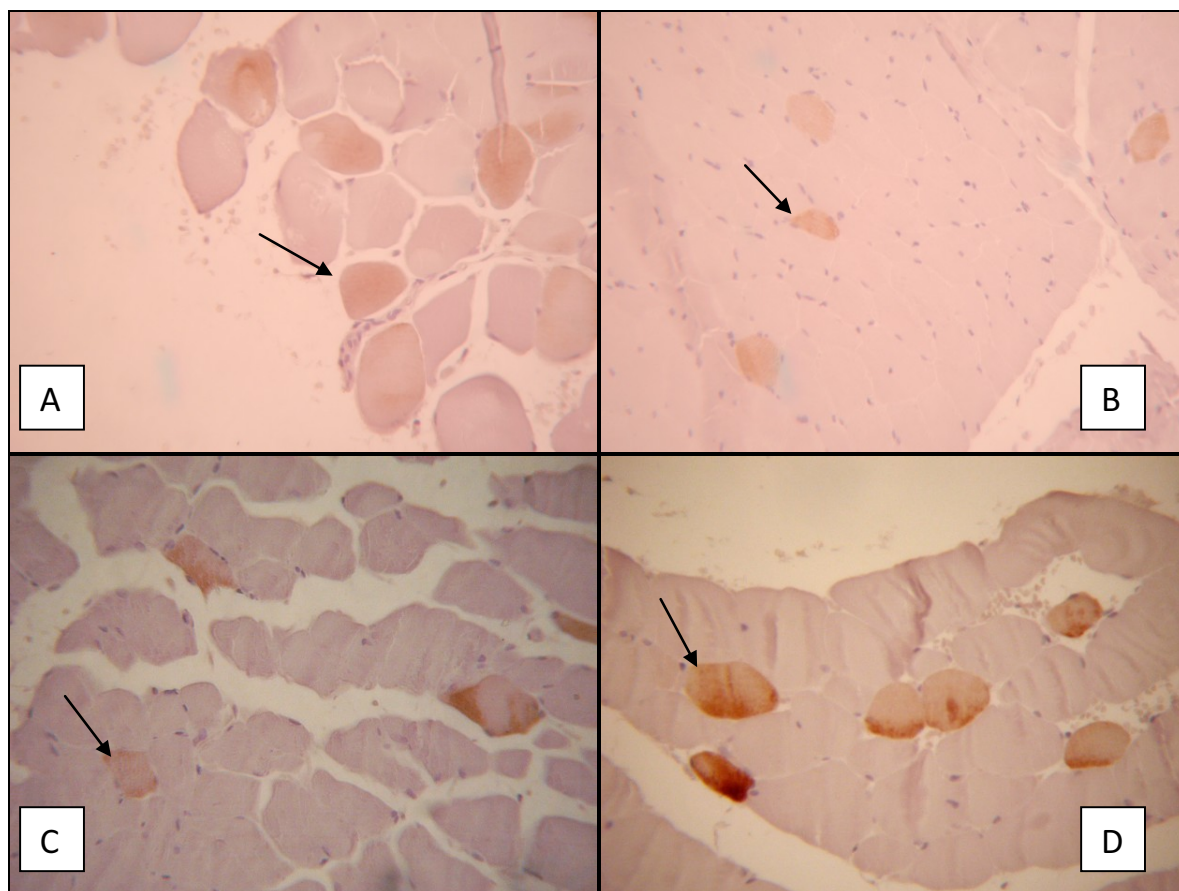


Figura 13. Fotomicrografia com objetiva 10X e aumento de 40X do aspecto da fibra muscular marcada pela técnica de imunohistoquímica (setas) com a utilização do anticorpo primário “*slow myosin*” e anticorpo secundário conjugado com peroxidase de cabra anti IgG de camundongo revelados por incubação com diaminobenzidina – DAB, cão 11, pertencente ao grupo H, submetido a massagem, movimentação passiva e caminhada em esteira aquática antes (A) da imobilização do joelho, 30 (B), 60 (C) e 105 (D) dias após a imobilização do joelho para indução de atrofia muscular. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

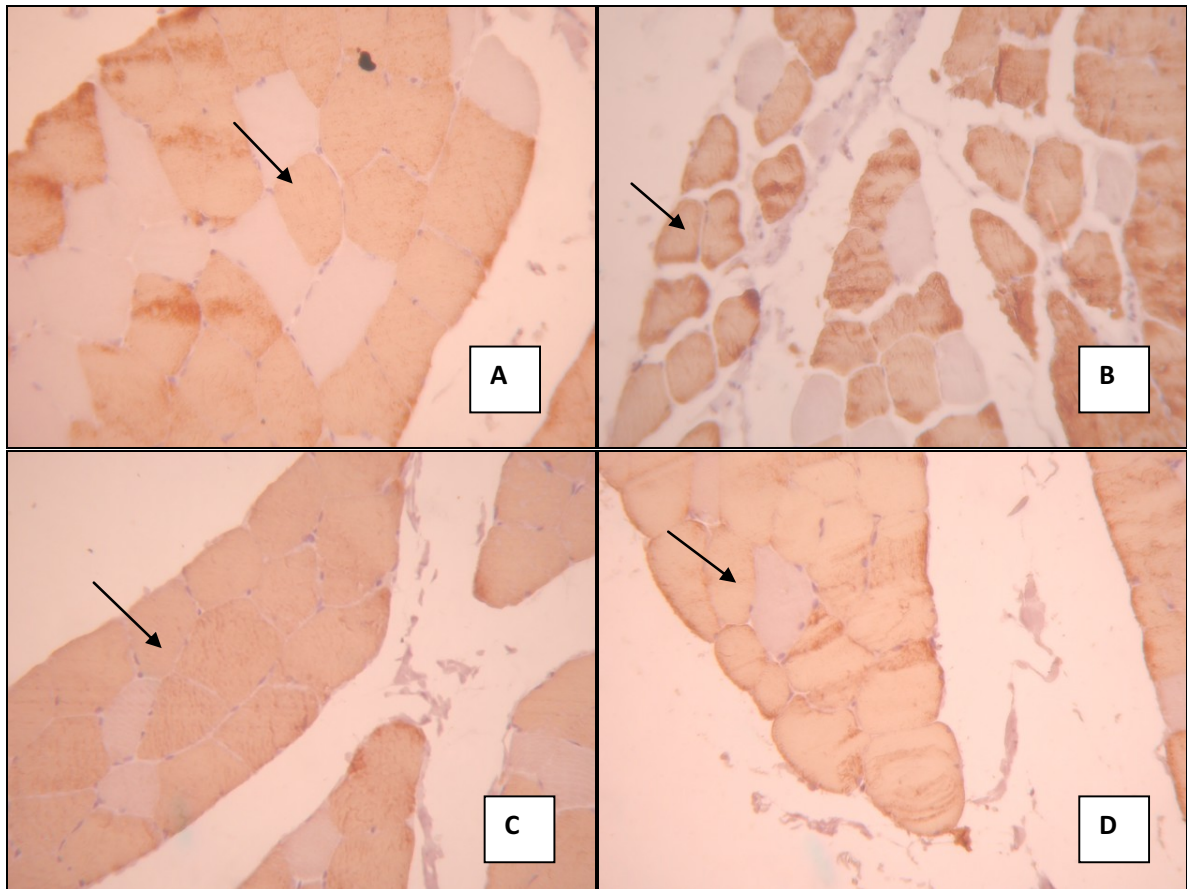


Figura 14. Fotomicrografia com objetiva 10X e aumento de 40X do aspecto da fibra muscular marcada pela técnica de imunohistoquímica (setas) com o anticorpo primário “*fast myosin*” e anticorpo secundário conjugado com peroxidase de cabra anti IgG de camundongo revelados por incubação com diaminobenzidina – DAB no cão 11, pertencente ao grupo C ou controle, antes (A) da imobilização do joelho e 30 (B), 60 (C) e 105 (D) dias após a imobilização do joelho para indução de atrofia muscular. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

O tecido muscular possui notável capacidade para adaptação estrutural e funcional aos diversos estímulos. Um desses estímulos é a imobilização, procedimento comumente utilizado como forma de tratamento nas lesões musculoesqueléticas (LIMA et al.,2007). A imobilização externa rígida do joelho com o fixador externo, durante 30

dias, promoveu atrofia do músculo vasto lateral durante os trinta dias de imobilização do joelho. Este resultado corrobora com os achados de SOUZA et al. (2007), PELIZZARI et al. (2008a) e PELIZZARI et al. (2008b) que também encontraram atrofia significativa do músculo vasto lateral em cães sob as mesmas condições e LIEBER et al. (1989) que estabeleceu o tempo de imobilização de 10 semanas. Segundo LIMA et al. (2007), sete dias são necessários para produzir alterações morfométricas nos músculos do membro pélvico de ratos. O período de 30 dias foi escolhido, por ser o tempo recomendado em cães para permanência de imobilização articular após cirurgia do ligamento cruzado cranial (SALBEGO, 2006) e artroplastia do joelho (SOUZA et al., 2006) com o objetivo de favorecer a cicatrização.

Os percentuais médios, obtidos após a mensuração em pixels, da morfometria das fibras do músculo vasto lateral em cães coradas pela técnica de imunoistoquímica com os anticorpos “*Slow myosin*” e “*Fast myosin*” estão listados na Tabela 3 e Tabela 4, respectivamente.

O aspecto das fibras do músculo vasto lateral em cão, marcadas pela técnica de imunoistoquímica com o anticorpo “*slow myosin*” e “*fast myosin*” nos diferentes tempos de pós-operatório, está ilustrado nas Figuras 14 e 15, respectivamente.

Tabela 3. Percentual obtido dos valores, em pixels, da morfometria da área das fibras transversais do músculo vasto lateral de cães, marcadas pela técnica de imunistoquímica com o anticorpo “*slow myosin*” em cães submetidos ou não a diferentes protocolos de fisioterapia após a indução de atrofia muscular com aparelho de fixação externa temporária do joelho durante 30 dias.

| CÃO/GRUPO | DIA ZERO | DIA 30 | DIA 60 | DIA 105 |
|--------------------|-----------------|---------------|---------------|----------------|
| 01 – C* | 100 | 43,76 | 28,86 | 103,21 |
| 02 – C* | 100 | 49,59 | 48,42 | 56,62 |
| 03 – C* | 100 | 66,00 | 78,02 | 76,22 |
| 04 – C* | 100 | - | 43,88 | 81,82 |
| 05 – E** | 100 | 43,22 | 70,57 | 69,51 |
| 06 – E** | 100 | 90,56 | 89,46 | 90,27 |
| 07 – E** | 100 | 47,10 | 82,83 | 99,17 |
| 08 – E** | 100 | 100,83 | 98,40 | 85,48 |
| 09 – H*** | 100 | 38,31 | 67,56 | 93,13 |
| 10 – H*** | 100 | 55,73 | 49,90 | 120,15 |
| 11 – H*** | 100 | 42,83 | 77,24 | 59,88 |
| 12 – H*** | 100 | 51,55 | 57,14 | 47,46 |
| 13 – EH**** | 100 | 29,22 | 39,68 | 40,56 |
| 14 – EH**** | 100 | 118,49 | 90,57 | 121,60 |
| 15 – EH**** | 100 | 57,02 | 58,56 | 73,27 |
| 16 – EH**** | 100 | 106,71 | 92,59 | 71,67 |

*C ou controle, **E, ou eletroterapia, ***H ou hidroterapia, ****EH ou eletroterapia+hidroterapia

Tabela 4. Percentual obtido dos valores, em pixels, da morfometria da área das fibras transversais do músculo vasto lateral de cães, marcadas pela técnica de imunistoquímica com o anticorpo “*fast myosin*” em cães submetidos ou não a diferentes protocolos de fisioterapia após a indução de atrofia muscular com aparelho de fixação externa temporária do joelho durante 30 dias.

| CÃO/GRUPO | DIA ZERO | DIA 30 | DIA 60 | DIA 105 |
|--------------------|-----------------|---------------|---------------|----------------|
| 01 – C* | 100 | 38,14 | 29,12 | 46,92 |
| 02 – C* | 100 | 27,69 | 52,52 | 48,12 |
| 03 – C* | 100 | 46,49 | 64,60 | 71,39 |
| 04 – C* | 100 | 74,45 | 59,10 | 99,78 |
| 05 – E** | 100 | 77,18 | 40,40 | 76,98 |
| 06 – E** | 100 | 40,95 | 67,90 | 77,16 |
| 07 – E** | 100 | 37,00 | 54,33 | 107,78 |
| 08 – E** | 100 | 48,76 | 106,26 | 98,71 |
| 09 – H*** | 100 | 39,57 | 42,86 | 64,87 |
| 10 – H*** | 100 | 54,14 | 69,77 | 86,18 |
| 11 – H*** | 100 | 46,49 | 62,65 | 70,26 |
| 12 – H*** | 100 | 57,34 | 66,94 | 75,27 |
| 13 – EH**** | 100 | 55,89 | 91,46 | 70,33 |
| 14 – EH**** | 100 | 91,63 | 108,18 | 115,49 |
| 15 – EH**** | 100 | 20,66 | 52,89 | - |
| 16 – EH**** | 100 | 87,35 | 96,27 | 79,72 |

*C ou controle, **E, ou eletroterapia, ***H ou hidroterapia, ****EH ou eletroterapia+hidroterapia

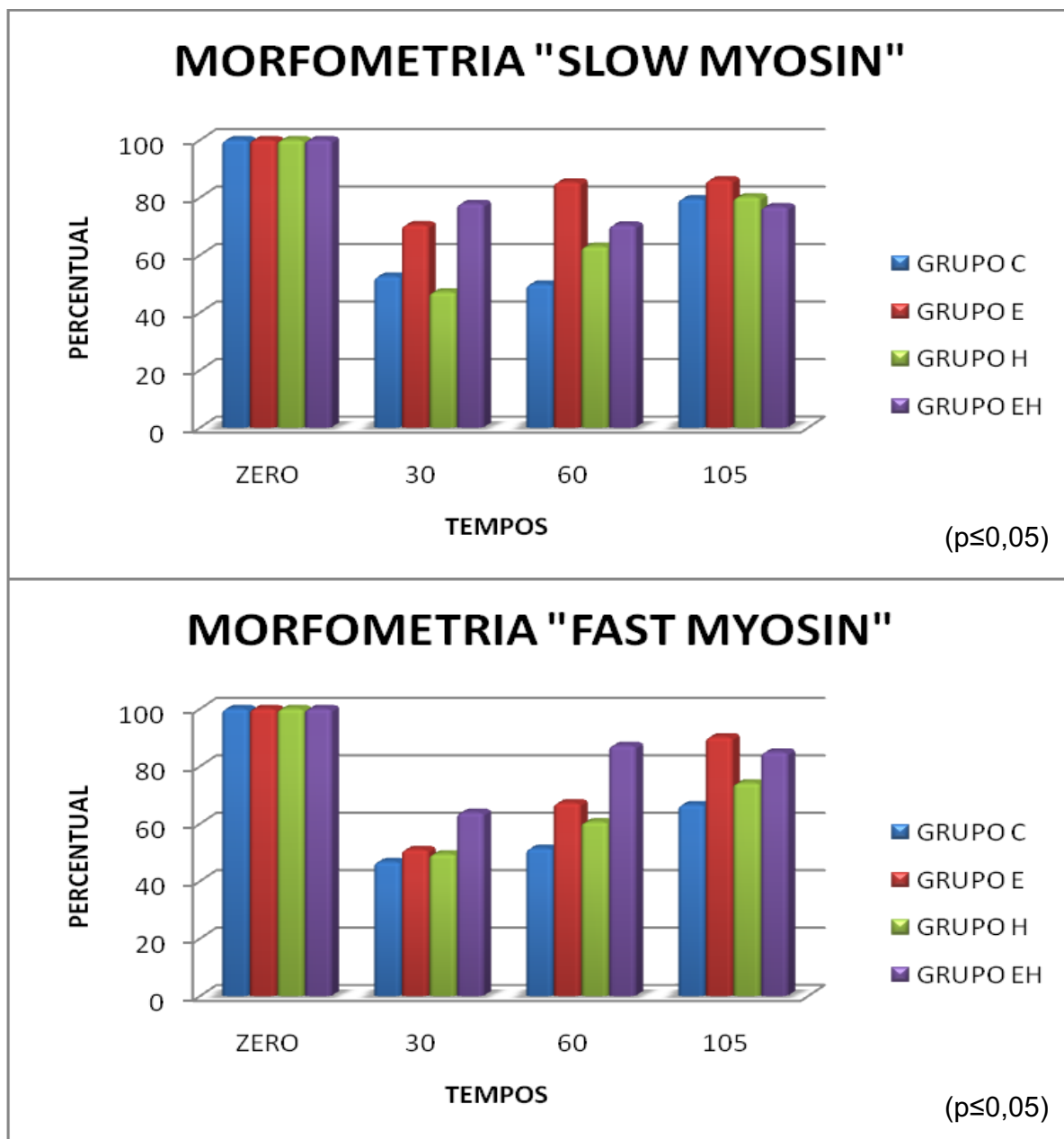


Figura 15. Representação gráfica dos valores médios da morfometria das fibras do músculo vasto lateral, obtidos em pixels e convertidos em percentual, em diferentes tempos observação, de cães submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos após a indução de atrofia muscular pelo uso de fixador externo durante 30 dias. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, 2010.

Nenhum dos cães do grupo C e grupo H recuperou a área transversal das fibras do músculo vasto lateral de contração rápida ao fim dos 105 dias de pós-operatório.

Após a imobilização do membro pélvico com fixador externo em ratos Wistar durante quatro semanas, ZARZHEVSKY et al. (1999) verificaram perda de 50% do peso muscular e 55,7% da área transversal, logo após a remoção do fixador externo e 34,1% de redução após quatro semanas de remobilização. A diminuição para aproximadamente 47% da área transversal das fibras musculares de contração lenta após a remoção do fixador externo também foi encontrada no presente estudo, após o mesmo período de imobilização para os cães do grupo H. Observou-se redução para 52,56% nos cães do grupo controle, 70,43% para o grupo E e 77,86% para o grupo EH. Houve diferença entre os grupos H e EH ($p \leq 0,05$). As fibras de contração rápida diminuíram sua área de maneira semelhante ($p \leq 0,05$) entre os diferentes grupos, ao contrário das fibras lentas. Foram encontradas reduções de área transversal para 46,29% no grupo C, 50,97%, 49,38% e 66,88% para os grupos E, H e EH, respectivamente.

O comportamento das fibras de contração lenta e rápida do músculo vasto lateral foi diferente também ($p \leq 0,05$) entre os grupos no dia 60. A área das fibras de contração lenta foi maior para os cães do grupo E comparativamente à área média obtida pela morfometria das fibras musculares do grupo C, com erro padrão de 10,3973. Já as fibras de contração rápida aumentaram sua área para os cães do grupo EH, quando comparadas aos grupos C e H. Estes resultados estão de acordo com JOHNSON & LEVINE (2004) ao descreverem que durante a estimulação elétrica neuromuscular ocorre o recrutamento das fibras de contração rápida (tipo II), seguidas pelas fibras de contração lenta (tipo I), sendo este padrão contrário ao recrutamento nas contrações voluntárias (JOHNSON & LEVINE, 2004; MIKAIL, 2006). Possivelmente o grupo H tenha apresentado menor ganho de massa muscular de contração lenta e rápida aos 60 dias de pós-operatório pelo exercício de caminhada em esteira não produzir os mesmos resultados da estimulação elétrica neuromuscular.

As fibras musculares têm capacidade de alterar suas propriedades fisiológicas e bioquímicas de acordo com os estímulos a que são submetidas, com o

resultado refletindo na quantidade ou tipo das proteínas musculares (BOFF, 2008). Percebeu-se, durante a realização da morfometria, diferença visível na relação de fibras musculares de contração rápida e lenta. Embora não incluída nos objetivos do trabalho, esta proporção será determinada posteriormente, para complementação dos resultados obtidos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A atrofia muscular gerada pela imobilização de uma articulação, seja pelo uso de fixadores externos ou não, reduz o tempo de recuperação clínica em cães. As técnicas de massagem e movimentação passiva auxiliaram a diminuir a contratura articular de maneira mais precoce nos cães tratados. A partir dos dados de circunferência de coxa e morfometria muscular foi possível confirmar a necessidade da eletroterapia para restauração do diâmetro muscular após a imobilização articular. Por outro lado, os cães que foram submetidos a 20 minutos de caminhada em esteira aquática apresentaram recuperação clínica funcional do membro mais precocemente que os demais, avaliada por meio dos graus de claudicação. Com base nestes resultados, é possível recomendar a associação da eletroterapia e hidroterapia em cães com atrofia muscular, para acelerar a recuperação funcional e da área muscular.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que:

- A recuperação clínica da claudicação foi mais acelerada nos cães submetidos a 20 minutos de caminhada em esteira aquática.
- A contratura articular foi menor em cães submetidos à fisioterapia após a indução de atrofia muscular.
- Os cães submetidos a 20 minutos de eletroterapia ou àqueles sob 10 minutos de eletroterapia e 10 minutos de caminhada em esteira aquática mostraram melhor recuperação dos valores de circunferência da coxa.
- A eletroterapia foi benéfica para recuperação da área transversal das fibras musculares de contração lenta e rápida.

7. REFERÊNCIAS

ALIEVI, M. M.; SCHOSSLER, J. E.; TEIXEIRA, M. W. Goniometria da articulação tíbio-tarsal após imobilização temporária com fixador esquelético externo em cães. **Ciência rural**, v.34, n.2, p.425-428, 2004.

APPELL, H.J. Skeletal muscle atrophy during immobilization. **Internal journal sports medicine**, v.7, n.1, p.6-12, 1986.

BACILA, M. Músculo e contração muscular. In: _____ **Bioquímica veterinária**. São Paulo : Robe editorial, 2ed., Cap.10, p.243-264, 2003.

BANKS, W. J. Tecido muscular. In.:_____ **Histologia veterinária aplicada**. São Paulo : Manole. 2ed. Cap.13, p.215-261, 1992.

BARLOW, A.; CLARKE, R.; JOHNSON, N.; SEABOURNE, B.; THOMAS, D.; GAL, J. Effect of massage of the hamstring muscle group on performance of the sit and reach test. **British journal of sports medicine**, v.38, n.3, p.349-351, 2004.

BATISTA, L. H.; CAMARGO, P. R.; AIELLO, G. V.; OISHI, J.; SALVINI, T. F. Avaliação da amplitude articular do joelho: correlação entre as medidas realizadas com o goniômetro universal e no dinamômetro isocinético. **Revista brasileira de fisioterapia**, v.10, n.2, p.193-198, 2006.

BAUER, C.; MIKAIL, S. Massagem. In: MIKAIL, S.; PEDRO, C. R. **Fisioterapia veterinária**. São Paulo : Manole, 1ed. Cap.7, p.63-66, 2006.

BELCHIOR, A. C. G.; REIS, F. A.; CARVALHO, P. T. C. Estudo comparativo entre o tratamento cinesioterápico e hidrocinesioterápico no pós-operatório da reconstrução do ligamento cruzado anterior. **Conscientiae saúde**, v.7, n.2, p.191-197, 2008.

BOCKSTAHLER, B. The orthopaedic patient: conservative treatment, physiotherapy and rehabilitation. **IAMS clinical nutrition symposium**, p.25-30, 2006.

BOFF, S. R. A fibra muscular e fatores que interferem no seu fenótipo. **Acta fisiatra**, v.15, n.2, p.111-116, 2008.

BOGATAGI, U.; GROS, N.; KLJAJIC, M.; ACIMOVIC, R.; MALEZIC, M. The rehabilitation of gait in patients with hemiplegia: A comparison between conventional therapy and multichannel functional electrical stimulation therapy. **Physical therapy**, v.75, n.6, p.40-52, 1995.

BONDAN, E. F.; LALLO, M. A. Fisiologia da contração muscular esquelética. In: MIKAIL, S.; PEDRO, C. R. **Fisioterapia veterinária**. São Paulo : Manole, 1ed. Cap.5, p.34-48, 2006.

BRASILEIRO, J. S.; CASTRO, C. E. S.; PARIZOTTO, N. A. Parâmetros manipuláveis clinicamente na estimulação elétrica neuromuscular (EENM). **Fisioterapia Brasil**, v.3, n.1, p.16-24.

BYDLOWSKI, S. P.; BYDLOWSKI, C. R. Fisiologia do músculo esquelético. In: DOUGLAS, C. R. **Tratado de fisiologia aplicada à saúde**. São Paulo : Robe editorial, 5ed. Cap.7, p.153-167, 2002.

CÂMARA E SILVA, L. A.; DIAS, R. V. C.; SOTO-BLANCO, B. Determinação das atividades séricas de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em equinos de diferentes categorias de atividade. **Arquivos brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.250-252, 2007.

CANAPP, D. A. Select modalities. **Clinical techniques in small animal practice**, v.22, n.4, p.160-165, 2007.

CANAPP JR, S. O. The canine stifle. **Clinical techniques in small animal practice**, v.22, n.4, p.195-205, 2007.

CARREGARO, R. L.; TOLEDO, A. M. Efeitos fisiológicos e evidências científicas da eficácia da fisioterapia aquática. **Revista movimenta**, v.1, n.1, p.23-27, 2008.

CARVALHO, D. C. L; ZANCHETTA, M. C.; SERENI, J. M.; CLIQUET JUNIOR, A. Metabolic and cardiorespiratory responses of tetraplegic subjects during treadmill walking using neuromuscular electrical stimulation and partial body weight support. **Spinal cord**, v.43, p.400-405, 2005.

CARVALHO, L. C.; SHIMANO, A. C.; PICADO, C. H. F. Estimulação elétrica neuromuscular e o alongamento passivo manual na recuperação das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio imobilizado. **Acta ortopédica brasileira**, v.16, n.3, p.161-164, 2006.

CHANOIT, G. P.; CONCORDET. D.; LEFEBVRE, H. P.; ORCEL, K.; BRAUN, J. P. Exercise does not induce major changes ins plasma muscle enzymes, creatinine, glucose and total proteins concentrations in untrained Beagle dogs. **Journal of veterinary medical association**, v.49, p.222-224, 2002.

CLARK, B.; McLAUGHLIN, R. M. Physical rehabilitation in small animal orthopedic patients. **Veterinary medicine**, v.96, n.3, p.234-246, 2001.

COMIS, M. B. **Influência do tempo e temperatura sobre a estabilidade de constituintes do soro e plasma sanguíneos de equinos Mangalarga Marchador**. 2006, 111f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

D'ANGELIS, F. H. F. **Avaliação do efeito da suplementação prolongada com creatina sobre músculos estriados esqueléticos de eqüinos em treinamento aeróbico**. 2004, 83f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

D'ANTONA, G.; PELLEGRINO, M. A.; ADAMI, R.; ROSSI, R.; CARLIZZI, C. N.; CANEPARI, M. SALTIN, B.; BOTTINELLI, R. The effect of ageing and immobilization on structure and function of human skeletal muscle fibres. **The journal of physiology**, v.552, p.499-511, 2003.

DAVIDSON, J. R.; KERWIN, S. C.; MILLIS, D. L. Reabilitação ortopédica. In: LEVINE, D.; MILLIS, D. L.; MARCELLIN-LITTLE, D. J.; TAYLOR, R. **Reabilitação e fisioterapia na prática de pequenos animais**. São Paulo : Roca, 1ed. Cap.6, p.119-155, 2008.

DEL CARLO, R. J.; GALVÃO, M. R.; VILORIA, M. I. V.; NATALI, A. J.; BARBOSA, A. L. T.; MONTEIRO, B. S.; PINHEIRO, L. C. P. Imobilização prolongada e remobilização da articulação fêmoro-tíbio-pateral de ratos: estudo clínico e microscópico. **Arquivos brasileiros de medicina veterinária e zootecnia**, v.59, n.2, p.363-370, 2007.

DOYLE, N. D. Rehabilitation of fractures in small animals: maximize outcomes, minimize complications. **Clinical techniques in small animal practice**, v.19, n.3, p.180-191, 2004.

DOYLE, A.; HORGAN, N. F. Perceptions of animal physiotherapy amongst Irish veterinary surgeons. **Irish veterinary journal**, v.59, n.2, p.85-88, 2006.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, L. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1982. 217p.

DURIGAN, J. L. Q.; CANCELLIERO, K. M.; DIAS, C. K. N.; SILVA, C. A.; GUIRRO, R. R. J.; POLACOW, M. L. O. Efeitos da estimulação elétrica neuromuscular sobre o membro posterior imobilizado de ratos durante 15 dias: análises metabólicas e morfométricas. **Revista brasileira de fisioterapia**, v.10, n.3, p.297-302, 2006.

EDGERTON, V.R.; ROY, R. R.; ALLEN, D. L.; MONTI, R. J. Adaptations in skeletal muscle disuse or decreased-use atrophy. **American journal of physical medicine and rehabilitation**, v.81, p.127-147, 2002.

ESTEP, D. Q. Canine behavior. In: MILLIS, D.L.; LEVINE, D.; TAYLOR, R.A. **Canine rehabilitation & physical therapy**. Missouri : Saunders, 1sted. Cap.4, p.30-37, 2004.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. A. Músculo. In: _____ **Atlas colorido de histologia**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 3ed., Cap.6, p.102-114, 2002.

GOATS^a, G. C. Massage – the scientific basis of an ancient art: part 1. The techniques. **British journal of sports medicine**, v.28, n.3, p.149-152, 1994.

GOATS^b, G. C. Massage – the scientific basis of an ancient art: part 2. Physiological and therapeutical effects. **British journal of sports medicine**, v.28, n.3, p.153-156, 1994.

HALL, J.; BLAKE, D.; TAYLOR, D.; GARBUTT, G. Cardiorespiratory responses to aquatic treadmill walking in patients with rheumatoid arthritis. **Physiotherapy research international**, v.9, n.2, p.59-73, 2004.

HESBACH, A. L. Techniques for objective outcome assessment. **Clinical techniques in small animal practice**, v.22, n.4, p.146-154, 2007.

HUXLEY, A. F. Muscular contraction. **The journal of physiology**, v.243, n.1, p.1-43, 1974.

JAEGGER, G.; MARCELLIN-LITTLE, D. J.; LEVINE, D. Reability of goniometry in Labrador Retrievers. **American journal of veterinary research**, v.63, n.7, p.979-986, 2002.

JANKNEGT, R. A.; HEESAKKERS, J. P. F. A.; WEIL, E. H. J.; BAETEN, C. G. M. I. Electrically stimulated gracilis sphincter (dynamic graciloplasty) for treatment of intrinsic sphincter deficiency: a pilot study on feasibility and side effects. **Journal of urology**, v.154, n.5, p.1830-1833, 1995.

JOHNSON, J. M. JOHNSON, A. L.; PIJANOWSKI, G. L.; KNELLER, S. K.; SCHAEFFER, D. J.; EURELL, J. A.; SMITH, C. W.; SWAN, K. S. Rehabilitation of dogs with surgically treated cranial cruciate ligament-deficient stifles by use of electrical stimulation of muscles. **American journal of veterinary research**, v.58, n.12, p.1473-1478, 1997.

JOHNSON, J.; LEVINE, D. Electrical stimulation. In: MILLIS, D.L. LEVINE, D.; TAYLOR, R. **Canine rehabilitation & physical therapy**. Missouri: Elsevier, Cap.17, p.289-302, 2004.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecidos musculares. In: _____ **Histologia básica**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 7ed. Cap.10, p.146-162, 2004.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Appendixes. In: _____ **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5ed. London : Academic Press, 1997. Apêndice IX, p.303-325.

KATHMANN, S.; CIZINAUSKAS, S.; DOHERR, M. G.; STEFFEN, F.; JAGGY, A. Daily controlled physiotherapy increases survival time in dogs with suspected degenerative myelopathy. **Journal of veterinary internal medicine**, v.20, p.927-932, 2006.

LEVINE, D.; RITTENBERRY, L.; MILLIS, D. Aquatic therapy. In: MILLIS, D.L.; LEVINE, D.; TAYLOR, R.A. **Canine rehabilitation & physical therapy**. Missouri : Saunders, 1sted. Cap.15, p.264-276, 2004.

LEVINE, D.; MILLIS, D. L.; MARCELLIN-LITTLE, D. J. Introdução à reabilitação física em Veterinária. In: LEVINE, D.; MILLIS, D. L.; MARCELLIN-LITTLE, D. J.; TAYLOR, R. **Reabilitação e fisioterapia na prática de pequenos animais**. São Paulo : Roca, 1ed. Cap.1, p.1-8, 2008.

LIEBER, R. L.; McKEE-WOODBURN, T.; GERSHUNI, D. H. Recovery of the dog quadriceps after 10 weeks of immobilization followed by 4 weeks of remobilization. **Journal of orthopaedic research**, v.7, n.3, p.408-412, 1989.

LIMA, S. M. P. F.; LEITE, V. M.; MASIERO, D.; SANTOS, J. B. G.; LAREDO FILHO, J. Reabilitação de pacientes portadores da doença de Kienböck submetidos a ressecção da fileira proximal do carpo. **Acta ortopédica brasileira**, v.8, n.2, p.83-89, 2000.

LIMA, S. C.; CAIERÃO, Q. M.; DURINGAN, J. L. Q.; SCHWARZENBECK, A.; SILVA, C. A.; MINAMOTO, V. B.; GUIRRO, R. R. J. Curto período de imobilização provoca alterações morfométricas e mecânicas no músculo de rato. **Revista brasileira de fisioterapia**, v.11, n.4, p.297-302, 2007.

LITTEL, R.C.; MILLIKEN, G.A.; STROUP, W.W.; WOLFINGER, R.D.; SCHABENBERGER, O. 2006. **SAS[®] for Mixed Models** 2ed. SAS Institute Inc.: Cary, NC, USA. 834 p.

LOPES, S. T. A.; FRANCISCATO, C.; TEIXEIRA, L. V.; OLIVEIRA, T. G. M.; GARMATZ, B. C.; VEIGA, A. P. M.; MAZZANTI, A. Determinação da creatina quinase em cães. **Revista da FZVA**, v.12, n.1, p.116-122, 2005.

MANN, F. A.; WAGNER-MANN, C.; TANGNER, C. H. Manual goniometric measurement of the canine pelvic limb. **Journal of the animal hospital association**, v.24, n.2, p.189-194, 1988.

MARCHETTI, P. H.; GONÇALVES, M. Efeito da massagem na remoção da fadiga entre as séries de treinamento de força. **Exacta**, v.5, p.35-38, 2006.

MARSOLAIS, G.; DVORAK, G.; CONZEMIUS, M. G. Effects of postoperative rehabilitation on limb function after cranial cruciate ligament repair in dogs. **Journal of american veterinary medical association**, v.220, n.9, p.1325-1330, 2002.

MARSOLAIS, G. S.; McLEAN, S.; DERRICK, T.; CONZEMIUS, M. G. Kinematic analysis of the hind limb during swimming and walking in healthy dogs and dogs with surgically corrected cranial cruciate ligament rupture. **Journal american of veterinary medical association**, v.222, n.6, p.739-743, 2003.

MARTINI, F. H. **Fundamentals of anatomy & physiology**. 3ed. New Jersey : Prentice Hall, 1995.

MARTINS, F. L. M.; GUIMARÃES, L. H. C. T.; VITORINO, D. F. M; SOUZA, L. C. F. Eficácia da eletroestimulação funcional na amplitude de movimento de dorsiflexão de hemiparéticos. **Revista neurociências**, v.12, n.2, p.01-09, 2004. Acesso em: 10/06/2005. On line. Disponível em:
<http://www.unifesp.br/dneuro/neurociencias/vol12_2/dorsiflexao.htm>.

MATHEUS, J. P. C.; GOMIDE, L. B.; OLIVEIRA, J. G. P.; VOLPON, J. B.; SHIMANO, A. C. Efeitos da estimulação elétrica neuromuscular durante a imobilização nas propriedades mecânicas do músculo esquelético. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v.13, n.1, p.55-59, 2007.

McGONAGLE, L.; TAYLOR, R. History of canine physical rehabilitation. In: MILLIS, D.L.; LEVINE, D.; TAYLOR, R.A. **Canine rehabilitation & physical therapy**. Missouri : Saunders, 1sted. Cap.1, p.1-3, 2004.

McGOWAN, C. M.; STUBBS, N. C.; JULL, G. A. Equine physiotherapy: a comparative view of the science underlying the profession. **Equine veterinary journal**, v.39, n.1, p.90-94, 2007.

MIKAIL, S. Eletroterapia. In: MIKAIL, S.; PEDRO, C. R. **Fisioterapia veterinária**. São Paulo : Manole, 1ed. Cap.7, p.63-66, 2006.

MILLIS, D. L^a. Assessing and measuring outcomes. In: MILLIS, D.L.; LEVINE, D.; TAYLOR, R.A. **Canine rehabilitation & physical therapy**. Missouri : Saunders, 1sted. Cap.12, p.211-227, 2004.

MILLIS, D. L^b. Getting the dog moving after surgery. **Journal of the American animal hospital association**, v.40, n.6 ,p.429-436, 2004.

MILLIS, D. L.^c. Responses of musculoskeletal tissues to disuse and remobilization. In: MILLIS, D.L.; LEVINE, D.; TAYLOR, R.A. **Canine rehabilitation & physical therapy**. Missouri : Saunders, 1sted. Cap.7, p.113-159, 2004.

MILLIS, D. L.; LEWELLING, A.; HAMILTON, S. Range of motion and stretching exercises. In: MILLIS, D.L. LEVINE, D.; TAYLOR, R. **Canine rehabilitation & physical therapy**. Missouri: Elsevier, 2004. Cap.17, p.289-302.

MINAMOTO, V. B. Classificação e adaptações das fibras musculares: uma revisão. **Fisioterapia e pesquisa**, v.12, n.3, p.50-55, 2005.

MONK, M. L.; PRESTON, C. A.; MCGOWAN, C. M. Effects of early intensive postoperative physiotherapy on limb function after tibial plateau leveling osteotomy in dogs with deficiency of the cranial cruciate ligament. **American journal of veterinary research**, v.67, n.3m p.529-536, 2006.

MOORES, A. P.; SUTTON, A. Manegement of quadriceps contracture in a dog using a static flexion apparatus and physiotherapy. **Journal of small animal practice**, v.50, n.5, p.251-254, 2009.

MUIR, P. Physical examination of lame dogs. **The compendium**, v.19, n.10, p.1-10, 1997.

NATALI, L. H.; SILVA, T. S.; CIENA, A. P.; PADOIN, M. J.; ALVES, E. P. B.; ARAGÃO, F. A.; BERTOLINI, G. R. F. Efeitos da corrida em esteira em músculos sóleos de ratos encurtados por imobilização. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v.14, n.6, p.490-493, 2008.

ORSINI, M; FREITAS, M. R. G.; MELLO, M. P.; ANTONIOLI, R. S.; KALE, N.; EIGENHEER, J. F.; REIS, C. H. M.; NASCIMENTO, O. J. M. Hidroterapia no gerenciamento da espasticidade nas paraparesias espásticas de várias etiologias. **Revista neurociências**, 2008. Disponível em:

<://www.revistaneurociencias.com.br/x%20in%20press/279%20revis%E3o.pdf>.

PADILHA, F. G. F.; AMORIM, R. M.; SUMMA, R. Avaliação prática da biópsia muscular percutânea por agulha em equinos. **A hora veterinária**, v.28, n.164, p.29-32, 2008.

PELIZZARI^a, C.; MAZZANTI, A.; RAISER, A. G.; LOPES, S. T. A.; GRAÇA, D. L.; SALBEGO, F. Z.; RAMOS, A. T.; FESTUGATTO, R.; BECKMANN, D. V.; CUNHA, M. G. M. C. M. C.; SANTOS, R. P.; CARGNELUTTI, J. F.; PEREIRA, D. T.; MARTINS, T. B. Estimulação elétrica neuromuscular de média frequência (rusa) em cães com atrofia muscular induzida. **Ciência rural**, v.38, n.3, p.736-742, 2008.

PELIZZARI^b, C.; MAZZANTI, A.; RAISER, A. G.; LOPES, S. T. A.; GRAÇA, D. L.; RAMOS, A. T.; SALBEGO, F. Z.; FESTUGATTO, R.; BECKMANN, D. V.; SOUZA, L. B.; CUNHA, M. G. M. C. M. C.; SANTOS, R. P.; GARMATZ, B.; SILVA, A. P.; STRUZA, D. A. F. Estimulação elétrica neuromuscular de baixa frequência em cães com atrofia muscular induzida. **Arquivos brasileiros de medicina veterinária e zootecnia**, v.60, n.1, p.76-82, 2008.

POWERS, S.K.; HOWLEY, E. T. Músculo esquelético. In: ____ **Fisiologia do exercício – teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho**. São Paulo : Manole, 3ed. Cap.8, p.125-150, 2000.

RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. Músculos e movimento do animal. In: ____ **Eckert Fisiologia animal – mecanismos e adaptações**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 4ed. Cap.10, p.323-373, 2000.

REBAI, H.; BARRA, V.; LABORDE, A.; BONNY, J. M.; POUMARAT, G.; COUDERT, J. Effects of two electrical stimulation frequencies in thigh muscle after knee surgery. **Internal journal of sports medicine**, v.23, n.8, p.604-609, 2002.

REYNOLDS, A. J.; FUHRER, M. S.; VALENTINE, B. A.; KALLFEZ, F. A. New approach to percutaneous muscle biopsy in dogs. **American journal of veterinary residence**, v.56, n.8, p.982-985, 1995.

REZENDE, C. M. F.; OLIVEIRA, H. P.; PENHA, E. M.; MELO, E. G.; BORGES, N. F.; DORETTO, J. V. Avaliação pós-operatória da fixação esquelética externa em 29 cães: estudo retrospectivo. **Arquivos brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.2, p.283-286, 2006.

RIVERO, J. L. L.; HENCKEL, P. Muscle biopsy index for discriminating between endurance horses with different performance records. **Research in veterinary science**, v.61, p.49-54, 1996.

RIVIÈRE, S. Fisioterapia aplicada a perturbações de locomoção de origem artrítica em gatos e cães. **Veterinary focus**, v.17, n.3, p.32-37, 2007.

SALBEGO, F. Z. **Substituição do ligamento cruzado cranial por segmento tem-ósseo homólogo conservado em glicerina a 98% e submetidos a diferentes protocolos fisioterapêuticos**. 2006, 123f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia). Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

SANTOS JÚNIOR, M. N.; SCHOSSLER, J. E. Deambulação após o uso de aparelhos de fixação externa ou pinos intramedulares na tíbia de cães sadios. **Ciência rural**, v.32, n.2, p.269-273, 2002.

SAUNDERS, D. G. Therapeutic Exercise. **Clinical techniques in small animal practice**, v.22, n.3, p.155-159, 2007.

SIQUEIRA, L. O.; MUCCINI, L.; DALL AGNOL, I.; FILLA, L.; TIBBOLA, P.; LUVISON, A.; COSTA, L.; MOREIRA, J. C. F. Análise de parâmetros bioquímicos séricos e urinários em atletas de meia maratona. **Arquivos brasileiros de endocrinologia metabólica**, v.53, n.7, p.844-853, 2009.

SNYDER-MACKLER, L.; DELITTO, A.; STRALKA, S. W.; BAILEY, S. L. Use of electrical stimulation to enhance recovery of quadriceps femoris muscle force production in patients following anterior cruciate ligament reconstruction. **Physical therapy**, v.74, n.10, p. 901-907, 1994

SOUZA, S. F.; MAZZANTI, A.; RAISER, A. G.; SALBEGO, F. Z.; FONSECA, E. T.; FESTUGATTO, R.; PELIZZARI, C.; BECKMANN, D. V.; SANTOS, R. P.; SOUZA, L. B.; CUNHA, M. G. M. C. M. C. Reabilitação em cães submetidos a artroplastia do joelho. **Ciência rural**, v.36, n.5, p.1456-1461, 2006.

SOUZA, S. F.; MAZZANTI, A.; RAISER, A. G.; SALBEGO, F. Z.; PELIZZARI, C.; MARTINS, D. B.; RECH, R. R.; LOPES, S. T. A.; BECKMANN, D. V.; SOUZA, L. B.; CUNHA, M. G. M. C. M. C.; FESTUGATTO, R.; SANTOS, R. P.; SILVA, A. P. Estimulação elétrica neuromuscular em cães submetidos a imobilização externa rígida temporária da articulação fêmoro-tíbio-patelar. **Ciência rural**, v.37, n.1, p.165-179, 2007.

STEISS, J. E.; LEVINE, D. Modalidades de agentes físicos. In: LEVINE, D.; MILLIS, D. L.; MARCELLIN-LITTLE, D. J.; TAYLOR, R. **Reabilitação e fisioterapia na prática de pequenos animais**. São Paulo : Roca, 1ed. Cap.4, p.75-94, 2008.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H.; DICKEY, D.A. 1997. **Principles and procedures of statistics – a biomerical approach**. 3ed. McGraw-Hill : New York, USA. 666 p.

STEVENS, J. E.; MIZNER, R. L.; SNYDER-MACKLER, L. Neuromuscular electrical stimulation for quadriceps muscle strengthening after bilateral total knee arthroplasty: a case series. **Journal of orthopaedics and sports physical therapy**, v.34, n.1, p.21-29, 2004.

SUTTON, A. Massage. In: MILLIS, D.L.; LEVINE, D.; TAYLOR, R.A. **Canine rehabilitation & physical therapy**. Missouri : Saunders, 1sted. Cap.18, p.303-323, 2004.

SZENT-GYÖRGYI, A. G. The early history of the biochemistry of muscle contraction. **The journal of general physiology**, v.132, n.6, p.631-641, 2004.

TAYLOR, R. Postsurgical physical therapy: the missing link. **Continuing education article**, v. 14, n.12, p.1583-1594, 1992.

TUDURY, E. A.; RAISER, A. G. Redução de fraturas distais de fêmur de cães, empregando dois pinos de Steinmann em substituição aos de Rush. **Revista do centro de ciências rurais**, v.15, n.2, p.141-155, 1985.

VEENMAN, P. Animal physiotherapy. **Journal of bodywork and movement therapies**, v.10, n.4, p.317-327, 2006.

WARD, A. R.; SHKURATOVA, N. Russian electrical stimulation: the early experiments. **Physical therapy**, v,82, n.10, p.1019-1030, 2002.

WATRAS, J. Fisiologia do músculo esquelético. In: BERNE, R.M.; LEVI, M.N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B.A. **Fisiologia**. Rio de Janeiro : Elsevier, 5ed. Cap.12, p.233-256, 2004.

WEERAPONG, P.; HUME, P. A.; KOLT, G. S. The mechanisms of massage and effects on performance, muscle recovery and injury prevention. **Sports medicine**, v.35, n.3, p.235-256, 2005.

WILMORE, J.H.; COSTILL, D.L. Músculo esquelético. In: _____ **Fisiologia do esporte e do exercício**. São Paulo : Manole, 2ed. Cap.3, p.27-50, 2001.

ZARZHEVSKY, N.; COLEMAN, R.; VOLPIN, G.; FUCHS, D.; STEIN, H.; REZNICK, A. Z. Muscle recovery after immobilization by external fixatino. **The journal of bone & joint surgery**, v.81B, n.5, p.896-901, 1999.