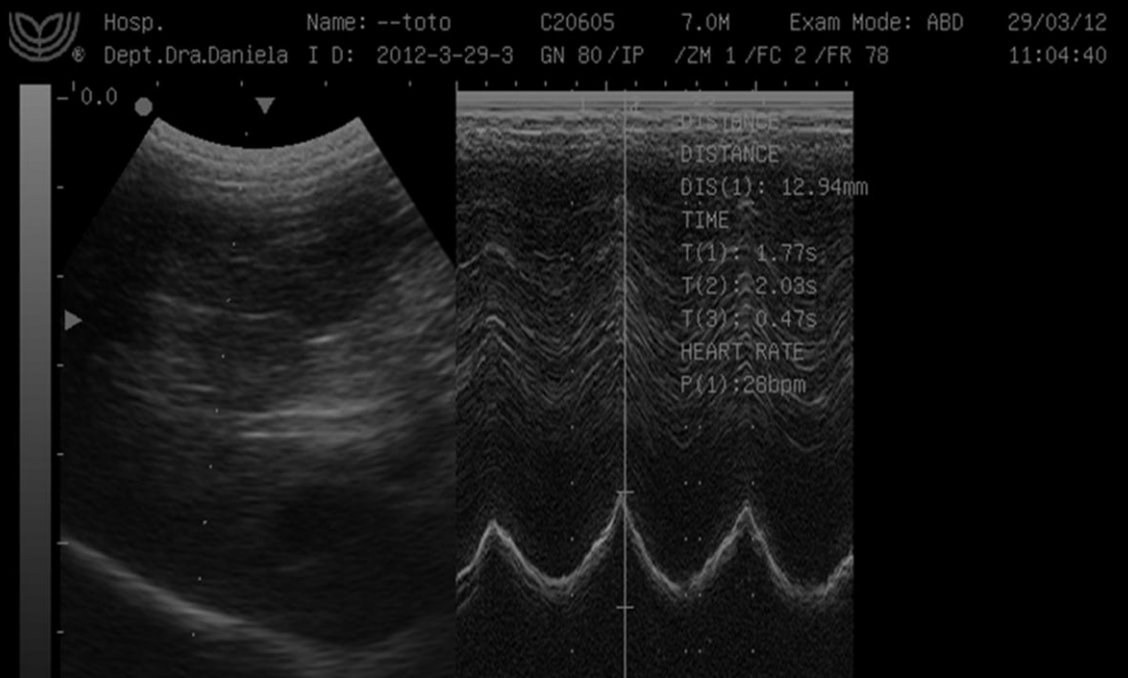


DANIELA MORAES DE OLIVEIRA

Emprego da ultrassonografia como metodo de avaliação dos músculos respiratórios em cães Golden Retriever normais e afetados pela distrofia muscular (GRMD)



São Paulo

2012

DANIELA MORAES DE OLIVEIRA

Emprego da ultrassonografia como metodo de avaliação dos músculos respiratórios em cães Golden Retriever normais e afetados pela distrofia muscular (GRMD).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de Concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Prof^o Dr. Antonio Chaves de Assis Neto

São Paulo- SP

2012

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2698
FMVZ

Oliveira, Daniela Moraes de
Emprego da ultrassonografia como metodo de avaliação dos músculos respiratórios em
cães Golden Retriever normais e afetados pela distrofia muscular (GRMD) / Daniela Moraes
de Oliveira. -- 2012.
81 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Chaves de Assis Neto.

1. Distrofia Muscular. 2. Sistema respiratório. 3. Diafragma. 4. Cães. 5. Músculo respiratório.
I. Título.

ERRATA

OLIVEIRA, .D. M. de. Emprego da ultrassonografia como método de avaliação dos músculos respiratórios em cães Golden Retriever normais e afetados pela distrofia muscular (GRMD), São Paulo. 2012. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Página	Parágrafo	Onde se lê	Leia-se
Capa	1º	como metodo	Como método
Folha de Avaliação	1º		FOLHA DE AVALIAÇÃO
Resumo	1º	Emprego da ultrassonografia metodo	Emprego da ultrassonografia como método
Resumo	3º	Diafragma. Distrofia muscular. Músculos respiratórios. Sistema Respiratório	Distrofia muscular. Sistema respiratório. Diafragma. Cães. Músculo respiratório.
Abstract	3º		Keywords: Distrofia muscular. Respiratory system. Diaphragm. Dogs. Respiratory muscles



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Emprego da ultrassonografia como método de avaliação dos músculos respiratórios em cães Golden Retriever afetados pela distrofia muscular (GRMD)", protocolado sob o nº 2609/2012, utilizando 8 (oito) cães, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Antônio Chaves de Assis Neto, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 16/5/2012.

We certify that the Research "Use of ultrasonography as a method of evaluation of respiratory muscles in Golden Retriever dogs affected by muscular dystrophy (GRMD)", protocol number 2609/2012, utilizing 8 (eigth) dogs, under the responsibility Prof. Dr. Antônio Chaves de Assis Neto, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 5/16/2012.

São Paulo, 18 de outubro de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

Nome: Oliveira, Daniela Moraes

Título: Emprego da ultrassonografia como método de avaliação dos músculos respiratórios em cães Golden Retriever normais e afetados pela distrofia muscular (GRMD).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências

Aprovada em: ___/___/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instíuição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instíuição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instíuição: _____ Julgamento: _____

Dedicatória

Deus, pela força de renovação e fé inesgotável. “Ainda que eu caminhe pelo vale das sombras nada temerei, pois o senhor está comigo”.

A minha mãe Terezinha, que sempre me apoiou e sempre foi pra mim um exemplo de mulher, honrosa, batalhadora e com um amor incontestável, que me deu força de querer ser cada vez mais digna deste amor e nunca decepcioná-la.

Ao meu pai Benedito muito obrigado. Aos meus irmãos Alexssandro e Mônica pela força, apoio e por acreditarem no meu sonho. Aos meus cunhados, Vânia e Marcos pela total colaboração e pela torcida.

Aos animais, estes seres que com simples olhar, fazem pra mim o mundo parar; com sutileza me arrancam sorrisos, e quando se vão me fazem chorar. A vida só é mais fácil quando estão por perto: Barbára, Bela, Bill, Nequinha, Uga; Gaio, Taca, Hércules, Spike, Bobby (In memória) e ao meu amado filho Junior (in memória)

A todos os cães pertencentes ao Canil experimental GRMD-Brasil, que foram e são exemplo de força de vontade e alegria de viver. Ao final de cada plantão o que me fortalecia, era ver os olhar de agradecimento destes seres que pra mim são completos. Em especial a Monstra e ao Lucky (in memória), por me ensinarem o valor do projeto GRMD-Brasil. Meu respeito e meu carinho!

Ao Profº Antônio Chaves de Assis Neto, por me receber como orientada. Pela oportunidade, incentivo, amizade e ensinamento. Cada um dos momentos vividos será para sempre recordados e compartilhados durante minha vida acadêmica e pessoal.

Muito obrigado.

Agradecimentos

A Prof. Dra. Maria Angélica Miglino pela oportunidade de ingressar no programa, por permitir a concretização de um sonho.

Ao Profº Dr. Stefano Carlo Filippo Hagen, por me receber no Departamento de Diagnóstico por Imagem, por auxiliar grandiosamente em minha pesquisa, ainda por transmitir esperança, felicidade, além de um conhecimento inigualável. Um exemplo de Professor e Mestre.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Ambrósio, por incentivar a pesquisa dentro do grupo GRMD-Brasil.

Aos professores do Departamento de Cirurgia e do Programa de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Paula Papa, Alan Peres de Melo, Francisco Javier Hernández-Blásques, José Roberto Kfourir Jr e Rose Ely, pelos ensinamentos e pelas aulas ministradas ao decorrer do curso.

Aos irmãos de orientação, Bertassoli (chu), M.A, Vitória, Paulo, Delys (Natal), Diego (Maranhão), pelas festas comemorativas, coleguismo e grandes aventuras.

Ao Amilton (Capitão) pelo entusiasmo, garra, sinceridade e confiança. Um exemplo de determinação.

Aos amigos Bruno e Amanda, por estarem sempre dispostos a ajudar, independente da ocasião.

Aos colegas plantonistas do canil: Di, Re, Ma, Thata (companheira de congresso), Paula, Juliana, Marcio, Amanda, Oracio, Barbara e Aline pela dedicação aos amigos caninos e por vestirem a camisa da Grupo-GRMD Brasil.

Aos amigos e grandes profissionais, Ronaldo Agostinho da Silva, Índio e José Augusto, dos quais me auxiliaram grandiosamente neste tempo de amadurecimento profissional.

Aos funcionários Maicon Barbosa da Silva e Jaqueline Martins Santana pela colaboração.

Porque o que sucede aos filhos dos homens, isso também sucede aos animais; o mesmo lhes sucede: como morre um, assim morre o outro, todos têm o mesmo fôlego; e a vantagem dos homens sobre os animais não é nenhuma, porque todos são vaidade.

Eclesiaste 3,19

RESUMO

OLIVEIRA, D. M. **Emprego da ultrassonografia metodo de avaliação dos músculos respiratórios em cães Golden Retriever normais e afetados pela distrofia muscular (GRMD).** [Use of ultrasonography as a method of evaluation of respiratory muscles in Golden Retriever dogs affected by muscular dystrophy (GRMD)]. 2012. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

A Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) é uma doença genética neuromuscular hereditária, ligada ao cromossomo X, sendo encontrada em seres humanos do sexo masculino em uma taxa de 1 para cada 3500 neonatos. Essa doença muscular é descrita também em outras espécies como o camundongo distrofico (Mdx), cães golden retriever com distrofia muscular GRMD e gatos com distrofia muscular hipertrófica felina (HFMD), os quais apresentam sintomas semelhantes à DMD e por esta razão tem sido amplamente utilizados como modelos experimentais para estudos. Portanto o objetivo deste estudo é avaliar a mobilidade do diafragma, os ciclos respiratórios e a expansão da caixa torácica de cães GRMD afetados e portadores, uma vez que a insuficiência respiratória é a principal causa de mortes em indivíduos acometidos. Para este estudo utilizou-se de avaliação ultrassonográfica dos músculos respiratórios (diafragma e intercostais), análises clínicas, e um acompanhamento de análises hematológicas. Como resultado obtido, o movimento de inspiração, expiração e platô, que compõe a mobilidade diafragmática, foi menor no grupo afetado do que nos controles. A fase de platô neste grupo (GRMD) é quase inexistente, indicando que o diafragma destes animais permanece em uma constante movimentação. A frequência respiratória foi 26,93 por minuto para o grupo controle e 15,5 por minuto para o grupo afetado, o qual se encontra abaixo do padrão normal. A movimentação dos m. intercostais apresentou expiração e inspiração respectivamente de: 8,99mm e 8,79mm para o grupo controle e 7,42mm e 7,40mm para o grupo afetado, mostrando que os indivíduos do grupo afetado tem uma menor expansão da caixa torácica e possivelmente um distúrbio na ventilação pulmonar. Conclui-se que a metodologia aplicada neste estudo é um meio viável de acompanhamento e avaliação do sistema respiratório no modelo GRMD, podendo ser adaptado futuramente em outros modelos experimentais da distrofia muscular.

Palavras-chave: Diafragma. Distrofia muscular. Músculo respiratório. Sistema respiratório. Ultrassonografia.

ABSTRACT

OLIVEIRA, D. M. **Use of ultrasonography as a method of evaluation of respiratory muscles in Golden Retriever dogs affected by muscular dystrophy (GRMD).**[Emprego da ultrassonografia metodo de avaliação dos músculos respiratórios em cães Golden Retriever normais e afetados pela distrofia muscular (GRMD)]. 2012. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) is a genetic neuromuscular disease, linked to chromosome X and is found in human males at a rate of 1 in every 3,500 newborns. This muscle disease is also described in other species such as mouse dystrophic (Mdx), golden retriever dogs with muscular dystrophy GRMD and cats with hypertrophic feline muscular dystrophy (HFMD), which present symptoms similar to DMD and for this reason has been widely used as experimental models for studies. Therefore the objective of this study is to evaluate the mobility of the diaphragm, the respiratory cycles and the expansion of the rib cage GRMD affected dogs and carriers, since respiratory failure the leading cause of death in affected individuals. For this study we used ultrasound evaluation of respiratory muscles (diaphragm and intercostal), clinical analysis, and monitoring of hematological analysis. As a result, the movement of inspiration, expiration and plateau, which comprises the diaphragmatic mobility was lower in the affected group than in controls. The plateau phase in this group (GRMD) is almost nonexistent, indicating that these diaphragm remains in a constant movement. Respiratory rate was 26.93 per minute for the control group and 15.5 minutes for the affected group, which is below the normal standard. The movimentation of the m. intercostal presented expiration and inspiration respectively: 8.99 mm and 8.79 mm for the control group and 7.42 mm and 7.40 mm for the affected group, showing that individuals in the affected group has a lower expansion of the rib cage and possibly a disturbance pulmonary ventilation. It is concluded that the methodology applied in this study is a viable means of monitoring and evaluation of the respiratory system in GRMD model and can be adapted in the future in other experimental models of muscular dystrophy.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática da ultra-estrutura da musculatura esquelética	24
Figura 2 – Canil experimental GRMD Brasil.....	33
Figura 3 – Aparelho de ultrassonografia da marca CHISON D600VET	36
Figura 4 – Imagem ultrassonografica da mobilidade diafragmática, apresentando componentes de um ciclo respiratório.....	40
Figura 5 - Imagem ultrassonografica da mobilidade diafragmática, apresentando componentes de um ciclo respiratório.....	40
Figura 6- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo controle C-1, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias	42
Figura 7- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo controle C-2, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias	43
Figura 8- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo controle C-3, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias	44
Figura 9- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo controle C-4, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias	45
Figura 10- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo afetado A-1, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias	46
Figura 11- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo afetado A-1, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias	47
Figura 12- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo afetado A-3, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias	48
Figura 13- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo afetado A-4, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias	49

Figura 14- Média da mobilidade diafragmática, avaliações da distância da mobilidade diafragmática de animais do grupo controle e afetados pela distrofia muscular, em diferentes posições	51
Figura 15 - Média da mobilidade diafragmática, avaliação na fase de inspiração de animais do grupo controle e afetados pela distrofia muscular, em diferentes posições	53
Figura 16 - Média da mobilidade diafragmática, avaliação da fase de expiração de animais do grupo controle e afetados pela distrofia muscular, em diferentes posições	55
Figura 17 - Média da mobilidade diafragmática, avaliação na fase de platô de animais do grupo controle e afetados pela distrofia muscular, em diferentes posições	57
Figura 18 - Média e desvio padrão da mobilidade diafragmática do grupo controle e afetado: avaliação da distância, inspiração, expiração e platô	59
Figura 19 – Média da frequência respiratória em segundos, comparando os parâmetros clínicos e o ciclo respiratório por ultrassom, no grupo controle e afetado: avaliação na fase de inspiração, expiração e platô	60
Figura 20 – Distribuição percentual das fases de inspiração, expiração, e platô entre os grupos controle e afetado	61
Figura 21- comprimento dos músculos intercostais durante a inspiração e expiração do grupo controle e afetado no canil GRMD Brasil.....	63
Figura 22 - Média e desvio padrão de parâmetros clínicos do grupo controle e afetados no canil GRMD Brasil	66
Figura 23 - Média e desvio padrão da circunferência torácica do grupo controle e afetado durante a inspiração e expiração	67

LISTAS DE TABELA

Tabela 1 – Animais Selecionados para a realização do experimento, do Canil GRMD Brasil / USP.....	32
Tabela 2 – Média e desvio padrão da mobilidade diafragmática do grupo controle e afetado: avaliação da distância, inspiração, expiração e platô	58
Tabela 3 – Comprimento médio (mm.) dos músculos intercostais durante a inspiração e expiração do grupo controle e afetado no canil GRMD Brasil.....	62
Tabela 4 – Média e desvio padrão do grupo controle: avaliação dos parâmetros clínicos.....	64
Tabela 5 – Média e desvio padrão do grupo controle: avaliação dos parâmetros clínicos.....	65
Tabela 6- Média e desvio padrão da análise laboratorial de hemácias, hemoglobina, hematócrito, leucócito e plaquetas de cães do grupo controle e afetado	68

LISTA DE ABREVIACOES

ATP.....	Trifosfato de adenosina
C/A	Controle / Afetado
C/E.....	Circunferencia/Expiraco
C/I.....	Circunferencia/Inspiraco
D.L.D.....	Decubito Lateral Direito
D.L.E	Decúbito Lateral Esquero
DLD	Decúbito lateral direito
DLE	Decúbito lateral esquerdo
DM.....	Distrofia Muscular
DMD.....	Distrofia Muscular de Duchenne
DNA	cido desoxirribonucleico
Est.....	Estaco
EUA.....	Estados Unidos da América
Exp.....	Expiratório
FC	Frequência Cardiac
FR	Frequência Respiratória
GA	Grupo Controle
GC.....	Grupo Afetado
GRMD	Golden Retriever Muscular Dystrophy
Insp	Inspiratório
m.	Músculo
M/C.....	Média do Comprimento
M/E.....	Média da Espessura
MHz.....	Mega-hertz
SONAR.....	SOUND Navigator and Ranging
SONAR.....	Sound Navigation and Ranging
T.....	Temperatura
TIFF.....	Tagged image file format
US.....	Ultrason

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1 Distrofia muscular	21
2.2 Sistema muscular esquelético.....	23
2.3 Complicações respiratórias	25
2.4 Modelo experimental	26
2.5 Ultrassonografia na medicina veterinária	27
3 OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo geral.....	30
3.2 Objetivos específicos	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1 Animais	32
4.2 Parâmetros de avaliação	33
4.3 Avaliação clínica.....	34
4.4 Ultrassonografia.....	35
4.5 Coletas de amostras e exames laboratoriais	36
4.6 Análise estatística.....	37
5 RESULTADO	39
5.1 Padronização da técnica	39
5.2 Avaliação da mobilidade diafragmática.....	41
5.2.1 Avaliação da mobilidade diafragmática individual.....	41
5.2.2 Média e desvio padrão das avaliações da mobilidade diafragmática do grupo controle e afetado	50
5.2.3 Média e desvio padrão final do grupo controle e afetado.....	58
5.3 Comparação da frequência respiratória e ciclos respiratórios... 59	
5.4 Média e desvio padrão da expansão dos músculos intercostais por US em modo B/M.....	62
5.5 Média e desvio padrão do grupo controle: avaliação dos parâmetros clínicos	63
5.6 Média e desvio padrão de valores hematológicos dos animais do grupo controle e afetado	67

6 DISCUSSÃO	70
7 CONCLUSÕES.....	76
8 REFERÊNCIAS	77

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Dentre as diversas enfermidades que podem afetar drasticamente a musculatura esquelética, a distrofia muscular progressiva é caracterizada por uma degeneração irreversível e progressiva da musculatura.

Em pacientes humanos acometidos por algum tipo de distrofia muscular, 60% têm ausência total do gene distrofina, são afetados pela Distrofia Muscular de Duchenne (DMD), e outros 40% dos pacientes apresentam uma redução na produção de distrofina, e são caracterizados como portadores da distrofia muscular de BECKER, uma enfermidade que induz a diferentes graus de sinais clínicos, porém menos agressivo (DAVIS, 1997; HOFFMAN; DRESSMAN, 2001).

A (DMD) em humanos é a mais grave e comum enfermidade já descrita que acomete o tecido muscular (ZATZ; VAINZOF; PASSOS-BUENO, 2000). Tem incidência de uma para cada três mil e quinhentos nascidos do sexo masculino. É uma enfermidade decorrente da ausência de uma proteína que compõe a membrana plasmática das células musculares, conhecida como distrofina. Esta proteína promove a ligação da F-actina, que compõe o miofilamento das células estriadas dos músculos esqueléticos (MICHELE; CAMPBELL, 2003; ZATZ; VAINZOF; PASSOS-BUENO, 2000).

Esta severa disfunção na musculatura esquelética, pode induzir a morte prematura dos indivíduos afetados pela síndrome (BOGDANOVICH et al., 2004). Porém os indivíduos que tem uma sobrevivência maior, por volta dos 10 anos de idade, pode apresentar incapacidade de andar (ZATZ; VAINZOF; PASSOS-BUENO, 2000), e com o passar do tempo, a enfermidade acomete a coluna vertebral, nervos, esterno e a caixa torácica, devido à escoliose. A alteração da caixa torácica leva a restrição da expansão torácica ocorrendo então uma diminuição das trocas gasosas (FINDER et al., 2004; ANDRÉ, 2007; BEZERRA; BORGES; BRUNHEROTTI, 2010).

No decorrer do tempo, a força e a vitalidade dos indivíduos com DMD começam a diminuir, a respiração torna-se superficial devido à fraqueza muscular que afeta também a musculatura acessória da respiração (KENNEDY; STAPLES; BROOK, 1995; BEZERRA; BORGES; BRUNHEROTTI, 2010). Esta falha de atividades dos músculos respiratórios acaba ocasionando a morte dos indivíduos por falência respiratória ou do músculo cardíaco por volta dos 25 a 30 anos de idade, (ZATZ; VAINZOF; PASSOS-BUENO, 2000, WEST; 2002).

Atualmente o sistema respiratório e os músculos acessórios da respiração, são os principais objetos de estudo na DMD, para tanto os pesquisadores dispõem de equipamentos adaptados para aferição da capacidade pulmonar, porém estas aferições são restritas para ensaios pré-clínicos em modelos experimentais como caninos GRMD (BERGMAN et al., 2002).

Similar a DMD, cães da raça Golden Retriever afetados pela distrofia muscular GRMD, sofrem por comprometimento dos músculos respiratórios, os quais afetam principalmente os músculos diafragma e intercostais, levando a uma insuficiência respiratória progressiva, a exemplo do que ocorre em humanos (AMBRÓSIO et al, 2008).

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a movimentação diafragmática e possíveis alterações dos músculos respiratórios por meio de ultrassonografia, no modelo canino GRMD. Portanto espera-se que este método, por não ser invasivo, futuramente possa ser empregado em todos os modelos de estudos da DMD, com o intuito de avaliar a eficácia de experimentos aplicados ao sistema respiratório.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura aborda a importância da distrofia muscular entre os humanos enfatizando a alteração que ocorre no músculo esquelético, as principais alterações fisiológicas que ocorrem no sistema respiratório, os modelos experimentais utilizados atualmente em pesquisas e a abordagem ultrassonográfica que pode ser utilizada para avaliar o sistema respiratório.

2.1 DISTROFIA MUSCULAR

A Distrofia muscular é um termo utilizado frequentemente para se referir as enfermidades que abrangem os músculos esqueléticos, as quais resultam em degeneração progressiva, regeneração limitada e fibrose das fibras que compoem a musculatura, formando um grupo de enfermidades de origem genética que gera uma perda crescente de fibras musculares decorrentes de mutação ou deleção de proteínas estruturais da musculatura (BERGMAN et al., 2002.; WALLACE; MCNALLY, 2008).

A Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) foi descoberta pelo médico neurologista francês Dr. Guillaime Benjamin Amand Duchenne em 1868, e foi identificada como uma enfermidade recorrente de progressiva perda dos movimentos, que inicialmente afetam os membros inferiores e posteriormente os superiores, além de um crescimento significativo do tecido conjuntivo e adiposo (EMERY, 1980).

O gene da distrofia muscular foi identificado a partir de meados da década de 80, este gene foi isolado em pacientes com deleção no cromossomo Xp21, a proteína correspondente ao gene foi denominada como distrofina. Ao passar dos anos a DMD foi também conhecida como distrofia muscular pseudo-hipertrófica, considerada a mais grave dentre as distrofias já relatadas na literatura (EMERY, 1980; NITRINI; BACHESCHI, 2003).

A distrofina é uma grande proteína do citoesqueleto que exerce grande importância na integridade estrutural do músculo durante o período de contração, predominantemente está presente na musculatura cardíaca e esquelética, e em menor proporção em outros tecidos como o encéfalo (SHELTON et al., 2001; BERGMAN et al., 2002). A ausência desta proteína se expressa através de um gene de caráter recessivo, localizado no cromossomo X que é transmitido pela mãe, que raramente apresenta manifestações clínicas da doença por ser

heterozigota para o gene. O descendente do sexo masculino XY de mães afetadas, poderá herdar o gene recessivo da doença em uma probabilidade de 50% (SHELTON et al., 2001; NIGUYEN et al., 2002).

Apesar da falta ou redução da distrofina estar estabelecida na DMD desde o nascimento, os sinais clínicos só incidem após alguns anos de vida (THIBAUD et al., 2007, SANTOS, 2008).

Durante a infância, meninos acometidos por esta enfermidade, se deparam com dificuldades para correr, e durante adolescência, dificuldade para subir escadas, o que sugere um estado avançado de acometimento muscular (EMERY, 2002).

Esta fraqueza é progressiva e o paciente poderá, por volta de 12 anos de idade precisar de cadeiras de rodas. Geralmente a causa da morte é comum por alterações cardio respiratórias. A perspectiva de vida se restringe aos 20 anos (DAVIS, 1997; EAGLE et al., 2002; EMERY, 2002).

Além disso, certo grau de atraso mental pode ser encontrado, em aproximadamente 30% dos garotos acometidos (EMERY, 2002).

Histologicamente é observada alteração no comprimento das fibras musculares, as quais se apresentam como fibras musculares necrosadas e com presença de fagócitos, além de ocorrer substituição dessas fibras por gordura e tecido conjuntivo. Com o tempo os músculos perdem a capacidade de regeneração e as miofibrilas são gradualmente substituídas por tecido conjuntivo, explicando o quadro clínico da atrofia muscular (CAROMANO, 1999; BOGDANOVICH et al., 2004; GAIAD, 2006).

As células musculares morrem de forma gradual, na mesma medida em que são submetidas à tensão pelas contrações musculares (JORDE, 2004; SANTOS, 2008).

Os estudos com a DMD têm expandido nos últimos anos. Alguns estudos evidenciam que o mecanismo da distrofina associado à glicoproteína tem um papel de sinalizador celular importante para os mecanismos de defesa celular e a regulação da sobrevivência ou morte das células musculares (MARQUES et al., 2004).

As características clínicas apresentadas tardiamente nas distrofias musculares são utilizadas para auxiliar no diagnóstico dos pacientes. No exame clínico é possível excluir sintomas neurológicos e avaliar sintomas resultantes de fraqueza da musculatura dos membros que futuramente podem comprometer a musculatura cardíaca e visceral (ROWLAND, 1997).

Para o diagnóstico é preciso realizar exames como: biópsia muscular, eletromiografia (EMG), dosagem de enzimas séricas, entre elas a (CPK), e testes para análise de DNA que identifica a ausência da distrofina (DIAMENT; CYPEL, 1996; SHELTON et al., 2011).

2.2 SISTEMA MUSCULAR ESQUELÉTICO

As células musculares são células especializadas capaz de transformar energia química em energia mecânica, cuja energia latente pode ser controlada pelo sistema nervoso. Estas células em conjunto formam os músculos que são considerados elementos anatômicos de caráter individual que cruzam uma ou mais articulações, através de seus movimentos contráteis podendo gerar movimentos distintos (RANDALL; BURGREN; FRENCH, 2000). Estes músculos englobam diversas funções, tais como locomoção, respiração, controle da pressão arterial, motilidade gástrica, movimentos peristálticos, assim como expressões corporais, reprodução e vocalização (ST. CLAIR, 1986; SANTOS, 2008).

As unidades celulares do músculo são classificadas como fibra muscular e podem ser do tipo estriado, cardíaco e liso (HERMANSON; EVANS, 1996).

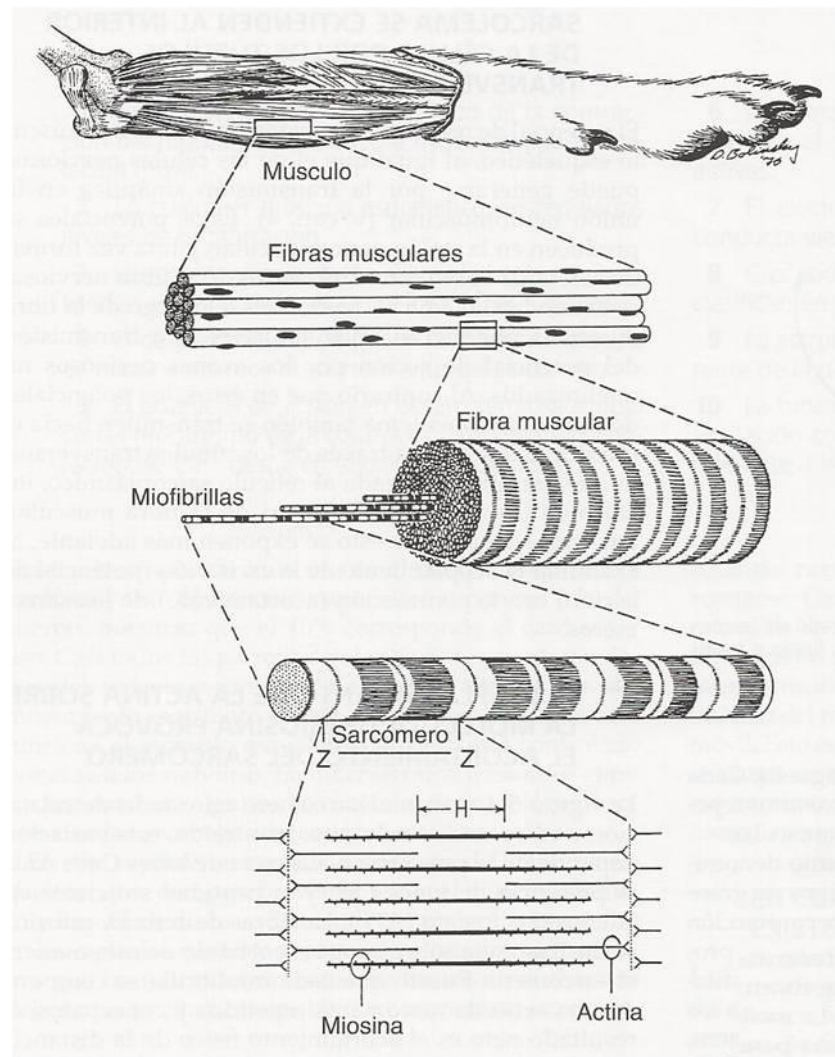
As células da musculatura esquelética apresentam uma forma alongada, que são altamente vascularizadas e inervadas por terminações sensitivas e motoras, do qual durante a sua atividade fisiológica em conjunto, formam uma unidade funcional e indivisível (KONIG; LIBICH, 2002).

O músculo esquelético é formado por feixes contráteis de filamentos cilíndricos contendo miofibrilas, que podem chegar até 30 cm. São envoltas por uma camada de tecido conjuntivo denominada de perimísio. Os feixes filamentosos possuem um grande envoltório de tecido conjuntivo denominado de epimísio, o qual tem a finalidade de manter as fibras musculares unidas, permitindo um maior potencial de contração muscular gerada por cada fibra (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Os músculos respiratórios diferem dos demais grupos musculares, principalmente pelo fato de seu controle ser em parte voluntário e em parte involuntário, sendo que estes são indispensáveis para manter satisfatoriamente a função ventilatória ao longo da vida (JARDIM, 1982; EMMERICH, 2001)

Entre estes músculos respiratórios, o diafragma é considerado o músculo mais importante, uma vez que, sua função corresponde por 70 % das atividades respiratórias. É constituído de duas cúpulas de ventre muscular (direita e esquerda) e um centro frênico constituído por uma aponeurose central (Figura 1). Esse músculo é do tipo plano e está localizado entre o tórax e o abdômen, disposto transversalmente na caixa torácica (COSTA, 1999; AZEREDO, 2002).

Figura 1 – Representação esquemática da ultra-estrutura da musculatura esquelética



Fonte: (CUNNINGHAN, 2003)

Azeredo (2002) acredita que a disfunção dos músculos respiratórios seja a mais importante alteração fisiomecânica, principalmente quanto a distúrbios da ventilação pulmonar, considerado como um dos principais fatores que causam a diminuição da força muscular.

Os músculos intercostais se subdividem em interno e externo, porém ambos são considerados músculos inspiratórios, exercendo grande função na expansão da caixa torácica durante a respiração (ZIN; ROCCO, 1999).

2.3 COMPLICAÇÕES RESPIRATÓRIAS

O sistema respiratório é responsável por captar e distribuir oxigênio por todo o organismo e remover o produto metabólico residual, conhecido como gás carbônico (BETHLEM, 2000; CUNINGHAN, 2003).

As alterações na musculatura esquelética devido a DMD podem ainda acometer a coluna vertebral, nervos, esterno e a caixa torácica, devido à escoliose. Com o tempo a escoliose acaba evoluindo para uma deformidade da caixa torácica, limitando sua capacidade de expansão. A restrição da expansão torácica, faz com que haja uma diminuição das trocas gasosas, deixando zonas pulmonares pouco desenvolvidas (FINDER et al., 2004; ANDRÉ, 2007; BEZERRA; BORGES; BRUNHEROTTI, 2010).

Em humanos, os músculos respiratórios também são afetados, culminando numa alteração drástica do sistema respiratório. Com o tempo a força e a vitalidade dos indivíduos começam a diminuir. A respiração torna-se rápida e superficial, devido à fraqueza muscular que afeta a musculatura acessória da respiração. As bases pulmonares se tornam pouco ventiladas, devido à falta de expansão. Este padrão respiratório alterado é denominado de ‘paradoxal’, e causa uma respiração ineficiente (KENNEDY; STAPLES; BROOK, 1995; BEZERRA; KOTZ, 2005; BORGES; BRUNHEROTTI, 2010).

Os músculos intercostais e abdominais auxiliam na efetividade da tosse, e quando comprometidos acabam dificultando esse mecanismo e por fim a expectoração de secreções, possibilitando o desenvolvimento de infecção pulmonar secundária. Em humanos durante o sono, a posição de decúbito dorsal ou ventral diminui a capacidade residual pulmonar devido uma desvantagem biomecânica da espécie (CONTESINE et al., 2011).

Com o tempo estas desordens respiratórias tornam os pacientes vulneráveis às atelectasias, infecções pulmonares e obstruções das vias aéreas por muco. Estas falhas de atividades dos músculos respiratórios acabam ocasionando a morte em pacientes com DMD (WEST; 2002).

Estudos realizados no Brasil apresentam dados comprobatórios em que 87,9 dos pacientes DMD, possuem precocemente o comprometimento respiratório, e uma hipoventilação acentuada (SANTOS, et al., 2006).

Uma grande parte dos pacientes DMD acaba entrando em óbito devido a atrofia dos músculos respiratórios antes mesmo de desenvolverem alterações cardíacas (SAMIEI, 2000).

2.4 MODELO EXPERIMENTAL

A convivência entre homens e animais ocorre dentre séculos, e esta relação estende de predatória a uma perfeita simbiose, onde animais contribuem com força de tração, segurança e como companhia. Os animais também auxiliam nas pesquisas, contribuindo de forma eficaz para o tratamento e até a cura de varias enfermidades (FAGUNDES, 2004).

A utilização de animais para realização de pesquisas se estende ao longo da história, e a forma com que estes animais são utilizados chama a atenção de grandes centros acadêmicos, gerando inúmeras discussões sobre a ética utilizada em pesquisas. Alguns profissionais buscam garantir a ética aplicada em seus experimentos, porém outros fecham os olhos ao pensar nestes animais, que em alguns experimentos contribuem de forma grandiosa, dando suas vidas em prol de resultados científicos (FAGUNDES, 2004; FEIJÓ et al., 2008).

A maioria (90%) dos animais utilizados em experimentos é de pequeno porte, sendo que os modelos experimentais mais utilizados são os ratos, hamsters e coelhos (OLIVEIRA, 2011).

A escolha de um modelo animal se baseia em uma regra simples de escolha, que deve amparar-se em argumentos fidedignos como convivência, adequação, facilidade de manejo e acomodações, evitando estresse, dor e condições sanitárias desfavoráveis ao animal (FAGUNDES, 2004).

Atualmente colônias de estudos com o modelo canino vêm sendo amplamente utilizado para estudar a distrofia muscular de Duchenne (DMD). O modelo canino GRMD (Golden Retriever Muscular Dystrophy) possui alto grau de similaridade a DMD, portanto é considerado o modelo experimental mais adequado para estudo desta enfermidade, devido a sua comparação em relação ao fenótipo e ao genótipo (COOPER et al., 1988; KORNEGAY et al., 1988; VALENTINE et al., 1988; CATELLI, 2006).

Atualmente este modelo canino vem sendo empregado para experimentos como: terapia com células-tronco, administração de medicamento e abordagem clinica de novos exames utilizando a ultra-sonografia como acompanhamento clinico minucioso destes animais (COOPER et al., 1988; KORNEGAY et al., 1988; VALENTINE et al., 1988; AMBRÓSIO et al., 2009; ARAÚJO, 2009; OLIVEIRA et al., 2011).

Em cães, a partir do nascimento pode-se identificar uma acentuada necrose muscular dos membros, do pescoço e do tronco (NGUYEN et al., 2002), a qual pode ser mais pronunciada no primeiro mês de vida, podendo declinar quando o animal atinge a maturidade (COZZI et al., 2001). Porém pode se desenvolver fibrose severa e contraturas das articulações

já aos seis meses de idade (KORNEGAY et al., 1994ab, VALENTINE et al., 1988; CATELLI, 2006).

Tanto em cães GRMD como em pacientes afetados pela DMD, observam-se ciclos repetidos de necrose, regeneração muscular, fraqueza, fibrose muscular, alterações de postura, falência respiratória e cardíaca, além de óbitos prematuros (VALENTINE et al., 2002).

As lesões patológicas dos músculos esqueléticos e cardíacos são potencialmente idênticas tanto no GRMD quanto nos DMD. No entanto, a impregnação gordurosa tem uma menor incidência no cão (VALENTINE et al., 1992; CATELLI, 2006).

2.5 ULTRASSONOGRAFIA NA MEDICINA VETERINÁRIA

Em 1956, a ultrassonografia foi empregada na medicina veterinária pela primeira vez nos EUA na Universidade do Colorado, onde pesquisadores mensuraram a espessura do lombo em bovinos de corte e, além disso, sua utilização foi indicada para avaliar a proporção dos músculos e gordura, as quais poderiam ser mais acuradas do que outras características (WILSON 1992; SEOANE, 2011).

Em 1966, a US passou a ser utilizado na medicina veterinária para diagnosticar e identificar a gestação em caprinos da raça Boher. Neste experimento foi utilizado um transdutor transretal de 7,5 MHz que permitiu o diagnóstico de gestação e posteriormente, foram observados os batimentos cardíaco-fetal utilizando um transdutor de 3,5 MHz (SEOANE, 2011).

Em 1990 o Prof. Dr. Franklin de Almeida Steirman da Faculdade de Medicina Veterinária FMVZ-USP, com o auxílio do Dr. Masao Iwasaki, conseguiram a doação de um aparelho de ultrassonografia com o Prof. Dr. Álvaro Eduardo de Magalhães, responsável pela Disciplina de radiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, iniciando a modalidade de diagnóstico por imagem na instituição FMVZ-USP (CARVALHO, 2004; SEOANE, 2011).

Atualmente a ultrassonografia vem sendo utilizada principalmente para o diagnóstico clínico (CARVALHO, 2004).

A ultrassonografia é um método não invasivo que pode fechar diagnósticos que antes só eram possíveis através de laparoscopia exploratória. Seu uso permite diagnosticar enfermidades que não são visíveis e que não podem ser facilmente palpadas. Seu exame auxilia no diagnóstico de urolitíase vesical e renal, neoplasias em órgãos parenquimatosos,

identificação de corpos estranhos e localização de líquido em cavidade abdominal e torácica (OLIVEIRA et al., 2011.; OLIVEIRA et al.; 2012).

Além da ultrasonografia outro método como a eletromiografia pode ser utilizado para detectar a produção de potenciais de ação de fibras musculares durante o período de contração. Porém por meio de imagens ultrassonográficas durante a contração muscular, podem-se notar mudanças no contorno e na geometria dos músculos, permitindo assim o registro da alteração e da espessura muscular (FERREIRA; FERREIRA; HODGES, 2004; TEYHEN et al., 2007).

Hodges et al. (2003), conduziu um estudo no qual observou um aumento na espessura dos músculos abdominais durante a contração isométrica dos mesmos, além de uma excelente correlação entre o aumento da espessura do m. transverso abdominal e do m. oblíquo interno do abdômen.

A ultrasonografia é comumente utilizada em tecidos moles, assim como para avaliação do sistema locomotor (músculos, tendões e ligamentos). Dos elementos que compõe o sistema musculo esquelético, o musculo é a estrutura que fornece um maior número de informação (CARVALHO, 2004).

Na ultrasonografia, os músculos são facilmente observados, sendo que as indicações clínicas para este procedimento incluem: alterações inflamatórias, degenerativas e traumáticas (GREEN, 1996).

Para melhor avaliar as alterações musculares e tendíneas, devem ser considerados alguns critérios avaliativos, como localização anatômica, tamanho, forma da lesão; padrão focal ou difuso; contornos e delimitações com tecido adjacente; ecogenicidade (hipoecogênica ou hiperecogênica); distribuição dos ecos homogênea ou heterogênea (CARVALHO, 2004; OLIVEIRA et al., 2012).

A US de musculatura esquelética é uma modalidade pouco conhecida no meio Veterinário, porém vem sendo utilizado para melhorar a valiação do sistema músculo esquelético de equinos, fornecendo diagnósticos nos casos de rupturas ou laceração tendíneas (CARVALHO, 2004). Atualmente estudos abordam a modilidade diafragmática, com a promessa de ser mais um parâmetro para ser avaliado pela US (OLIVEIRA et al., 2011; GOMIDE et al., 2012).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar e padronizar os parâmetros ultrassonográficos da musculatura esquelética que auxilia no sistema respiratório (diafragma e mm. intercostais) de cães GRMD afetados e portadores, com o intuito de que este método possa ser adaptado, em todos os modelos de estudos da DMD.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a mobilidade do diafragma, identificando possíveis alterações no ciclo respiratório como: distância, inspiração, expiração e platô.
- Avaliar possíveis alterações da espessura em mm. dos músculos intercostal interno e externo, através da ultrassonografia em modo B/M, durante a inspiração e expiração.
- Aferir dados morfométricos do tórax: circunferência da caixa torácica durante a inspiração e expiração, comprimento e espessura do tórax.

MATERIAIS E METÓDO

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para esta pesquisa os materiais e métodos foram subdivididos em tópicos detalhadamente.

4.1 ANIMAIS.

Foram utilizados oito animais, sendo quatro cães (três machos e uma fêmea) da raça Golden Retriever (GRMD), afetados pela distrofia muscular, e quatro cães fêmeas Golden Retriever portadores da distrofia muscular, porém não afetadas.

Os cães utilizados no experimento possuem idade variando entre três e cinco anos de idade (Tabela 1).

Estes animais foram submetidos a exame de genotipagem, realizado pelo Centro de Estudo do Genoma Humano, da Universidade de São Paulo.

Todos os animais utilizados na pesquisa são provenientes do canil GRMD - Brasil, localizado no setor de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), campus de São Paulo, com autorização do comitê de bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo/Campus capital (protocolo n. 2609/2012).

Estes animais são mantidos em condições adequadas e de cuidados médicos veterinários, alimentação, higiene e recreação.

Os critérios para inclusão de animais na pesquisa foi a disponibilidade de animais afetados dentro da faixa etária estabelecida.

Tabela 1 – Animais Selecionados para a realização do experimento, do Canil GRMD Brasil / USP

Grupo	Animais	Data de nascimento	Peso
1 (Controle)	C 1 (Akira)	11/05/2007	26,60
	C 2 (Laika)	29/10/2007	31,30
	C 3 (Angel)	19/11/2009	27,70
	C 4 (Kissara)	29/10/2007	28,50
2 (afetado)	A 1 (Totó)	17/09/2007	17,88
	A 2 (Gaspar)	13/09/2007	18,24
	A 3 (Liz)	08/09/2007	16,38
	A 4 (Monstra)	17/09/2007	19,50

Fonte: (OLIVEIRA, 2012)

Figura 2 – Canil experimental GRMD Brasil



4.2 PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO

Animais controle e afetados selecionados para a pesquisa foram avaliados clinicamente (Quadro 2) e mensalmente no período de março a junho de 2012. A avaliação clínica avaliou: peso, frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, mensuração da cavidade torácica (circunferência e espessura).

A frequência cardíaca aferida através de um estetoscópio da marca LITTMAN, onde foi efetuada a auscultação por 60 segundos registrando o número de movimentos por minuto (mov/min).

As frequências respiratórias foram obtidas pela observação dos movimentos do gradil costal durante 60 segundos (mov/min).

As temperaturas retais (T°) foram aferidas com um termômetro digital de haste flexível (Pro-Check - ONBO Eletronics, EUA) inserido cerca de dois centímetros na parte distal do reto dos animais, por dois minutos.

A T° ambiente foi estabelecida á 20° , através de um ar condicionado da marca Continental.

A altura e espessura da caixa torácica foram mensuradas através de um espessômetro de alumínio de 40 cm. Da marca Konex. A circunferência da caixa torácica foi avaliada com o auxílio de uma fita métrica.

Estes dados foram aferidos, a fim de acompanhar a evolução de alterações musculares e sua quantificação.

4.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Em cada avaliação, os animais passaram por exame clínico (Quadro 1), com intuito de diagnosticar alterações fisiológicas.

Quadro 1 - Sumário dos parâmetros clínicos analisados em cães controle e afetado (GRMD)

Análises realizadas			
Parâmetros Analisados	Exame clínico	Ultrasson (US)	Sangue
Avaliação Clínica	-Peso, -Frequência cardíaca, -Frequência respiratória, -T° corpórea, -Altura, -Espessura -Circunferência da caixa torácica.	-	-
Mobilidade diafragmática	-	-Distância da onda -Inspiração -Expiração -Platô	-
Espessura do mm. Intercostais	-	-Distancia na inspiração e expiração	-
Hemograma (hemo)	-	-	-Hemácias -Hemoglobina -Hematócrito -Leucócitos

4.4 ULTRASSONOGRAFIA

A mobilidade do diafragma foi avaliada através do deslocamento craniocaudal da linha diafragmática, utilizando-se um aparelho de ultrassonografia da marca CHISON modelo D600VET, acoplado com um transdutor linear (Figura 3), do canil – GRMD - Brasil da Faculdade de Medicina Veterinária de Zootecnia da Universidade de São Paulo / Campus Capital.

Foi utilizado um transdutor convexo de 5 MHz posicionado na região xifóide, com incidência perpendicular ao eixo craniocaudal, na direção da linha diafragmática. A seguir, foi identificada a linha diafragmática no campo de visão em modo B/M, registrando a inspiração e a expiração. O deslocamento craniocaudal desses pontos foi considerado como o valor da mobilidade diafragmática (Figura 6 a 13), onde avaliou-se a distância, o movimento de inspiração, expiração e o estado de Platô.

A mobilidade do diafragma foi avaliada em decúbito lateral direito (DLD), decúbito lateral esquerdo (DLE) e em estação. A ordem de avaliação das posturas foi definida através de randomização.

Todos os exames foram interpretados por um único avaliador. A interpretação das imagens foi realizada durante o exame, pela observação dinâmica das alterações (qualitativas e quantitativas) dos músculos com os animais em posições variadas, para uma melhor visualização e avaliação.

Foram realizadas fotodocumentação e análises estatísticas para estabelecer graus de hipertrofia ou atrofia muscular.

Figura 3 – Aparelho de ultrassonografia da marca CHISON D600VET



4.5 COLETAS DE AMOSTRAS E EXAMES LABORATÓRIAS.

Foram realizadas coletas de dois ml de sangue a cada 30 dias para a realização do hemograma, a coleta foi realizada por punção venosa (MATOS; MATOS, 1988), através da veia jugular e/ou radial.

Para a coleta, utilizou-se tubos vacutainer, de 13x75mm, descartáveis, de vidro, com tampa e anticoagulante EDTA (Ácido Etilenediaminotetracético, sal dissódico) a 10% em solução aquosa (KERR, 2003). Foram utilizadas agulhas de 25x8, descartáveis, para coleta do sangue. Os tubos foram encaminhados ao Laboratório de Análises do HOVET da Universidade de São Paulo.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para auxiliar nas análises foram utilizadas medidas e cálculos aritméticos, calculando a média de cada amostra e a média de grupo.

Os resultados obtidos foram analisados pela avaliação de média e desvio padrão das amostras.

Para validação dos dados de frequência respiratória, foi realizada a somatória da inspiração, expiração e platô, fornecida em segundos pelo aparelho de ultrassonografia. Em seguida, realizou-se o cálculo de números de ciclos por minuto, segundo a equação abaixo.

$$\text{Inspiração} + \text{expiração} + \text{platô} = X$$
$$60 \text{ segundos}/X$$

5 RESULTADOS

Os resultados encontram se dividido nos seguintes tópicos: padronização da técnica, avaliação da mobilidade diafragmática, comparação da frequência respiratória e ciclo respiratórios, média e desvio padrão da expansão dos músculo intercostais por US em modo B/M, média e desvio padrão do grupo controle, avaliação dos parâmetros clínicos e média e desvio padrão de valores hematológicos dos animais do grupo controle e afetado.

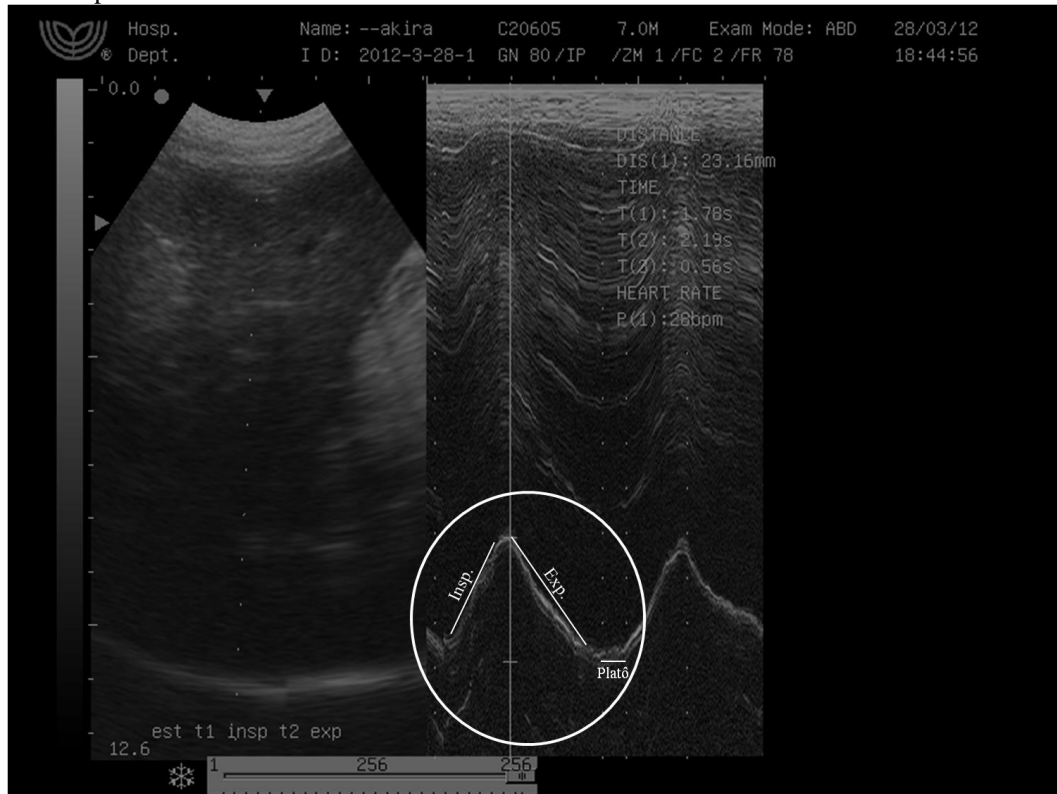
5.1 PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA

Antes da realização do experimento, foram realizados diversos estudos clínicos a fim de padronizar os métodos de coleta de amostras para ambos os grupos.

Foi realizado um teste de controle de temperatura e luminosidade do ambiente, para estabilizar os ciclos respiratórios dos animais do grupo controle e afetado. Para tanto se utilizou de um ambiente desprovido de sons e luminosidade com temperatura média de 20° graus.

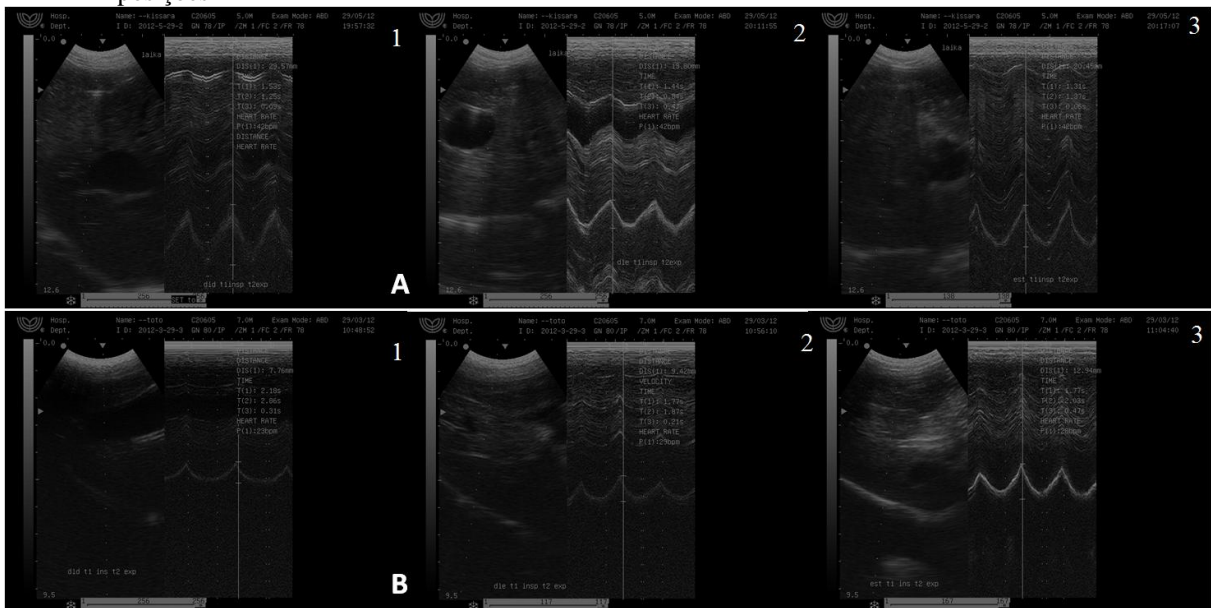
As imagens analisadas pelo ultra-som do grupos controle e afetado (Figuras 4 a 5) foram obtidas em diferentes posições: decúbito lateral direito, decúbito lateral esquerdo e em estação.

Figura 4 - Imagem ultrassonográfica da mobilidade diafragmática, apresentando componentes de um ciclo respiratório



Legenda: (Insp.) inspiração; (Exp.) expiração e a fase de (Platô) que representa o repouso entre um ciclo e outro. O círculo representa a uma mobilidade diafragmática, que corresponde a fase de um ciclo respiratório do animal.

Figura 5 - Imagem ultrassonográfica da mobilidade diafragmática do grupo controle e afetado, em diferentes posições



Legenda: 1. (D.L.D) decúbito lateral direito; 2. (D.L.E) decúbito lateral esquerdo; 3.(Est.) animal em estação. A) representa uma sequência de imagens ultra-sonográficas de um animal do grupo controle. B) representa uma sequência de imagens ultrassonográficas de um animal do grupo afetado. Notar diferenças do padrão respiratório de cada grupo.

5.2 AVALIAÇÃO DA MOBILIDADE DIAFRAGMÁTICA

Os indivíduos avaliados neste estudo, passaram por quatro avaliações da mobilidade diafragmática, com intervalo de trinta dias no decorrer do experimento.

5.2.1 Avaliação da mobilidade diafragmática individual.

Para uma avaliação precisa, os dados de cada animal foram expostos em gráficos para análise da alteração da mobilidade diafragmática individual durante o experimento (Figuras 6 a 13).

Os dados apresentaram variação da mobilidade diafragmática nas seguintes fases: distância, inspiração, expiração e platô apresentado de maneira individual de ambos os grupos controle e afetado (Figura de 6 a 13).

Avaliando todas as posições, pode-se observar que a distância da mobilidade diafragmática foi maior no grupo controle e menor no grupo afetado. A distância diafragmática do animal na posição de estação é maior em ambos os grupos, seguido da amplitude diafragmática do animal em cúbito lateral direito (DLD), que é maior quando comparado ao animal em decúbito lateral esquerdo (DLE).

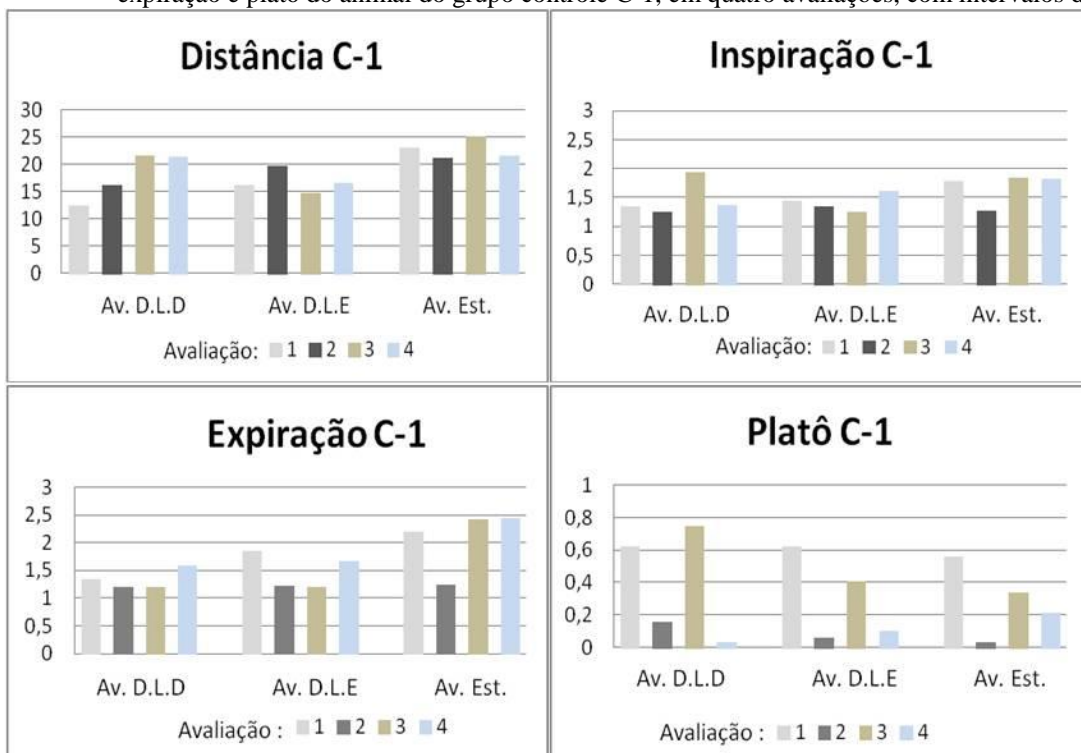
A inspiração do grupo afetado foi maior na posição de DLE (Figura 6 a 13), em estação e menor em DLD. No grupo controle a inspiração foi maior nos animais em estação, seguido por DLE e menor nos animais na posição de DLD. Já no grupo controle a inspiração foi maior nos animais em estação, seguido por DLE e menor nos animais na posição de DLD.

A expiração diafragmática dos animais do grupo afetado foi maior do que o grupo controle, em DLE, seguido por animais em DLD e menor em estação. No grupo controle a inspiração foi maior nos animais em estação, seguido por DLE e menor nos animais em DLD.

A fase de platô apresentada através da mobilidade diafragmática dos animais do grupo afetado foi menor quando comparado ao grupo controle. A fase de platô do grupo afetado é menor nos animais em estação, seguido por animais em DLD e menor nos animais em DLE.

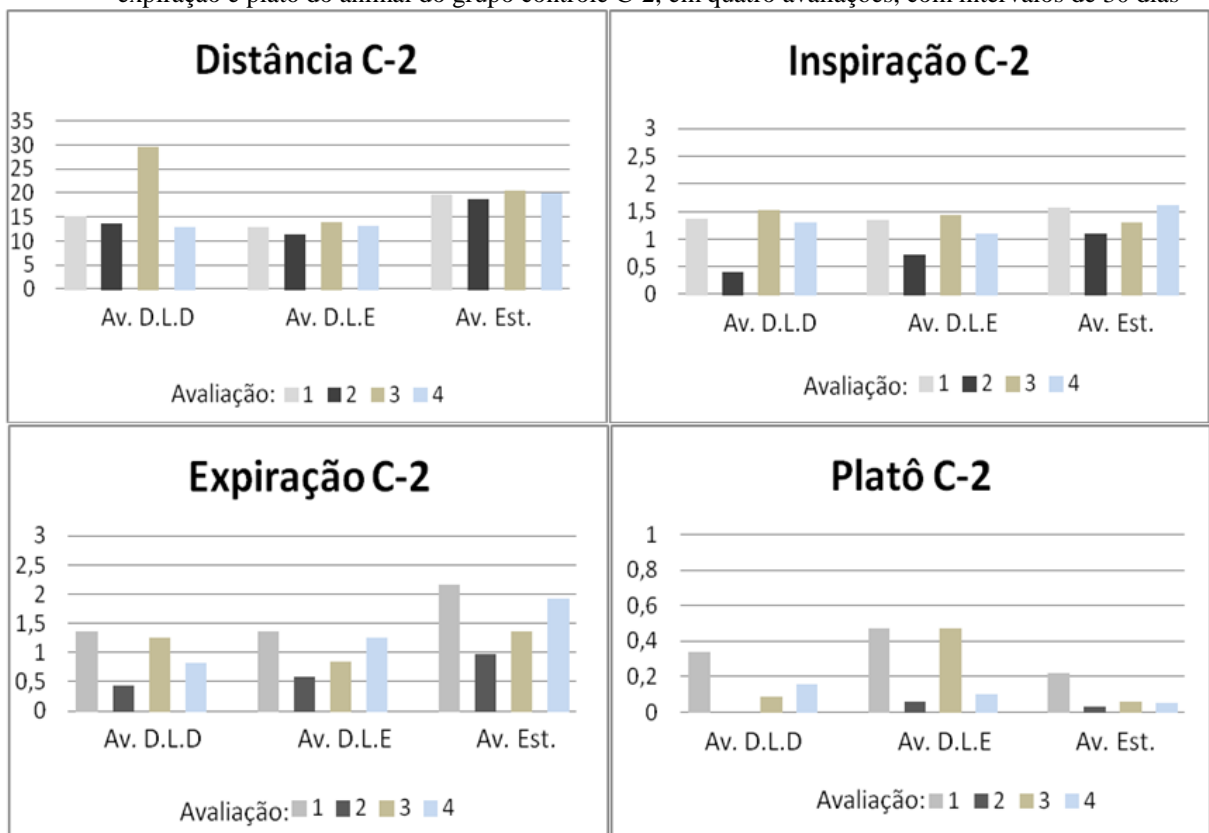
Já no grupo controle o platô foi menor nos animais em DLE, DLD, seguido pela posição dos animais em estação.

Figura 6- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo controle C-1, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias



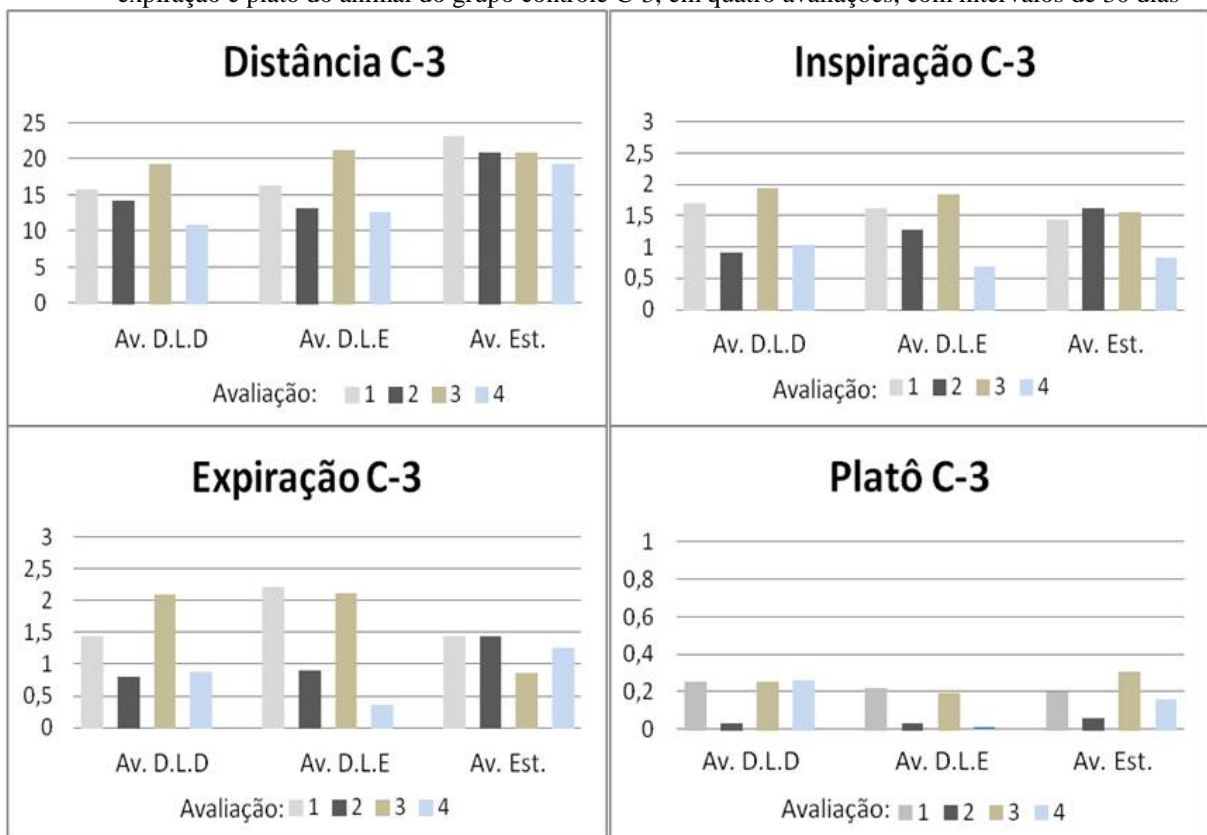
Legenda: (C-1) Animal 1 do grupo controle; (Av. D.L.D) avaliação em decúbito lateral direito; (D.L.E) avaliação em decúbito lateral esquerdo; (Est.) avaliação em estação.

Figura 7- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo controle C-2, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias



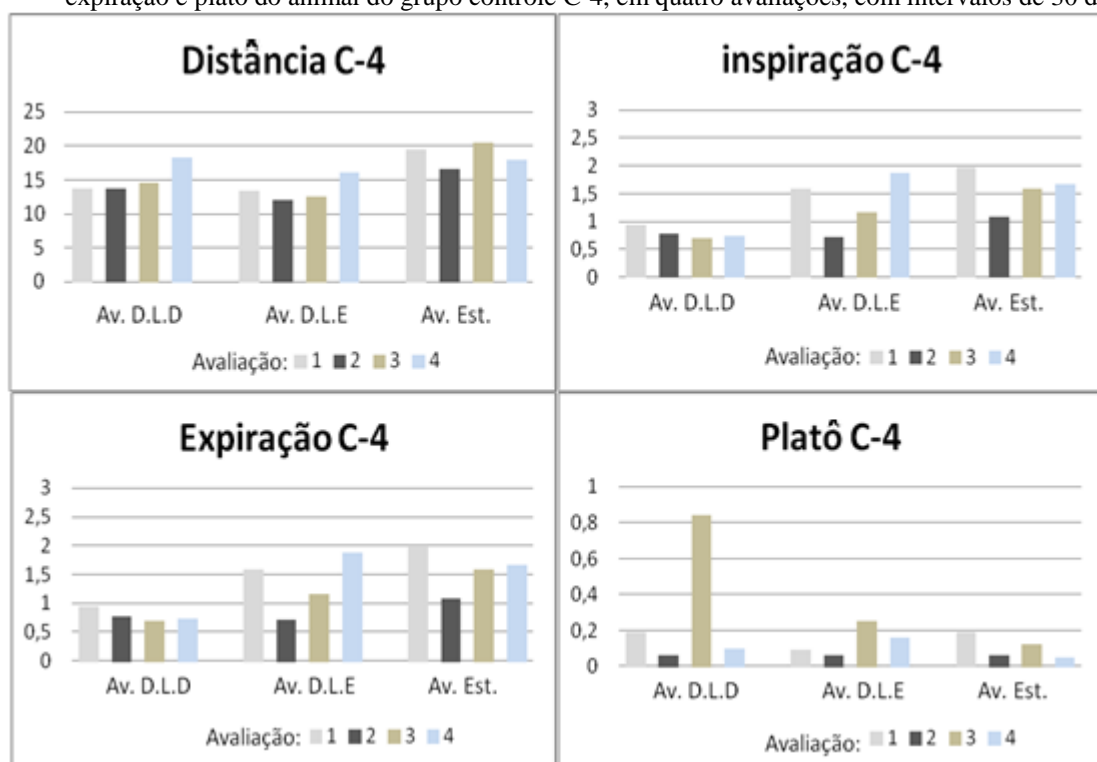
Legenda: (C-2) Animal 2 do grupo controle (Av. D.L.D) avaliação em decúbito lateral direito; (D.L.E) avaliação em decúbito lateral esquerdo; (Est.) avaliação em estação.

Figura 8- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo controle C-3, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias



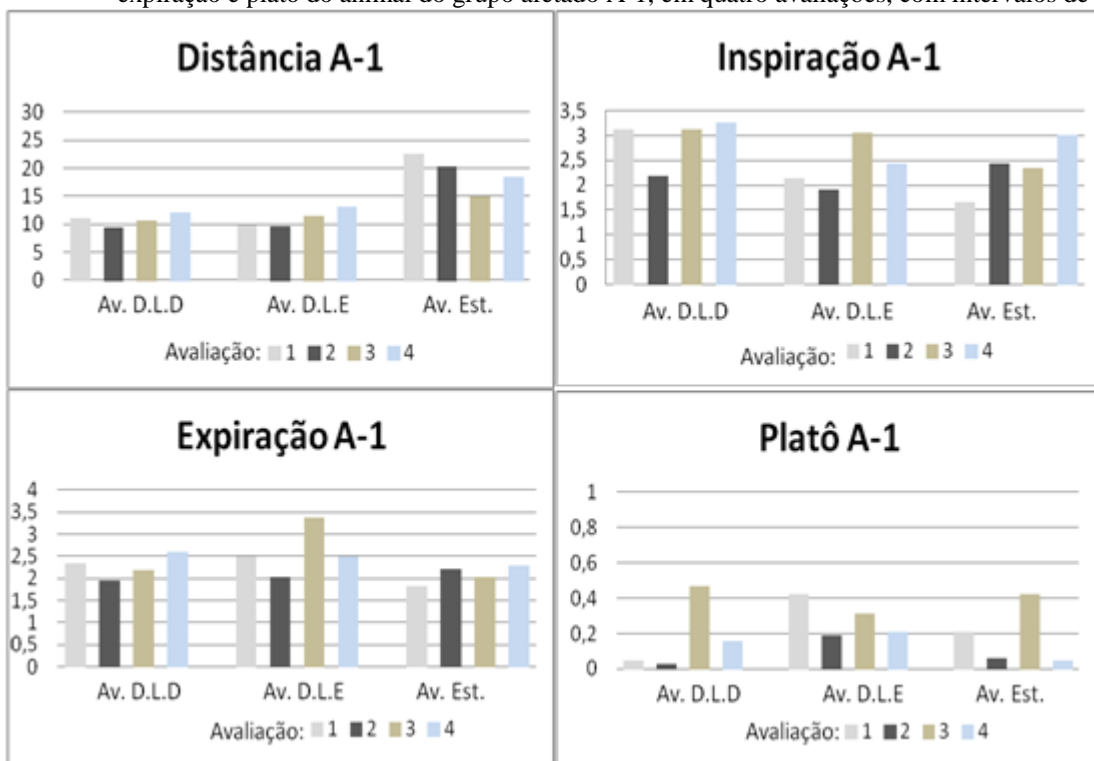
Legenda: (C-3) Animal 3 do grupo controle (Av. D.L.D) avaliação em decúbito lateral direito; (D.L.E) avaliação em decúbito lateral esquerdo; (Est.) avaliação em estação.

Figura 9- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo controle C-4, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias



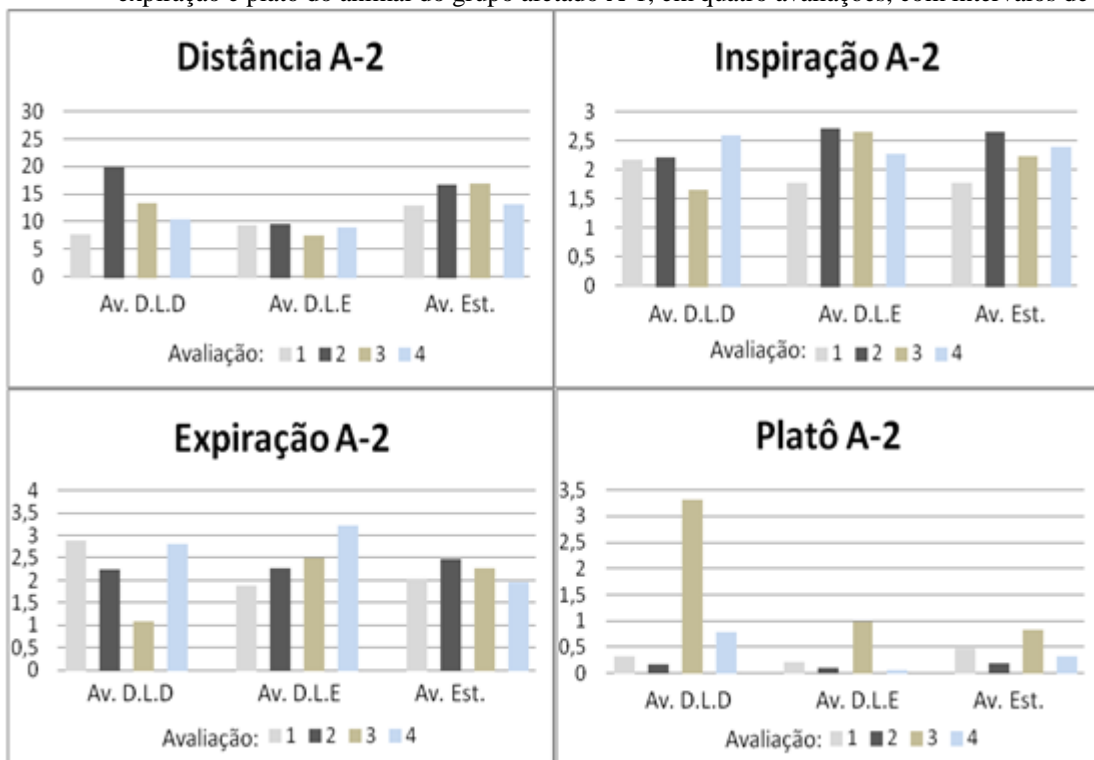
Legenda: (C-4) Animal 4 do grupo controle (Av. D.L.D) avaliação em decúbito lateral direito; (D.L.E) avaliação em decúbito lateral esquerdo; (Est.) avaliação em estação.

Figura 10- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo afetado A-1, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias



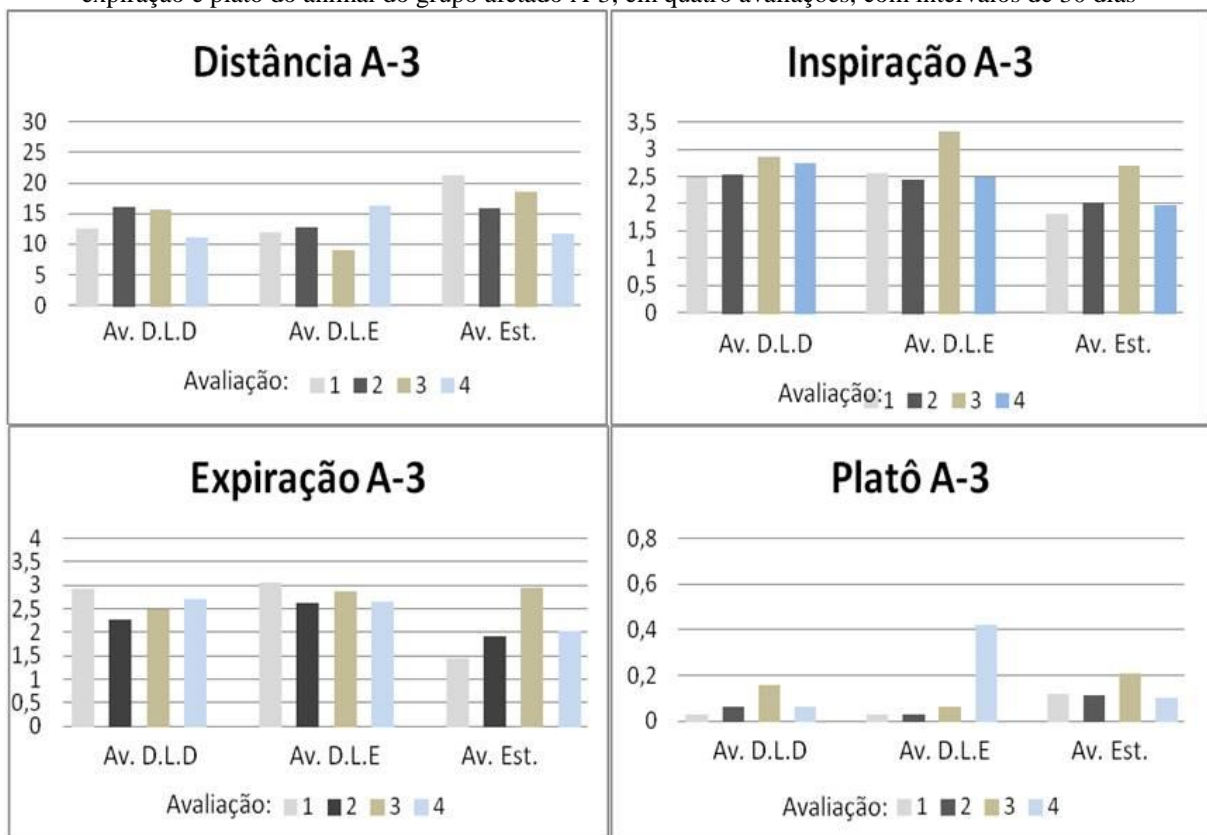
Legenda: (A-1) Animal do grupo afetado; (Av. D.L.D) avaliação em decúbito lateral direito; (D.L.E) avaliação em decúbito lateral esquerdo; (Est.) avaliação em estação.

Figura 11- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo afetado A-1, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias



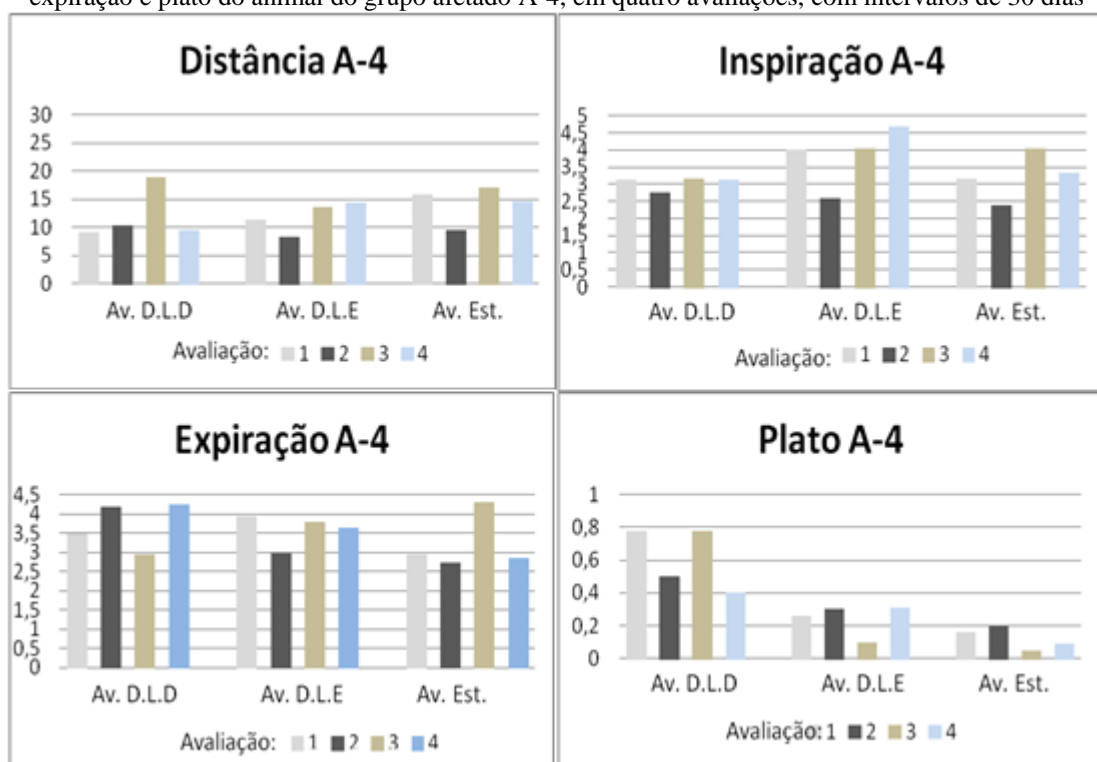
Legenda: (A-2) Animal do grupo afetado; (Av. D.L.D) avaliação em decúbito lateral direito; (D.L.E) avaliação em decúbito lateral esquerdo; (Est.) avaliação em estação.

Figura 12- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo afetado A-3, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias



Legenda: (A-2) Animal do grupo afetado; (Av. D.L.D) avaliação em decúbito lateral direito; (D.L.E) avaliação em decúbito lateral esquerdo; (Est.) avaliação em estação.

Figura 13- Avaliação individual da mobilidade diafragmática: aferição dos padrões de distância, inspiração, expiração e platô do animal do grupo afetado A-4, em quatro avaliações, com intervalos de 30 dias



Legenda: (A-4) Animal do grupo afetado; (Av. D.L.D) avaliação em decúbito lateral direito; (D.L.E) avaliação em decúbito lateral esquerdo; (Est.) avaliação em estação.

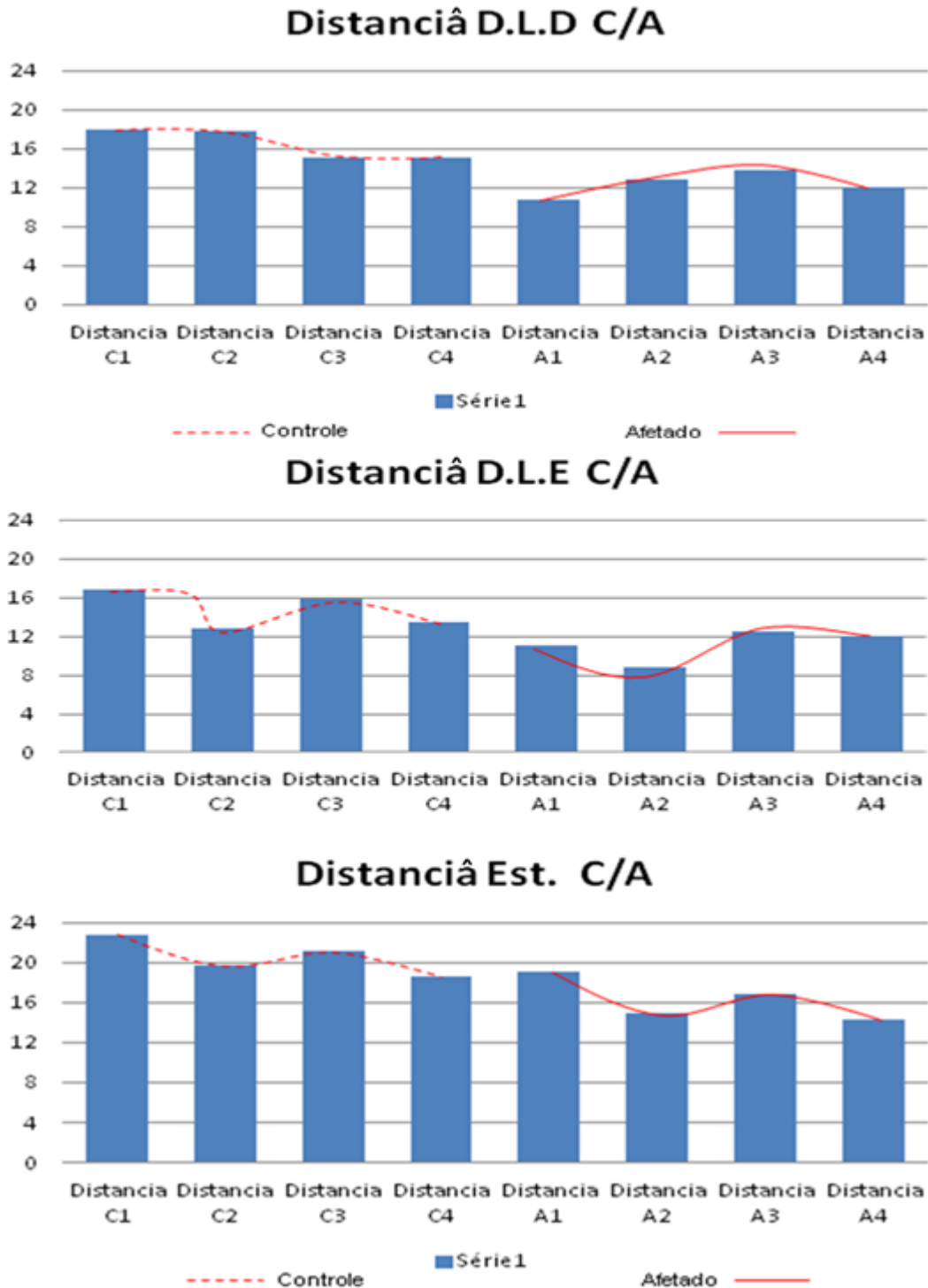
5.2.2 Avaliações da mobilidade diafragmática do grupo controle e afetado.

A média da distância da mobilidade diafragmática de ambos os grupos estão apresentadas nas posições: decúbito lateral direito, decúbito lateral esquerdo e em estação, nas quatro avaliações (Figura 14 e Tabela 2).

Os dados apresentam variações da amplitude diafragmática (distância) em ambos os grupos, onde a distância diafragmática dos animais em estação é maior em ambos os grupos, seguido da distância diafragmática do animal em decúbito lateral direito, que é maior quando comparado ao animal em decúbito lateral esquerdo.

Em todas as posições a distância da mobilidade diafragmática foi maior no grupo controle e menor no grupo afetado de ambos os grupos.

Figura 14- Média da mobilidade diafragmática, avaliações da distância da mobilidade diafragmática de animais do grupo controle e afetados pela distrofia muscular, em diferentes posições



Legenda: (C) Animais do grupo controle, (A) afetados pela distrofia muscular, (D.L.D) decúbito lateral direito; (D.L.E) decúbito lateral esquerdo; (Est.) estação.

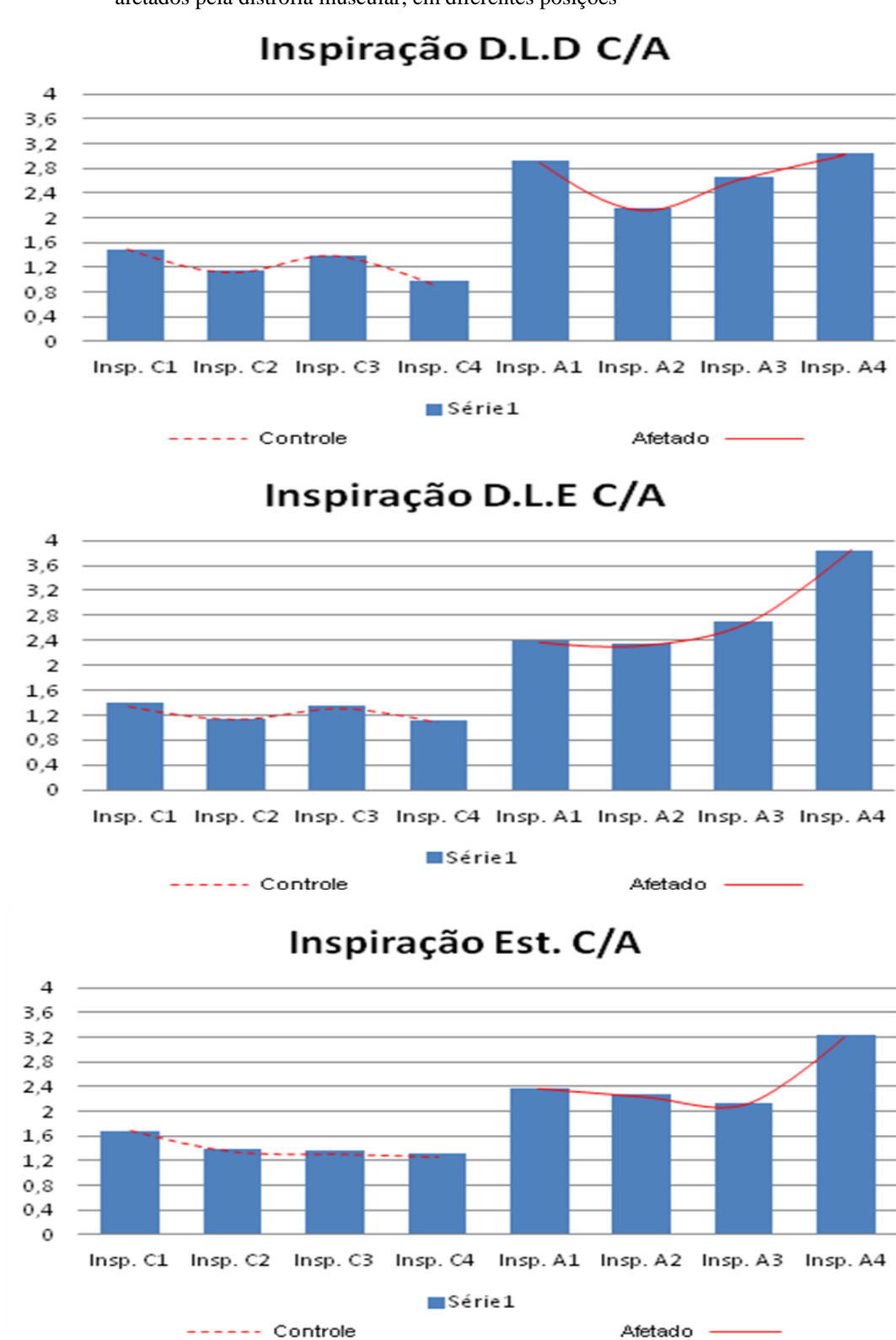
Os dados apresentados na figura 15 e Tabela 2 correspondem às variações das médias da inspiração em ambos os grupos, tanto nas posições decúbito lateral direito, decúbito lateral esquerdo e em estação nas quatro avaliações.

A inspiração dos animais do grupo afetado foi maior do que o grupo controle.

No grupo afetado, a média da inspiração foi maior em decúbito lateral esquerdo, em estação e menor em decúbito lateral direito.

Já no grupo controle a inspiração foi maior nos animais em estação, seguido por decúbito lateral esquerdo e menor nos animais em decúbito lateral direito.

Figura 15 - Média da mobilidade diafragmática, avaliação na fase de inspiração de animais do grupo controle e afetados pela distrofia muscular, em diferentes posições



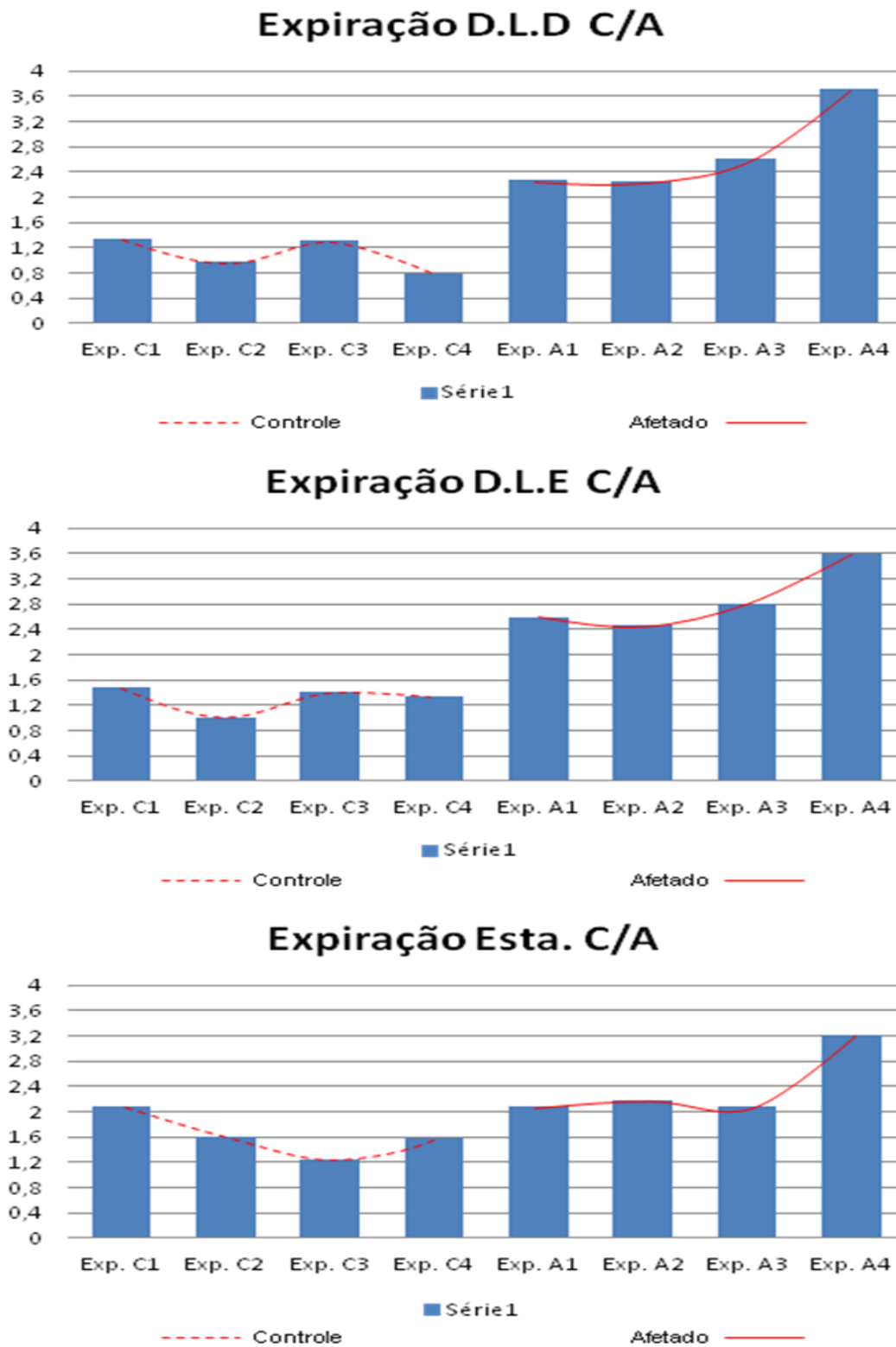
Legenda: (C) Animais do grupo controle, (A) afetados pela distrofia muscular (D.L.D) decúbito lateral direito; (D.L.E) decúbito lateral esquerdo; (Est.) estação.

Os dados apresentados na figura 16 e tabela 2 mostram as variações das médias da expiração nos dois grupos, tanto nas posições decúbito lateral direito, decúbito lateral esquerdo e em estação nas quatro avaliações.

A expiração diafragmática dos animais do grupo afetado foi maior do que o grupo controle, também foi maior nos animais em decúbito lateral esquerdo, seguido por animais em decúbito lateral direito e menor em estação.

Já no grupo controle a expiração foi maior nos animais em estação, seguido por decúbito lateral esquerdo e menor nos animais em decúbito lateral direito.

Figura 16 - Média da mobilidade diafragmática, avaliação da fase de expiração de animais do grupo controle e afetados pela distrofia muscular, em diferentes posições



Legenda: (C) Animais do grupo controle, (A) afetados pela distrofia muscular (D.L.D) decúbito lateral direito; (D.L.E) decúbito lateral esquerdo; (Est.) estação.

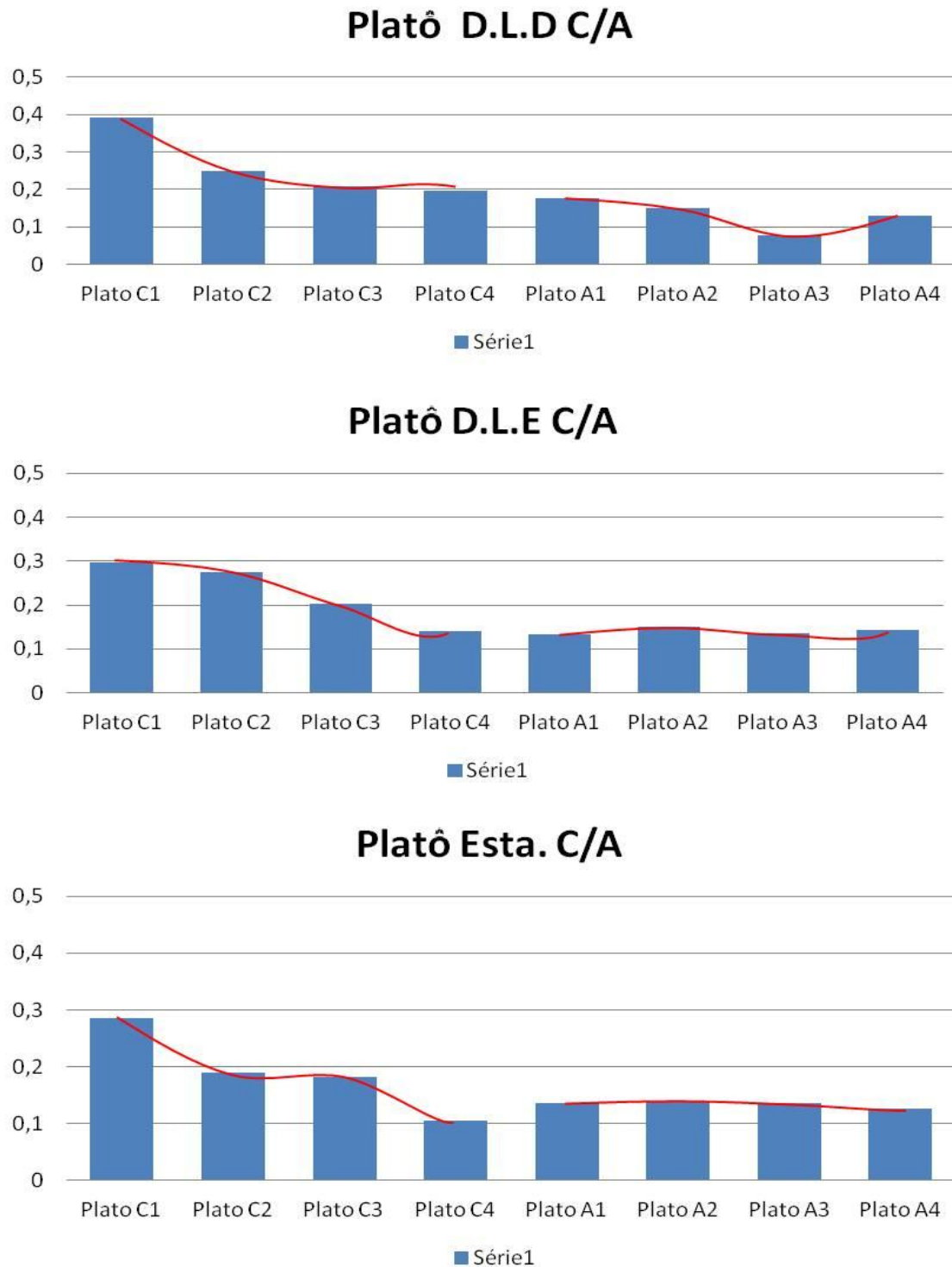
Os dados apresentam variações das médias de platô nos dois grupos (Figura 17 e Tabela 2), tanto nas posições DLD, DLE e estação.

A fase de platô apresentada através da mobilidade diafragmática dos animais do grupo afetado compreende a fase repouso ou transição entre um ciclo e outro, e foi menor no grupo afetado quando comparado ao grupo controle.

A média do platô do grupo afetado é menor nos animais em estação, seguido por animais em decúbito lateral direito e menor nos animais em decúbito lateral esquerdo.

Já no grupo controle o platô foi menor nos animais em decúbito lateral esquerdo, decúbito lateral direito seguido pela posição dos animais em estação.

Figura 17 - Média da mobilidade diafragmática, avaliação na fase de platô de animais do grupo controle e afetados pela distrofia muscular, em diferentes posições



Legenda: (C) Animais do grupo controle, (A) afetados pela distrofia muscular (D.L.D) decúbito lateral direito; (D.L.E) decúbito lateral esquerdo; (Est.) estação.

Tabela 2 – Média e desvio padrão da mobilidade diafragmática do grupo controle e afetado: avaliação da distância, inspiração, expiração e platô

Média e desvio padrão da Dist., Insp., Exp. e platô				
Grupo controle				
	M.Dist	M.Insp	M.Exp	M. Platô
C1	19,18	1,52	1,63	0,32
C2	16,75	1,23	1,20	0,17
C3	17,30	1,370	1,31	0,16
C4	15,72	1,37	1,23	0,18
M. grupo	17,24±1,26	1,37±0,10	1,34±0,17	0,21±0,07
Grupo afetado				
A1	13,61	2,56	2,32	0,21
A2	12,17	2,26	2,30	0,64
A3	14,40	2,50	2,49	0,12
A4	11,98	3,37	3,50	0,33
Desv	1,01	0,42	0,50	0,20
M.Grupo	13,04±1,01	2,67±0,42	2,65±0,50	0,32±0,20

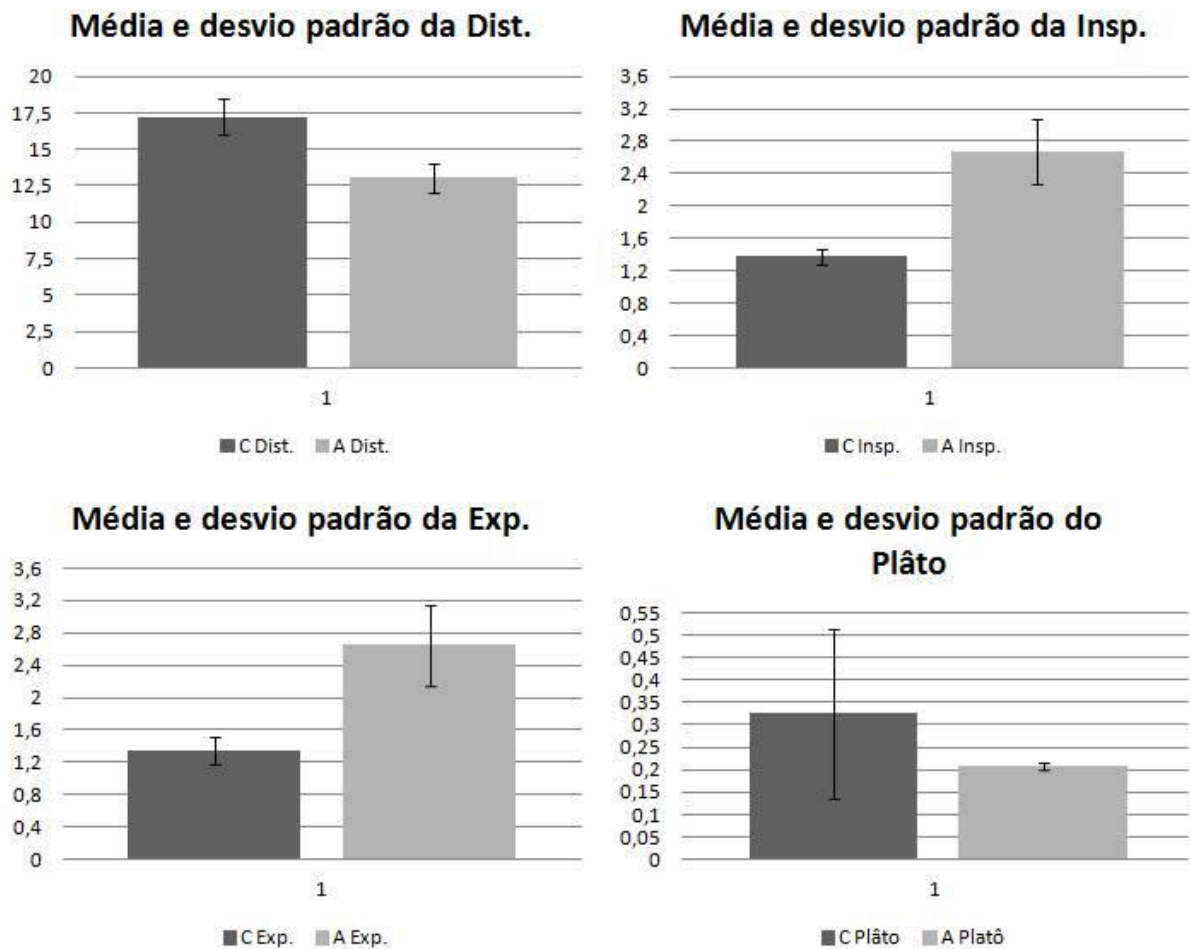
Legenda: (C) controle, (A) afetado, (Dist.) distância, (Insp.) inspiração, (Exp.) expiração e platô.

5.2.3 Média e desvio padrão final do grupo controle e afetaado

Para melhor compreender os resultados, foi estabelecida uma média final entre os grupos controle e afetado (Figura 18), onde foi possível avaliar de modo geral os resultados citados acima. Os resultados apresentam dados importantes que diferenciam o padrão respiratório de ambos os grupos.

È possível identificar que a distância é maior no grupo controle e menor no grupo afetado, além de que a inspiração e expiração se caracterizam em um padrão maior quando comparado ao grupo controle. O estado de platô é maior no grupo controle e menor no grupo afetado. Este padrão diferenciado entre os grupos comprovam uma possível alteração no ciclo respiratório dos animais que compõe o grupo afetado.

Figura 18 - Média e desvio padrão da mobilidade diafragmática do grupo controle e afetado: avaliação da distância, inspiração, expiração e platô



Legenda: (C) controle, (A) afetado, (Dist.) distância, (Insp.) inspiração, (Exp.) expiração e platô.

5.3 COMPARAÇÃO DA FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA E CICLOS RESPIRATÓRIOS.

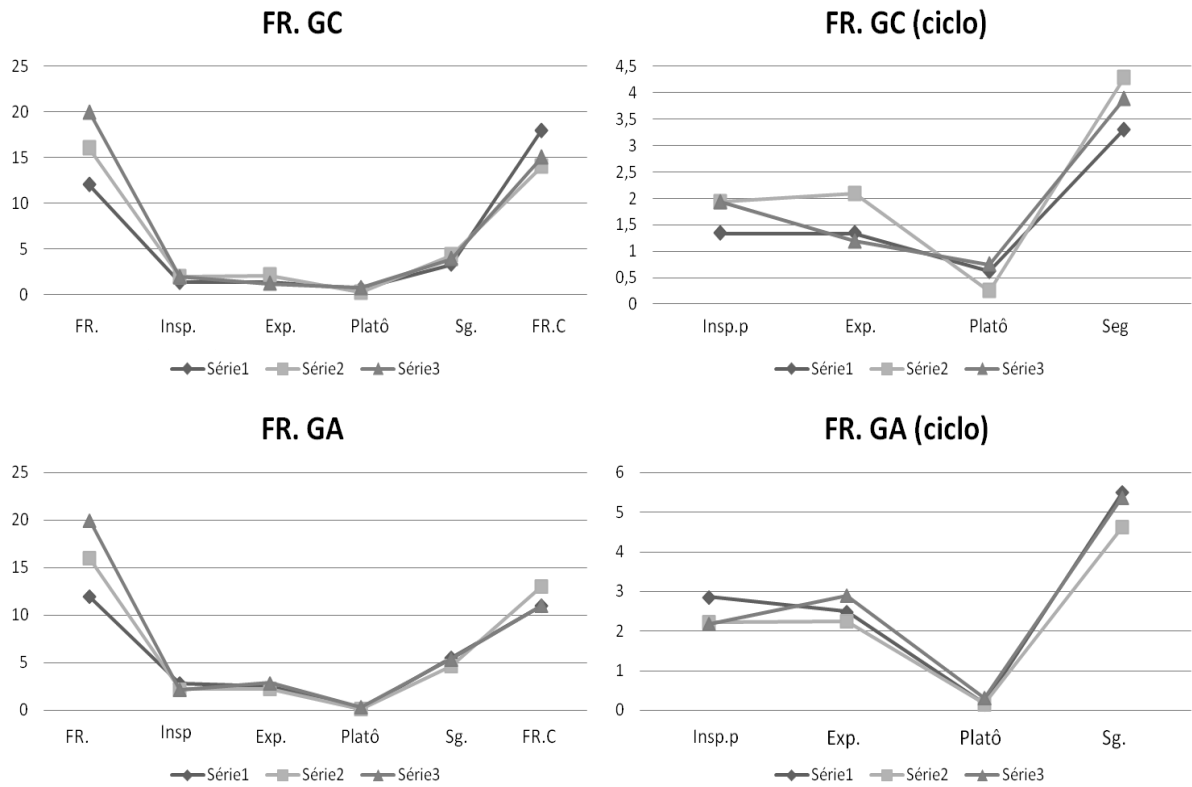
A frequência respiratória (FR) calculado pela US, foi avaliada da seguinte maneira: a mobilidade diafragmática é representada por ciclos respiratórios dos indivíduos, cada ciclo respiratório é constituído pela fase de inspiração, expiração e platô.

No presente estudo, pode-se constatar que a frequência respiratória (F.R) avaliada clinicamente, foi similar a F.R fornecida pela US (Figura 19).

O grupo controle mantém um ciclo respiratório estável, com proporções equivalentes de inspiração expiração e platô, enquanto que o grupo afetado apresenta um ciclo instável, com inspiração expiração maior e um estado de platô menor.

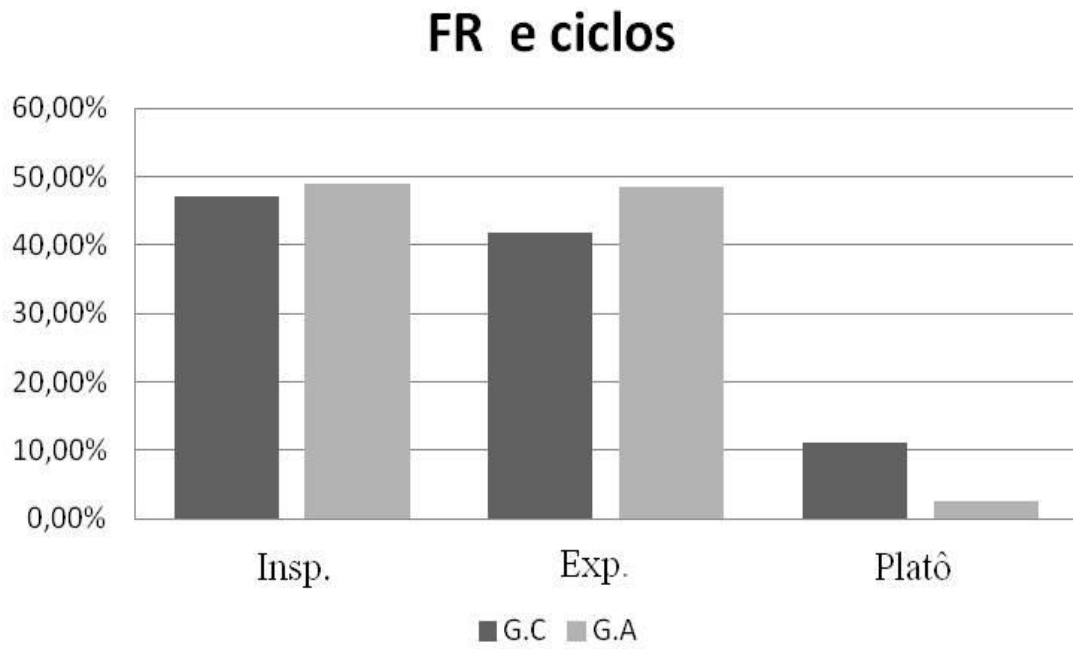
Avaliamos o ciclo respiratório em porcentagem (Figura 20), onde a inspiração e expiração foram maiores no grupo afetado, porém estes apresentam uma porcentagem de platô diminuída.

Figura 19 – Média da frequência respiratória em segundos, comparando os parâmetros clínicos e o ciclo respiratório por ultrassom, no grupo controle e afetado: avaliação na fase de inspiração, expiração e platô



Legenda: (FR) frequência respiratória, (Insp.) inpiração, (Exp.) expiração, (Platô), (Sg.) segundos e (FR.C) frequência respiratória por ciclo do ultra-son.

Figura 20 – Distribuição percentual das fases de inspiração, expiração, e platô entre os grupos controle e afetado



Legenda: (G.C) grupo controle (G.A) grupo afetado, (Insp.) inspiração, (Exp.) expiração, (Platô).

5.4 AVALIAÇÃO DA EXPANSÃO DOS MÚSCULOS INTERCOSTAIS POR US EM MODO B/M.

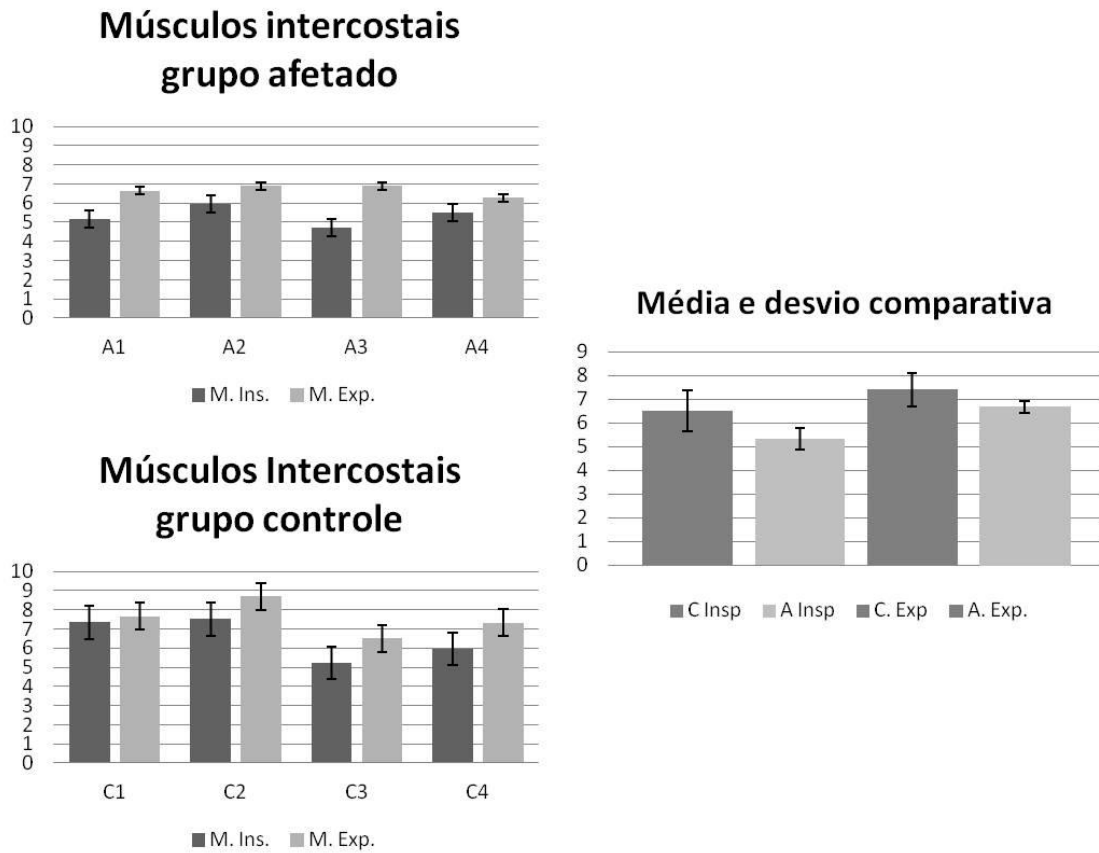
Os músculos intercostais foram avaliados por ultrassom, durante o processo de inspiração e expiração de ambos os grupos (Tabela 3).

No presente estudo, a média de inspiração e expiração foi maior no grupo controle e menor no grupo afetado (Figura 21).

Tabela 3 – Comprimento médio (mm.) dos músculos intercostais durante a inspiração e expiração do grupo controle e afetado no canil GRMD Brasil

Grupo Controle		
	M. Ins.	M. Exp.
C1	9,86	8,93
C2	10,33	10,10
C3	7,09	7,44
C4	8,64	8,68
M/Desv	8,99±1,12	8,79±0,84
Grupo afetado		
A1	7,3	7,89
A2	8,06	6,88
A3	6,81	7,09
A4	7,51	7,71
M/Desv	7,42±0,44	7,40±0,42

Figura 21- comprimento dos músculos intercostais durante a inspiração e expiração do grupo controle e afetado no canil GRMD Brasil



Legenda: (A) afetado, (C) controle, (Insp.) inspiração e (Exp) expiração.

5.5 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CLÍNICOS.

No presente estudo pode-se constatar que a (FC) frequência cardíaca, (FR) Frequência respiratória, (T) temperatura, (C/I) circunferência inspiratória, (C/E) circunferência expiratória, (M.C) média do comprimento, (M.I) e média da espessura do grupo controle (Figura 22 e Tabela 4), esta dentro da normalidade, porém no grupo afetado (Figura 22 e Tabela 5) a média da frequência respiratória estava abaixo do padrão normal.

Tabela 4 – Média e desvio padrão do grupo controle: avaliação dos parâmetros clínicos

Média e desvio padrão de parâmetros clínicos do grupo controle							
	FC	FR	T°	C.Insp	C.Exp	Comp.	Larg.
C1	120	12	37,7	69	69,5	23,8	18
C1	128	18	38,5	68,5	69	23	17,5
C1	140	20	38,3	67	67,5	24,2	17,8
C1	130	32	38	68	68,5	24	17,5
	129,5±7,1	20,5±7,2	38,3±0,2	68,4±0,65	68,2±0,9	23,7±0,46	17,70±0,21
C2	88	20	38	78	79	24,2	22
C2	112	17	38,9	73,1	73,5	23	20
C2	80	60	38	74	73	24,8	20
C2	88	24	38,5	74	73	24	23
	92±12	30,25±17,36	38,35±0,38	74,77±1,89	74,62±2,53	24±0,64	21,25±1,30
C3	88	24	38	74,2	74	25	19
C3	124	28	37,9	72,5	73	25,2	18,8
C3	104	16	38,1	71,5	72	25,2	18,2
C3	120	24	37,5	73	72	24	17,5
	109±14,24	23±4,4	37,87±0,22	72,75±0,90	72,75±0,82	24,85±0,49	18,37±0,58
C4	88	32	38,7	72,8	72,	23,3	18,2
C4	108	32	38,7	70	69,5	24	19
C4	80	40	38,3	68,5	68	24,2	18,2
C4	88	32	38	68,5	68	24	19
	91±10,34	34±3,47	38,42±0,29	69,95±1,75	69,37±1,63	23,87±0,34	18,6±0,4
	105,38±15,65	26,93±5,42	38,22±0,21	71,41±2,55	71,34±2,45	24,11±0,43	18,98±1,35

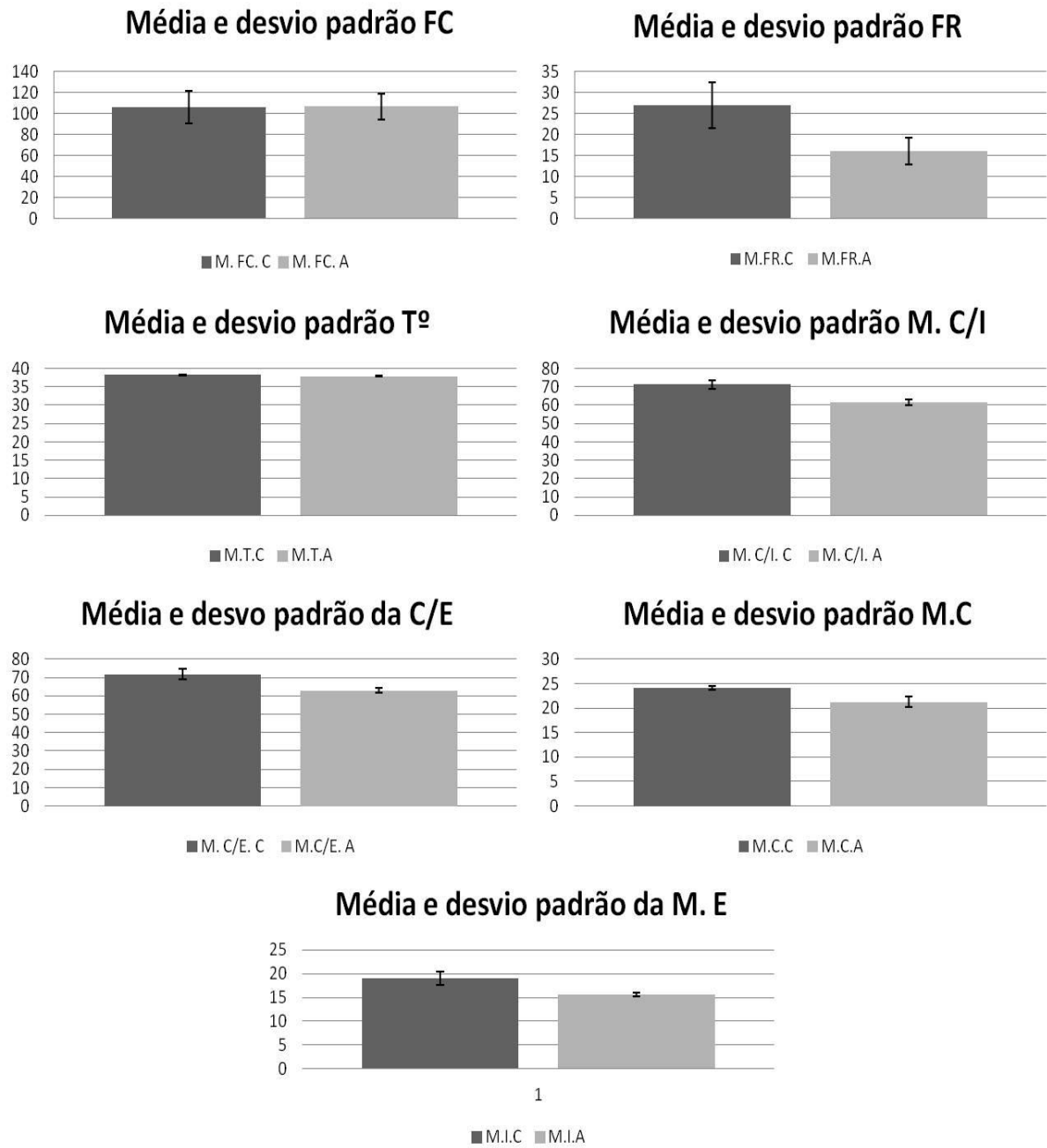
Legenda: (FC) frequência cardíaca, (FR) Frequência respiratória, (T) temperatura, (C/I) circunferência inspiratória, (C/E) circunferência expiração, (M.C) média do comprimento e (M.I) média da espessura.

Tabela 5 – Média e desvio padrão do grupo controle: avaliação dos parâmetros clínicos

Média e desvio padrão de parâmetros clínicos do grupo afetado							
	FC	FR	T°	C.Insp	C.Exp	Comp.	Larg.
A1	80	16	37,6	61	62,3	22,5	15
A1	96	16	37,9	62,5	63,2	22	16
A1	84	16	37,9	62,5	63	21,2	16,2
A1	92	16	38	62	63	22	16
	88±6,32	16±0	37,85±0,15	62±0,61	62,87±0,34	21,92±0,46	15,8±0,46
A2	128	20	38,3	60	61	20	15
A2	128	32	38,3	59	61	19	16
A2	120	12	37,6	58,5	61	21	16,2
A2	108	12	38	59	59	20	16
	121±8,18	19±8,19	38,05±,29	59,12±0,54	60,5±0,86	20±0,70	15,8±0,46
A3	132	12	38,2	62	62,5	20	17,8
A3	84	12	38,4	61,5	61	19	17
A3	104	12	37,3	64	66,5	22,2	14,3
A3	100	14	38	63	63	21	17,5
	105±17,29	12,5±0,86	37,9±0,41	62,62±0,96	63,25±2,02	20,55±1,18	16,65±1,38
A4	104	16	37,9	62	63	23	16
A4	116	16	38	60,5	62,5	22	17
A4	92	12	37,2	63,5	65,5	22,6	15,6
A4	100	14	38	63	63	23	16,2
	103±8,66	14,5±1,65	37,77±0,33	62,25±1,15	63,5±1,17	22,65±0,40	16,2±0,50
	104,25±11,69	15,5±3,38	37,91±0,10	61,5±1,38	62,53±1,19	21,28±1,05	15,63±0,35

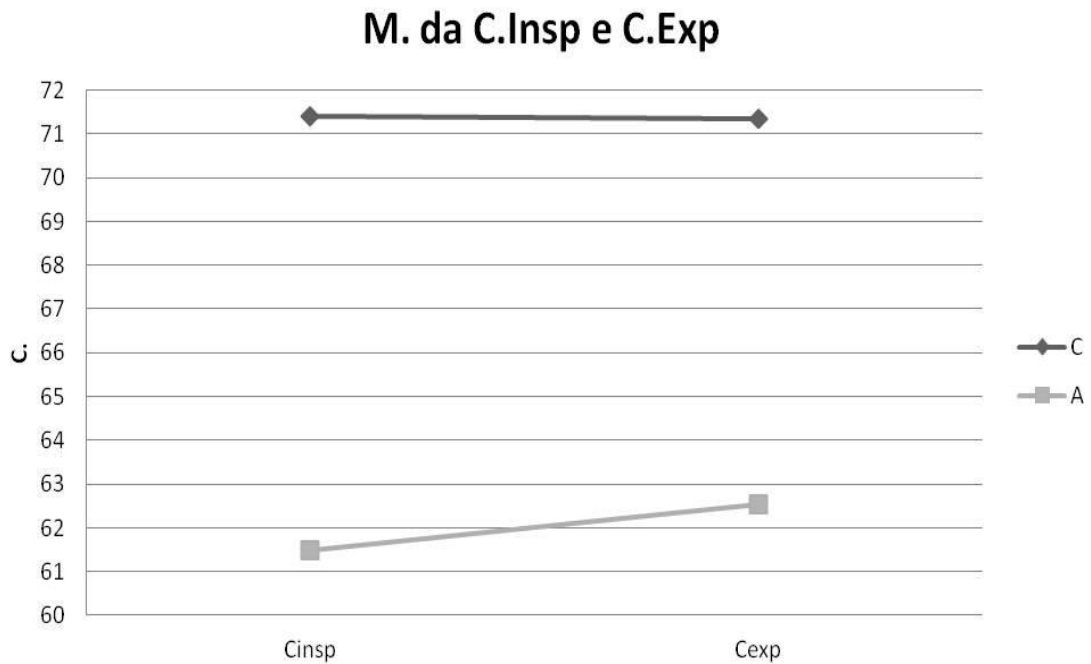
Legenda: (FC) frequência cardíaca, (FR) Frequência respiratória, (T) temperatura, (C/I) circunferência inspiratória, (C/E) circunferência expiração, (M.C) média do comprimento, (M.I) média da espessura.

Figura 22 - Média e desvio padrão de parâmetros clínicos do grupo controle e afetados no canil GRMD Brasil



Legenda: (FC) frequência cardíaca, (FR) frequência respiratória, (T) temperatura, (C/I) circunferência inspiratória, (C/E) circunferência expiração, (M.C) média do comprimento, (M.I) média da espessura.

Figura 23 - Média e desvio padrão da circunferência torácica do grupo controle e afetado durante a inspiração e expiração.



Legenda: (M.) média, (C.insp.) circunferência inspiratória, e (C.exp) circunferência expiratória.

5.6 PADRONIZAÇÃO DE VALORES HEMATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE E AFETADO.

Para avaliar o sistema respiratório foram analisados através de hemograma, os níveis sanguíneos dos principais carreadores de oxigênio para o organismo: hemácias, hemoglobina e hematócrito (Tabela 6). Os resultados encontrados não apresentou alteração para ambos os grupos.

Os níveis de leucócitos também foram analisados, devido ao constante processo de necrose tecidual que os músculos respiratórios sofrem constantemente (Tabela 6), porém não apresentaram alterações.

Tabela 6- Média e desvio padrão da análise laboratorial de hemácias, hemoglobina, hematócrito, leucócito e plaquetas de cães do grupo controle e afetado.

	Grupo Controle	Grupo Afetado
Hemácias		
1 avaliação	6,17±0,66	6,15±0,33
2 avaliação	6,05±0,65	6,40±0,37
3 avaliação	6,50±0,48	6,22±0,29
4 avaliação	6,67±0,49	6,42±0,45
Total	6,35±0,25	6,3±0,06
Hemoglobina		
1 avaliação	14,15±1,83	14,45±0,78
2 avaliação	13,7±2,00	15,10±0,81
3 avaliação	14,32±0,99	14,57±0,78
4 avaliação	15,4±0,25	15,15±1,00
Total	14,39±0,70	14,81±0,09
Hematócrito		
1 avaliação	42,25±4,76	43,50±2,69
2 avaliação	40,25±4,97	44,25±1,92
3 avaliação	43,25±2,59	42,50±1,80
4 avaliação	44,75±4,26	43,75±2,86
Total	42,62±0,94	43,50±0,46
Leucócitos		
1 avaliação	12,92±3,97	15,82±3,40
2 avaliação	15,95±4,58	15,72±3,48
3 avaliação	15,17±3,96	15,40±3,82
4 avaliação	12,50±3,29	14,52±2,89
Total	14,15±0,46	15,37±0,33

6 DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a movimentação diafragmática e possíveis alterações dos músculos respiratórios em cães GRMD por meio de ultrassonografia, que é um método não invasivo e que possivelmente pode ser empregado em todos os modelos de estudos da DMD.

Por se tratar de um método novo e pouco descrito, esta pesquisa buscou analisar a sua eficácia (GOMIDE et al., 2012).

No presente estudo notou-se que o método está dentro dos padrões aceitáveis (GOMIDE et al., 2012), onde a frequência respiratória aferida clinicamente estava de acordo com o número de ciclos respiratórios, fornecido pelo o aparelho (Figura 20), o que comprova a eficácia do método.

Aqui se evidenciou os estágios da distrofia muscular em músculos respiratórios de cães GRMD, que futuramente poderá ser utilizado como um parâmetro da evolução do quadro clínico do paciente, acompanhamento de pacientes submetidos à terapia celular ou para acompanhar uma terapia medicamentosa que retarde alterações nos músculos respiratórios (OLIVEIRA et al., 2011).

As avaliações da mobilidade diafragmática realizadas neste trabalho, ainda visaram uma analogia individual (Figuras de 6 a 13), e em grupo, (Figuras de 14 a 17), onde se encontrou que a média da movimentação do diafragma (distância), foi maior no grupo normal e menor no grupo controle. Esta diminuição da distância diafragmática pode representar uma amplitude ineficiente da capacidade expansiva, sugerindo um possível quadro de exaustão muscular nos animais afetados (CUNNINGHAM, 2003).

Estudos sugerem que a redução do movimento diafragmático está fortemente relacionada com parâmetro de aprisionamento de ar (YAMAGUTI, et al., 2007). Sendo que as anormalidades que ocorrem nos músculos respiratórios levam a alteração na pressão respiratória máxima, causando distúrbio respiratório restritivo que pode reduzir a capacidade pulmonar dos indivíduos (BEZERRA; BORGES; BRUNHEROTTI, 2010).

No experimento foi possível observar que na movimentação diafragmática, a média da inspiração e expiração (Figura 15 e 16), foi menor nos animais do grupo controle e maior nos animais do grupo afetado. Estes valores são devido a menor distância de movimentação

diafragmática, que pode desencadear um padrão ineficiente da capacidade pulmonar, revelando um parâmetro de progressão da doença, que pode ser afetada pelo grau de fraqueza dos músculos respiratórios (BEZERRA; BORGES; BRUNHEROTTI, 2010).

O estado de platô caracterizado no exame (Figura 17), correlacionado em grupo, apresentou uma média e desvio padrão menor no grupo afetado e maior no grupo controle, isso pode estar correlacionado a descompensação do padrão respiratório do grupo dos animais afetados que pode sugerir uma alteração das fibras musculares do diafragma (OLIVEIRA et al., 2012).

A mobilidade diafragmática no grupo afetado apresenta uma distância menor, sendo que o diafragma mostra um estado de platô também menor quando comparado ao grupo controle, indicando que o diafragma deste grupo permanece mais tempo em movimento.

Neste caso, a disfunção dos músculos respiratórios deve ser considerada, pois está inteiramente ligada á distúrbios da ventilação pulmonar. Este achado condiz com as alterações na mobilidade diafragmática citadas por Azeredo (2002).

Com intuito de interligar os achados com a expansão da caixa torácica, a capacidade expansiva dos músculos intercostais foi analisada através da técnica de ultrassonografia em modo M, onde foi possível analisar a contratilidade das fibras musculares, identificando diferenças entre os grupos.

Na análise, o grupo controle apresentou maiores valores na inspiração e expiração (8,99 e 8,79) que aqueles encontrados no grupo afetado (7,42 e 7,40), com uma diferença de 1,57 e 1,08 (Figura 14; Tabela 4).

No grupo controle a diferença da mobilidade (inspiração e expiração) dos músculos intercostais em mm. foi de 0,20, já no grupo afetado a diferença foi de 0,02. Este valor apresenta dados significativos de que o grupo afetado não tem uma expansão torácica eficiente.

Estes resultados eram esperados nos animais afetados, pois os músculos acessórios da respiração participam efetivamente no ciclo respiratório do indivíduo. Como no grupo afetado, os músculos estão alterados na maior parte da ultraestrutura de suas fibras musculares, que por sua vez são substituídas por colágenos, é aceitável que a função destes músculos esteja alterada (MICHELE; CAMPBELL, 2003).

Dos parâmetros clínicos analisados e morfométricos da cavidade torácica (Figura 22) e (Tabelas 6 e 7), pode-se destacar que a média da frequência cardíaca de ambos os grupos estavam dentro da normalidade (NELSON; COUTO, 2006). Já o padrão respiratório dos animais afetados, encontrou-se abaixo do padrão normal.

Outro padrão aferido no trabalho foi a temperatura corpórea dos animais, sendo que em ambos os grupos (controle e afetado), esta temperatura estava próxima e dentro dos padrões normais para a espécie. Porém o grupo afetado apresentou uma diferença de 0,3 graus a menos. A queda da temperatura corpórea pode ocorrer por perda de eletrólitos do corpo decorrentes da sudorese e salivação, assim como pelo metabolismo basal lento ou ineficiente dos animais (CUNNINGHAN, 2003; NELSON; COUTO, 2006), no grupo afetado estes achados são visíveis, principalmente pela intensa salivação.

Para relacionar alterações torácicas, avaliadas através da US, utilizamos a média da circunferência da caixa torácica, (Figura 22) da seguinte maneira: circunferência inspiratória (C.Insp) e circunferência expiratória (C.Exp). A média dos dados encontrados no grupo controle foi C.Insp 71,41 e C.Exp 71,34, estando dentro do padrão respiratório normal, o que pode ser explicado devido à contração dos músculos abdominais e intercostais internos, aumentar a pressão abdominal, forçando o diafragma e relaxando-o e, reduzindo assim o tamanho do tórax (CUNNINGHAN, 2003).

No grupo afetado encontramos os resultados C.Insp 61,5 e C.Exp 62,5, o que demonstra uma C.Insp menor do que a C.Exp, mostrando um padrão anormal da respiração neste grupo (Figura 16).

As alterações entre grupos revelou uma diferença entre o grupo afetado e controle de: C.Insp 9,91 e C.Exp 8,84 (Figura 23).

Estes dados condizem com as alterações encontradas pela técnica de US que avalia a mobilidade dos músculos intercostais, demonstrando que os animais do grupo afetado, mostra uma menor expansão da caixa torácica. Este padrão pode estar alterado devido à incapacidade residual funcional (CRF), estar diminuída (CUNNINGHAN, 2003).

A largura e espessura da cavidade torácica, também foram avaliadas no estudo, as quais apresentaram 24,11 e 18,98 para o grupo controle e 21,28 e 15,63 para o grupo afetado respectivamente. Esta alteração da conformidade torácica pode ser devido ao padrão físico e anatômico não desenvolvido no grupo dos animais afetados, quando comparado ao grupo portador.

Para compreender melhor o sistema respiratório e avaliar possíveis alterações no grupo afetado foram analisado por hemograma os principais parâmetros hemodinâmicos sanguíneos.

Dentro dos valores encontrados, a média de hemácias entre os grupos estavam dentro da normalidade (MATOS; MATOS, 1988), porém encontramos uma variação de 0,5 a mais para os animais do grupo afetado.

Quanto menor for a concentração de oxigênio, independente da causa do déficit, é necessário um maior número de células vermelhas para compensar o déficit de oxigênio no organismo (SISSON; GROSSMAN, 1972; CUNNINGHAN, 2003).

A taxa de hemoglobina dos animais teve uma variação de 0,42 a mais para o grupo dos afetados, ainda não sendo um dado significativo (MATOS; MATOS, 1988). A hemoglobina tem uma grande importância na demanda de oxigênio para os tecidos, ela é determinada pela concentração de hemoglobina na circulação sanguínea, saturação de hemoglobina pelo oxigênio, e na liberação de oxigênio da hemoglobina para os tecidos. Sendo consideradas diretrizes importantes para manter a manutenção adequada de oxigenação tecidual dos indivíduos (MATOS; MATOS, 1988; CUNNINGHAN, 2003).

Segundo Nelson e Couto (2006), para compensar uma possível diminuição da hemoglobina é necessário um aumento no débito cardíaco e uma ventilação adequada, e estes parâmetros dependem da capacidade cardio-respiratória, que varia de indivíduo para indivíduo

Outro parâmetro avaliado foi o valor da média do hematócrito entre os grupos, que apresentaram valores normais (MATOS; MATOS, 1988). A importância em analisar este dado é devido a capacidade do sangue em transportar oxigênio, onde podem acarretar dois problemas muito importantes, se houver alteração no hematócrito: a policitemia ou a anemia (CUNNINGHAN, 2003; NELSON; COUTO, 2006).

Em nosso trabalho, poderíamos encontrar alterações como policitemia, devido a musculatura dos animais sofrerem constantes modificações estruturais, como a necrose tecidual, porém os níveis de hematócritos estava dentro da normalidade.

Os leucócitos são essenciais na resposta imune e alérgica dos mamíferos (MATOS; MATOS, 1988; CUNNINGHAN, 2003; NELSON; COUTO, 2006). Esta importância é devido às alterações musculares estarem sempre associadas a processos de necrose de fibras musculares. Portanto seria esperado um aumento nos leucócitos no grupo afetado. Porém a média entre os grupos estavam dentro da normalidade descrita na literatura (CUNNINGHAN, 2003).

Estes achados normais podem ser devido à boa qualidade de vida dos animais afetados, tendo acompanhamento diário de médicos veterinários, além do eficiente manejo ambiental, que colaboram para melhor qualidade de vida e aumento da sobrevida dos animais afetados.

7 CONCLUSÕES

Mediante as análises realizadas no experimento, conclui-se que os parâmetros médios de inspiração, expiração e platô que corresponde a um movimento do diafragma, foram menores no grupo afetado. A fase de platô no grupo controle é quase inexistente, indicando que o diafragma apesar de não expandir, apresenta uma constante mobilidade.

A frequência respiratória foi 26,93 por minuto para o grupo controle e 15,5 por minuto para o grupo afetado, considerado um padrão baixo para o grupo afetado.

Houve uma diferença na mobilidade dos músculos intercostais (inspiração e expiração), de 0,20mm, já no grupo afetado a diferença foi de 0,02mm. Este valor apresenta dados significativos de que o grupo afetado não tem uma expansão eficiente da caixa torácica.

Os parâmetros clínicos realizados e expansão da caixa torácica também foram menores no grupo afetado.

Em relação aos parâmetros analisados no hemograma não houve alterações significativas.

Portanto, a metodologia aplicada neste estudo é um meio viável de acompanhamento e avaliação do sistema respiratório por US no modelo GRMD, podendo ser adaptado futuramente em outros modelos experimentais da DMD.

REFERÊNCIAS

- AMBRÓSIO, C. E.; VALADARES, M. C.; ZUCCONI, E.; CABRAL, R.; PEARSON, P. L.; GAIAD, T. P.; CANOVAS, M.; VAINZOF, M.; MIGLINO, M. A.; ZATZ, M. Ringo, a Golden Retriever Muscular Dystrophy (GRMD) dog with absent dystrophin but normal strength. **Neuromuscular Disorders**, v. 18, n. 2, p. 892-893, 2008.
- AMBRÓSIO, C.E.; FADEL, L.; GAIAD, T. P.; MARTINS, D. S.; ARAÚJO, K. P. C.; ZUCCONI, E.; BROLIO, M. P.; GIGLIO, R. F.; MORINI, A. C.; JAZEDJE, T.; FROES, T.; FEITOSA, M. L. T.; VALADARES, M. C.; BELTRÃO-BRAGA, P. C. B.; MEIRELLES, F. V.; MIGLINO, M. A. Identification of three distinguishable phenotypes in golden retriever muscular dystrophy. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 2, p. 389-396, 2009.
- ANDRÉ, G. **Estudo da função glomerular em Golden Retriever normais portadores e afetados pela distrofia muscular progressiva (GRMD)**. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2007.
- ARAÚJO C. P. K. **Uso de Bortzomibe (PS-341) em cães da raça Golden Retriever afetados pela Distrofia Muscular Progressiva (GRMD) –Avaliação da viabilidade da terapia e reestruturação da Distrofia Muscular**. 2009. 161 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- ARAÚJO, A. P. Q. C. Distúrbios respiratórios na distrofia muscular de Duchenne. **Arquivos Brasileiro de Medicina**, v. 66, n. 5, p. 441-443, 1992.
- AZEREDO, C. A. C. **Fisioterapia respiratória moderna**. 4. ed. São Paulo: Manole, 2002. 495 p.
- BERGMAN, R. L.; INZANA, K. D.; MONROE, W. E.; SHELL, L. G.; LIU, L. A.; ENGVALL, E.; SHELTON, G.D.; Dystrophin-deficient muscular dystrophy in a labrador retriever. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 38, n.3, p. 255-261, 2002.
- BETHLEM, N. **Pneumologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 957 p.
- BEZERRA, P. P.; BORGES, A. P. O.; BRUNHEROTTI, M. A. A.; Treino muscular respiratório em pacientes com Distrofia Muscular de Duchenne. **Revista Neurociência**, v. 18, n.4, p. 491-497, 2010.
- BOGDANOVICH, S.; PERKINS, K. J.; KRAG, T. O. B, T. O. B.; KHURANA, T. S. Therapeutics for Duchenne muscular dystrophy: current approaches and future directions. **Journal of Molecular Medicine**, v. 82, n. 2, p. 102-115, 2004.
- BOHNDORF, K.; KILCOYNE, R. F. Traumatic injuries: imaging of peripheral musculoskeletal injuries. **European Radiology**, v. 12, p. 1605–1616, 2002.

CAROMANO, F. A. C. Características do portador de distrofia muscular de duchenne (DMD). **Arquivos de Ciências da Saúde de Unipar**, v. 3, n. 3, p. 211-218, 1999.

CARVALHO, C. F. **Ultra-sonografia em pequenos animais**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2004. 365 p.

CATELLI, A. A. **Altrações do tubo digestivo em cães da raça Golden Retriever afetados pela distrofia muscular**. 2006. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.

CONTESINI, A. M.; JR, A.; CAROMANO, F. A. Influência das variações da postura sentada na função respiratória. **Fisioterapia**, v. 24, n. 4, p. 457-467, 2011.

COOPER, B. J.; WINAND, N. J.; STEDMAN, H.; VALENTINE, B. A.; HOFFMAN, E. P.; KUNNEL, L. M.; SCOTT, M. O.; FISCHBECK, K.H.; KORNGAY, J. N.; AVERY, R. J. The Homologue of the Duchenne locus is defective in X-linked muscular dystrophy of dogs. **Nature**, v. 334, p. 154-156, 1988.

COSTA, D. **Fisioterapia Respiratória Básica**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 127p.

COZZI, F.; CERLETTI, M.; LUVONI, G. C.; LOMBARDO, R.; BRAMBILLA, P.G.; FAVERZANI, S.; BLASEVICH, F.; CORNELIO, F.; POZZA, O.; MORA, M. Development of muscle pathology in canine X-linked muscular dystrophy. II Quantutative characterization of histopathological progression during postnatal skeletal muscle development. **Acta Neuropathologyca**, v. 101, n. 5, p. 469-478, 2001.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p 421-433.

DAVIS, K. E. Challenges in Duchenne muscular dystrophy. **Neuromuscular Disorders**, v. 7, p. 482-486, 1997.

DIAMENT, A.; CYPEL, S. **Neurologia Infantil**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1996. 1131 p.

EAGLE, M.; BAUDOUIN, S. V.; CHANDLER, C.; GIDDINGS, DR.; BULLOCK, R.; BUSHBY, K. Survival in Duchenne muscular dystrophy: improvements in life expectancy since 1967 and the impact of home nocturnal ventilation. **Neuromuscular Disorders**, v.12, p. 926–929, 2002.

EMERY, A. E. H. The muscular dystrophies. **The Lancet**, v. 359, p. 687-695, 2002.

EMERY, A. E. H. Duchenne muscular dystrophy: genetics aspests, carrier detection and antenatal diagnosis. **British Medical Bulletin**, v. 36, p. 117-22, 1980.

EMMERICH, J. C. **Monitorização Respiratória**. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2001. 198 p.

FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Animal disease model: choice´s criteria and current animals specimens; **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 19, n.1, p. 59-65, 2004.

FEIJÓ, A. G. S.; SANDERS, A.; CENTURIÃO, A. D.; RODRIGUES, G. S.; SCHWANKE, C. H. A. Analysis of ethics indicators of animal use in scientific investigation and education among university sample from Health Area and Biological Sciences. **Scientia Médica**, v. 18, n. 1, p. 10-19, 2008.

FERREIRA, P. H.; FERREIRA, M. L.; HODGES, P. W. Changes in recruitment of the abdominal muscles in people with low back pain: ultrasound measurement of muscle activity. **Spine**, v. 29, n. 22, p. 2560-2566, 2004.

FINDER, J. D.; BIRNKRANT, D.; CARL, J.; FARBER, H. J.; GOZAL, D.; IANNCONE, S. T.; KOVESI, T.; KRAVITZ, R. M.; PANITCH, H.; SCHRAMM, C.; SCHROTH, M.; SHARMA, G.; SIEVER, L.; SILVESTRI, J. M.; STERNI, L. Respiratory Care of the Patient with Duchenne Muscular Dystrophy. **American Thoracic Society Documents**, v. 170, n. 4, p. 456-465, 2004.

GAIAD, T. P. **Influência da fisioterapia na função motora e histopatologia da fibra muscular esquelética no modelo Golden Retriever Muscular Dystrophy (GRMD)**. 2006. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. .

GOMIDE, G. A.; HAGEN, S.; FRAZÃO, P. J. R.; GONÇALVES, D.; OLIVEIRA, D. M.; SENA, J. Relato de técnica: avaliação da movimentação diafragmática em cães através da ultrassonografia em modo M. IN: SEMANA CIENTÍFICA BENJAMIN EURICO MALUCELLI, 10., 2012, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2012. p. 22.

GREEN, R.W. Kidneys. In: GREEN, R. W. **Small Animal Ultrasound**. 2. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. 197-210 p

HERMANSON, J. W.; EVANS, H. E. The Muscular system. In: Miller's **Anatomy of the dog**. 3. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996. 887 p.

HODGES, P. W. et al. Measurement of muscle contraction with ultrasound imaging. **Muscle Nerve**, v. 27, n. 6, p. 682-692, 2003.

HOFFMAN, E. P.; DRESSMAN, D. Molecular pathophysiology and targeted therapeutics for muscular dystrophy. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 9, p. 264-470, 2001.

JARDIM, J. R. Fisiologia Pulmonar: ação dos músculos respiratórios. **Journal of Pneumology**, v. 8, n. 2, p.118-124, 1982.

JORDE, L. B. **Genética Médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 425 p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11. ed. Guanabara-Koogan: Rio de Janeiro. 2004. 488 p.

KENNEDY, J. D.; STAPLES, A. J.; BROOK, P. D. Effect of spinal surgery on lung function in Duchenne muscular dystrophy. **Thorax**, v. 50, p. 1173-1178, 1995.

KERR, M.G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2003. 1232 p.

KONIG, H.E.; LIEBICH, H. **Anatomia dos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 291 p.

KORNEGAY, J. N.; TULER, S. M.; MOLLER, D. M.; LEVESQUE, D. C. Muscular dystrophy in a litter of Golden Retriever dogs. **Muscle & Nerve**, v.11, p.1056-1064, 1988.

KORNEGAY, J. N.; SHARP, N. J. H.; BOGAN, D. J.; VAN CAMP, S. D.; METCALF, J. R. O. Contraction tension and kinetics of the peroneus longus muscle in golden retriever muscle dystrophy. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 123, p. 100-107, 1994a.

KORNEGAY, J. N.; SHARP, N. J.; SCHUELER, R. O.; BETTS, C. W. Tarsal joint contracture in dogs with golden retriever muscular dystrophy. **Laboratory Animal Science**, v. 44, p. 331-333, 1994b.

KOTZ, J.C **Estudo comparativo do efeito dos incentivadores Respiratórios e respiração sobre a força dos músculos Inspiratórios em indivíduos saudáveis**. 2005. 91 f. Monografia (Bacharel em Fisioterapia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná. 2005.

MARQUES, M. J.; LUZ, M. A. M.; MINATEL, E.; SANTO NETO, H. Muscle regeneration in dystrophic mdx mice is enhanced by isosorbide dinitrate. **Neuroscience Letters**, v. 382, p. 342-345, 2005.

MATOS, M.S., MATOS, P. F. **Laboratório clínico médico veterinário**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1988. 238 p.

MICHELE, D. E.; CAMPBELL, K.P. Dystrophin glycoprotein complex: Post-translational processing and dystroglycan function. **Journal of Cell Biology**, v. 278, p. 15457-15460, 2003.

NELSON, R.W. & COUTO, G.C. **Medicina interna em pequenos animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 3. Ed. 2006. 1324 p.

NGUYEN, F.; CHEREL, Y.; GUIGAND, L.; GOUBAULT-LEROUX, I.; WYERS, M. Muscle lesions associate with dystrophin deficiency in neonatal Golden Retriever puppies. **Journal of Comparative Pathology**, v. 126, n. 2, p. 100-108, 2002.

NITRINI, R.; BACHESCHI, L. A. **A neurologia que todo médico deve saber**. 2. Ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 700 p.

OLIVEIRA, L. C; **Influência do enxerto de tecido adiposo autógeno no reparo ósseo de defeitos de tamanho crítico: Estudo histológico e histométrico em calvário de coelhos**. 2011. 54 p. Dissertação (Mestre em Odontologia Clínica). Universidade Positivo, Curitiba, 2011.

OLIVEIRA, D. M.; LESSA, T. B.; CONSTANTINO, M. V. P.; BERTASSOLI, B. M.; HAGEN, S. C. F.; AMBRÓSIO, C. E.; ASSIS NETO, A. C. Ultrasonography as proposed as kinematic measurement of the diaphragm muscle of the dog following application of mesenchymal stem cells. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CÉLULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR, 10., 2011, Salvador. **Anais...** Salvador: ABTCEL, 2011. p. 112.

- OLIVEIRA, D. M.; VIANA, D. C.; SANTOS, A.C.; HAGEN, S., ASSIS-NETO, A. C. Estudo anatômico dos rins através da técnica de ultra-sonografia. IN XXI SEMANA CIENTÍFICA BENJAMIN EURICO MALUCELLI, 10. 2012, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2012. p. 33
- RANDALL, D.; BURGREN, W.; FRENCH, K. **Fisiologia Animal: mecanismos e adaptações**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 729 p.
- ROWLAND, L. P. **Merrit-tratado de neurologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1997. p. 914 p.
- SAMIEI, H. V. Genetic surgery for muscular dystrophy in golden retrievers. **Genome news network**, v.18, n.2, p. 615-622, 2000.
- SANTOS, N. M.; REZENDE, M. M.; TERNI A.; HAYASHI, M. C. B.; FÁVERO, F. M.; QUADROS, A. A. J. Perfil clínico e funcional dos pacientes com Distrofia Muscular de Duchenne assistidos na Associação Brasileira de Distrofia Muscular (ABDIM). **Revista Neurociencia**, v.14, p. 15-22, 2006.
- SANTOS, J. P. A. **Ultra-sonografia muscular cervical e pélvica de cães da raça Golden Retriever portadores e afetados pela Distrofia Muscular e em, terapia celular**. 2008. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008.
- SEOANE, M. P. R. **Avaliação da ocorrência das alterações ultrassonográficas na cavidade abdominal, detectadas em cães idosos clinicamente saudáveis atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal Do Paraná**. 2010. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária) - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2010.
- SHELTON, G. D.; LIU, L. A.; GUO, L. T.; SMITH, G. K.; CHRISTIANSEN, J. S.; THOMAS, W. B.; SMITH, M. O.; KLINE, K. L.; MARCH, P. A.; FLEGEL, T.; ENGVALL, E. Muscular dystrophy in female dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15, p. 240-244, 2001.
- SISSON, S.; GROSSMAN, J. D. **Anatomia de los Animales Domésticos**. 5. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1972. 1962 p.
- St. CLAIR, L. E. Músculos do carnívoro. In: GETTY, R. D. V. M. (Ed.). **Anatomia dos animais domésticos**. v. 2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. p. 1416-1441.
- TEYHEN, D. S.; GILL, N. W.; WHITTAKER, J. L.; HENRY, S. M.; HIDES, J. A.; HOGES, P. Rehabilitative ultrasound imaging of the abdominal muscles. **The Journal of Orthopaedic Sports Physical Therapy**, v. 37, n.8, p. 450-466, 2007.
- THIBAUD, J. L.; MONNET, A.; BERTOLDI, D.; BARTHÉLÉMY, I.; BLOT, S.; CARLIER, P. G. Characterization of dystrophic muscle in golden retriever muscular dystrophy dogs by nuclear magnetic resonance imaging. **Neuromuscular Disorders**, v. 17, p. 575-584, 2007.

VALENTINE, B. A.; COOPER, B. J.; DE LAHUNTA, A.; O'QUINN, R.; BLUE, J. T. Canine X-linked muscular dystrophy. Na animal modelo f Duchenne muscular dystrophy: clinical studies. **Journal Neurological Science**, v. 88, p. 69-81, 1988.

VALENTINE, B. A.; WINAND, N. J.; PRADHAN, D.; MOISE, N S.; DELAHUNTA, A.; KORNEGAY, J. N.; COOPER, B. J. Canine X-linked muscular dystrophy as an animal model of duchenne muscular dystrophy **American Journal of Medical Genetics**, v. 42, p. 352-356, 1992.

WALLACE, G. Q.; MCNALLY, E. Mechanisms of Muscle Degeneration, Regeneration, and Repair in the Muscular Dystrophies. **Annual Review of Physiology**, v.71 n. 22, p.37-57, 2008.

WEST JB. **Fisiologia respiratória**. São Paulo: Manole; 2002. 236 p.

WILSON, D.E. Aplication of ultrasound for genetic improvement. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 973-983, 1992.

YAMAGUTI, W. P. S.; PAULIN, E.; SHIBAO, S; KODAIRA, S.; CHAMMAS, M. C.; CARVALHO, C. R. F. Ultrassound evaluation of diaphragmatic mobility in different postures in healthy subjects. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 33, n. 3, p. 407-413, 2007.

ZATZ, M.; VAINZOF, M.; PASSOS-BUENO, M. R. Limb-girdle muscular dystrophy: One gene With different phenotypes, one phenotype with different genes. **Current Opnion in Neurology**, v. 13, p. 511-517, 2000.

ZIN, W. A; ROCCO, P. R. M. **Movimentos Respiratórios**. In: AIRES, M. M. Fisiologia. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 934 p.