

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
BIOLÓGICAS: FISILOGIA

***Activator*® COM PONTEIRA ADAPTADA PARA USO EM ANIMAIS: VALOR DA  
FORÇA E EFEITO SOBRE O LIMIAR MECÂNICO E ÍNDICE FUNCIONAL DO  
NERVO ISQUIÁTICO EM RATOS COM IMOBILIZAÇÃO DE MEMBRO  
POSTERIOR**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

FELIPE COUTINHO KULLMANN DUARTE

PORTO ALEGRE, 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
BIOLÓGICAS: FISILOGIA

***Activator*® COM PONTEIRA ADAPTADA PARA USO EM ANIMAIS: VALOR DA  
FORÇA E EFEITO SOBRE LIMIAR MECÂNICO E ÍNDICE FUNCIONAL DO  
NERVO ISQUIÁTICO EM RATOS COM IMOBILIZAÇÃO DE MEMBRO  
POSTERIOR**

Felipe Coutinho Kullmann Duarte

Orientadora: Prof. Dra. Wania Aparecida Partata

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Fisiologia

PORTO ALEGRE, 2014

*Os olhos do cientista olham estrelas  
Os olhos do poeta olham o céu  
Os olhos da criança um carrossel  
Os olhos da vaidade coisas delas*

*De tudo que se faz: olhos de Deus  
Tudo que se deseja: ser feliz  
Todo olhar displicente pede e diz  
Alguma coisa traz de longos véus*

*Nesse ponto de vista visual  
O que hoje parece pode não ser  
Como se tudo fosse casual*

*Nem tudo que existe dá para ver  
Cada um vê em tudo o que se quer  
Os olhos da maldade veem o mal*

**Caroline Germano Alvares da Silva Schwanck**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por me abençoar e abençoar as pessoas ao meu lado, por me conduzir nas escolhas do caminho certo, por mais que, muitas vezes, demore um pouco para entendermos sua mensagem.

À minha orientadora, prof<sup>a</sup> Dra. Wania Aparecida Partata, por aceitar o desafio de ser orientadora de um aluno que mal conhecia, provido apenas de vontade e um desejo de compreender e contribuir para o crescimento de sua profissão. Obrigado por cativar o espírito científico de uma maneira tão doce e sutil, por compartilhar toda a sua genialidade, e pela forma como conduz e lidera todos à sua volta. Muito obrigado por ser uma pessoa tão especial, que acreditou em mim desde sempre e, acima de tudo, obrigado pela sua amizade.

Às minhas colegas de laboratório Andréa, Ana, Jéssica, Taína, e Raphaela, obrigado pelo profissionalismo, coleguismo, ensinamentos, ajuda e paciência. Destaque especial para a colega de laboratório e também quiropraxista, Dra. Carolina Kolberg, obrigado pela amizade, pela ajuda, pelos muitos momentos que atuou como minha mentora, prestando o seu auxílio nos experimentos e discutindo, tanto aspectos técnicos como aspectos profissionais, relevantes para nossa pesquisa e o futuro da nossa profissão.

Aos professores do PPG Fisiologia, muito obrigado pelo conhecimento compartilhado.

Aos professores da Esef-UFRGS, por abrirem as portas para mim dentro da instituição, principalmente ao prof. Dr. Álvaro.

À prof. Dra. Roselis, por todo o seu conhecimento compartilhado e por me indicar a professora Dra. Wania, como a pessoa certa para me orientar, durante uma aula no curso de especialização, na Esef em 2010.

Ao CNPQ, pelo suporte financeiro prestado.

Ao meu pai Carlos e minha mãe Cecília, que infelizmente não pode participar fisicamente desse momento, mas que espiritualmente, participa ativamente no meu dia a dia e da nossa família. Obrigado por priorizarem sempre o caminho do conhecimento, dos estudos, ao longo da minha vida, mas acima de tudo, pela educação e formação do meu caráter que vocês me proporcionaram. Amo vocês!

Ao meu irmão, o Gui, pela força e incentivo sempre.

Ao meu tutor, meu segundo pai, prof. Dr. Cléber, por me apresentar pela primeira vez o tema “neuroplasticidade”, que funcionou como uma faísca para acender a minha curiosidade e o meu interesse pela pesquisa. Assim como sua esposa, Maria da Graça, obrigado pelo incentivo e apoio sempre.

À toda a minha família. Obrigado pelo incentivo.

À minha esposa, Vivian, pessoa maravilhosa que eu amo muito, minha companheira desde 2004, que me apoia incondicionalmente já que nos momentos mais difíceis sempre tem uma palavra amiga e um conselho sábio para compartilhar, além de dividir comigo toda a alegria dos momentos felizes que vivemos. Muito obrigado por toda a fidelidade, lealdade e amor que tens comigo.

À Pietra, minha filhota, que nasceu recentemente e que chegou para iluminar as nossas vidas. Pi, o papai te ama!

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2. OBJETIVO</b> .....	21
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	21
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	21
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	23
<b>3.1 Activator®</b> .....	23
<b>3.2 Ponteiras</b> .....	24
<b>3.3 Determinação do valor do pico de força</b> .....	25
<b>3.4 Animais: Procedência e Manutenção</b> .....	27
<b>3.5 Grupos Experimentais</b> .....	27
<b>3.6 Procedimento de Imobilização e Remobilização</b> .....	28
<b>3.7 Tratamento com AAI-4</b> .....	30
<b>3.8 Teste de Von Frey</b> .....	31
<b>3.9 Determinação do Índice Funcional do Isquiático</b> .....	33
<b>4. ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	35
<b>5. RESULTADOS</b> .....	36
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	42
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	49
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	50
<b>ANEXO</b> .....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS

Activator® – aparelho manual de força mecânica utilizado na quiropraxia

AAI – Activator Adjusting Instrument

AAI3 – terceiro modelo do Activator Adjusting Instrument

AAI4 – quarto modelo do Activator Adjusting Instrument

ANOVA – análise da variância

IFI – Índice Funcional do nervo Isquiático

IFT – Índice Funcional do nervo Tibial posterior

IFF – Índice Funcional do nervo Fibular

L5 – quinto segmento vertebral da coluna lombar do rato

L6 – sexto segmento vertebral da coluna lombar do rato

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Instrumento manual de força mecânica *Activator*®, modelo 4 (AAI-4).

Figura 2 - Fotografia da ponteira para uso no *Activator*® em substituição à ponteira original desse instrumento, quando o mesmo for empregado em estudos com modelos animais..

Figura 3 – Fotografia mostrando o *Activator*®, modelo 4, com ponteira adaptada para uso em animais, seguro por um braço de metal.

Figura 4 - Fotos mostrando a tala (A) usada para imobilização da pata posterior de rato, e este animal com o aparato de imobilização na pata posterior direita (B).

Figura 5 - Foto mostrando a aplicação do *Activator*®, modelo 4, com ponteira adaptada para uso em animais experimentais, sobre a coluna lombar (segmentos L5-L6) de ratos.

Figura 6 - Analgesímetro digital, modelo EFF 301, da Insight, Brazil, utilizado na realização do teste de Von Frey eletrônico.

Figura 7 - Impressão em papel da pegada de um rato que sofreu lesão em uma das patas posteriores (operada).

Figura 8 - Média do pico de força do *Activator*®, modelo 4, com ponteira adaptada e original nos diferentes níveis de força do instrumento (I, II, III e IV). Os valores do pico de força foram obtidos quando o instrumento foi perpendicularmente aplicado pelo quiropraxista sobre uma célula de carga.

Figura 9 - Média do pico de força do *Activator*®, modelo 4, com ponteira adaptada e original nos diferentes níveis de força do instrumento (I, II, III e IV). Os valores do pico de força foram obtidos quando o instrumento, firmemente seguro por um braço de metal, foi perpendicularmente aplicado sobre uma célula de carga.

Figura 10 - Medida do limiar de retirada, em gramas, mediante realização do teste de Von Frey eletrônico na superfície plantar da pata posterior direita de ratos que tiveram ou não imobilização do joelho dessa pata por quatro semanas, seguido, após esse período, de fase de remobilização, com duração de três semanas, onde receberam aplicação do *Activator Adjusting Instrument* (AAI, *Activator*®) três vezes por semana na região lombar da coluna vertebral (segmentos L5-L6).

Figura 11 - Medida do Índice Funcional dos nervos Isquiático, Tibial posterior e Fibular em ratos sem e com imobilização do joelho da pata posterior direita.

## RESUMO

Na quiropraxia, cerca de 90% dos pacientes são tratados com manipulação articular vertebral. Porém, outras formas de tratamento também podem ser utilizadas na prática clínica, como técnicas que envolvem o uso de instrumentos manualmente operados. Esses instrumentos, quando acionados, disparam uma força mecânica de magnitude controlada, já que o aparelho possibilita a regulagem do nível de força que será aplicado, o que não ocorre na manipulação articular vertebral. Assim, a capacidade de aplicar uma força controlada sobre a articulação é uma das vantagens do uso do *Activator Adjusting Instrument* (AAI, *Activator*®), o mais popular dos instrumentos manualmente operados. Recentemente alguns autores desenvolveram uma ponteira adaptada para o AAI-4, a qual foi usada em substituição à ponteira original desse instrumento em seus estudos com modelos animais, o que provocou uma redução de 4 vezes na área de contato do AAI-4 com seu alvo comparado a ponteira original. Como um dos fatores que influencia a magnitude da força é o valor da área de contato, é possível que o uso da ponteira adaptada tenha proporcionado mudança no valor do pico de força do AAI-4. Para testar essa hipótese, o presente estudo utilizou uma célula de carga acoplada a um sistema de coleta de dados para determinar o valor do pico de força do AAI-4 com ponteira adaptada e original, em dois protocolos experimentais: quando o instrumento foi aplicado pelo quiropraxista e quando foi seguro por um braço de metal, para prevenir o efeito de qualquer carga adicional durante o impulso do AAI-4. Ademais, foram avaliados ainda a sensibilidade mecânica, por meio do teste de Von Frey, e função motora da pata, mediante determinação da funcionalidade dos nervos pelo índice funcional dos nervos isquiático, tibial posterior e fibular, em ratos tratados com AAI-4 com ponteira adaptada durante a fase de remobilização, após imobilização da pata posterior direita. Para isso se utilizou o período de quatro semanas para a imobilização e de três semanas para remobilização, sendo neste último realizado

o tratamento com AAI-4 na região lombar da coluna vertebral (segmentos L5-L6) três vezes por semana, aplicado pelo quiropraxista. Foi observado que o uso de ponteira adaptada no AAI-4, nos dois protocolos experimentais, ocasionou acréscimo no valor do pico de força desse instrumento, sendo o valor encontrado no menor nível de força 80% daquele observado no máximo nível de força do aparelho, tanto com ponteira adaptada quanto original. No teste de Von Frey, a imobilização ocasionou redução no limiar mecânico. O tratamento com AAI-4 provocou o retorno dessa sensibilidade a valores similares àqueles obtidos antes da imobilização. Os índices funcionais do tibial posterior e fibular foram significativamente mais baixos nos animais que tiveram imobilização da pata posterior direita. Nenhuma alteração significativa ocorreu no índice funcional do isquiático nesses animais. Assim, nossos resultados mostram que o uso de ponteira adaptada no AAI-4 ocasiona aumento no pico de força desse instrumento já no menor nível de gradação da força, sendo este valor similar ao máximo de força desenvolvido pelo AAI-4 com ponteiras adaptada e original. O tratamento com AAI-4, no seu menor nível de gradação da força e com ponteira adaptada, aplicado na coluna vertebral lombar durante a fase de remobilização, melhora a sensibilidade mecânica de ratos submetidos à imobilização, os quais tiveram déficit na funcionalidade motora dos nervos periféricos tibial e fibular.

## 1. INTRODUÇÃO

A terapia de manipulação das articulações tem sido utilizada para tratar doenças humanas desde a antiguidade. Procedimentos de manipulação são evidentes na arte Thay, datando 4.000 anos. Constam ainda em antigos registros do Egito, da China, do Japão e do Tibete, e em relatos de Hipócrates e outros de sua época. Há pouco mais de um século, estes procedimentos manipulativos foram codificados dentro de um sistema e organizados como uma ciência por dois fundadores: David Daniel Palmer e Andrew Taylor Still, sendo denominados Quiropraxia e Osteopatia, respectivamente, por seus idealizadores (HOMOLA, 2006).

De acordo com a Federação Mundial de Quiropraxia, a quiropraxia é “uma profissão da saúde de nível superior envolvida no diagnóstico, tratamento e prevenção de distúrbios mecânicos do sistema musculoesquelético e o efeito destes distúrbios sobre a função do sistema nervoso e a saúde em geral, a qual se difere da medicina clássica pelo emprego de tratamento manual, que inclui manipulação ou ajustamento da coluna vertebral.” A manipulação articular vertebral, praticada pelo quiropraxista, é realizada sobre uma determinada articulação que se encontra com restrição na sua amplitude normal de movimento, e é definida como um movimento passivo da articulação que vai além da amplitude normal de movimento da articulação. O seu resultado é o aumento da magnitude do movimento da articulação manipulada, a redução de espasmos musculares na região tratada e a diminuição da dor musculoesquelética

(BIALOSKY et al., 2009). Portanto, o objetivo clínico da terapia de manipulação articular é restaurar a mobilidade normal da articulação e normalizar a fisiologia do sistema musculoesquelético e de outros sistemas envolvidos, como o sistema neural (PICKAR & BOLTON, 2012).

O uso da manipulação articular, com foco na prevenção e tratamento de alterações dolorosas no sistema musculoesquelético, tem crescido mundialmente nas últimas décadas. Diversos estudos têm sido realizados ao longo dos anos, sugerindo que a manipulação articular é efetiva no tratamento de distúrbios musculoesqueléticos, como na dor lombar, na dor cervical, na síndrome do túnel do carpo e em osteoartrites que afetam o joelho e o quadril (BIALOSKY et al., 2009; KOLBERG et al., 2010; KOLBERG et al., 2012; PICKAR & BOLTON, 2012). Enquanto estes estudos demonstram os benefícios clínicos decorrentes da manipulação articular, os mecanismos e os efeitos fisiológicos que suportam estes benefícios não são completamente compreendidos.

A manipulação articular é frequentemente teorizada como uma forma de corrigir as lesões mecânicas que acometem as articulações do sistema musculoesquelético, tais como as subluxações vertebrais. As subluxações vertebrais são definidas como um complexo de alterações funcionais, estruturais ou patológicas, que acometem a articulação e que podem levar a um comprometimento na integridade neural, influenciando, tanto localmente quanto sistemicamente, a homeostase. Geralmente são decorrentes de trauma ou de alterações funcionais que acometem a coluna vertebral, como as alterações posturais e perda da mobilidade articular, e seus sinais e sintomas são a presença

de alterações no tônus da musculatura paravertebral, presença de dor ou pontos de gatilhos durante a palpação da região em análise e restrição na amplitude normal de movimento da articulação (OWENS, 2002). Inicialmente, foi proposto que os efeitos benéficos associados à manipulação vertebral resultariam somente dos deslocamentos articulares consecutivos às manobras de manipulação vertebral. Assim, a manipulação produziria um efeito mecânico na articulação da coluna que geraria um deslocamento vertebral na ordem de 0,5-2 mm e, como resultado, geraria a melhora do quadro álgico do paciente (GEORGE et al., 2006; CORONADO et al., 2012; PICKAR & BOLTON, 2012). Atualmente, se especula que a efetividade da manipulação vertebral articular no tratamento das dores musculoesqueléticas pode estar associada a estes efeitos biomecânicos, mas também a efeitos no sistema nervoso que influenciam no relaxamento da musculatura, propriocepção e controle motor (FRYER E PEARCE, 2012). Algumas das alterações funcionais, como perda da mobilidade articular a longo prazo, podem resultar em sinais aferentes alterados ao sistema nervoso central (SNC), devido à relação de conexão entre as diversas estruturas anatômicas que compõem a coluna vertebral e o SNC. Assim, é pertinente pensar que uma força mecânica proveniente da manipulação articular vertebral iniciaria uma cascata de respostas neurofisiológicas da periferia para o SNC, como a ativação periférica de mecanorreceptores articulares e fusos musculares, ativando, assim, aferentes de baixo (A-Beta) e de alto limiar (A-delta e C), cujo sinal convergiria em direção às células do corno dorsal da medula espinhal, modulando a transmissão da resposta nociceptiva centralmente. Logo, a manipulação articular normalizaria a

biomecânica da articulação e, como consequência, normalizaria os estímulos alterados, provenientes dos aferentes articulares ao SNC, restabelecendo a função neurológica e melhorando os sintomas dolorosos (GEORGE et al., 2006; BIALOSKY et al., 2009; BOLTON & PICKAR, 2012; HENDERSON, 2012). Essa cascata de respostas é sugerida atualmente como responsável pelos resultados observados na clínica, embora os mecanismos intrínsecos que acompanham essa cascata são ainda pouco conhecidos.

Ainda que outras profissões utilizem a manipulação vertebral como forma de tratamento, a terapia manipulativa utilizada na quiropraxia tem como característica principal a manobra de alta velocidade e de baixa amplitude com uma linha de correção articular bem definida. Portanto, durante a manipulação vertebral, o quiropraxista deve controlar estes 3 fatores: a velocidade e a direção do impulso, além da magnitude da força sobre um segmento da coluna vertebral ou sobre outra articulação corporal (BOLTON E PICKAR, 2012; PICKAR E KANG, 2006). Embora a manipulação articular vertebral seja a principal forma de tratamento utilizada pelos quiropraxistas (PICKAR E KANG, 2006), estes profissionais podem ainda utilizar outras formas de tratamento na prática clínica, como técnicas que envolvem o uso de instrumentos manualmente operados que, quando acionados, disparam uma força mecânica com força e magnitude controladas. Apesar de existirem diversos instrumentos com essas características para o tratamento quiroprático, o “*Activator Adjusting Instrument*” (AAI, *Activator*®) é o mais popular deles (KAWCHUK et al., 2006).

O AAI é utilizado clinicamente em humanos para o tratamento de alterações

funcionais que afetam a coluna vertebral e demais articulações. Este aparelho é um instrumento manualmente operado que possui um sistema interno de molas que, quando acionado, desenvolve uma força de impacto ou “thrust” diretamente sobre a região a ser tratada, em alta velocidade, menor do que 0,1 milissegundos, e com uma direção precisa (KELLER et al, 1999; CREMER et al., 2006; KELLER et al., 2006). Até o momento existem cinco diferentes modelos. O *Activator®-4* (AAI-4) (Fig. 1) é o quarto modelo fabricado. Ele possui quatro diferentes níveis de força que podem ser regulados. Os níveis de força I e IV correspondem à menor e a maior força produzida pelo aparelho, (121 e 211 Newtons) respectivamente. Os níveis de força II e III possuem valores intermediários entre o I e o IV (123 e 115 Newtons) (COLLOCA et al., 2005).

Diversos estudos avaliaram a magnitude da força e a variabilidade da mesma frente ao uso das técnicas de manipulação articular vertebral e AAI (COLLOCA et al., 2005; KELLER et al, 1999; KAWCHUK et al., 2006; PICKAR E KANG, 2006;). Nestes estudos, é comum a utilização de uma célula de carga conectada a um sistema de coleta de dados, o qual permite quantificar a força aplicada sobre a célula de carga com o emprego das diferentes técnicas quiropráticas. Ainda que a



**Figura 1:** Instrumento manual de força mecânica, *Activator®*, modelo 4 (AAI-4). A seta indica a ponteira original do instrumento.

aplicação desses procedimentos não seja sobre um tecido biológico, como ocorre na clínica, é sugerido que o uso dos mesmos possibilita quantificar e estimar a magnitude do pico de força que provavelmente é aplicado aos tecidos biológicos com o uso das técnicas quiropráticas (COLLOCA et al., 2005; KAWCHUK et al., 2006). No estudo de Kawchuk e cols. (2006), os quais fizeram um comparativo entre os valores da força aplicada pelo AAI-4 e manipulação vertebral, ficou demonstrado que o AAI-4 produz força de menor variabilidade. Enquanto o pico de força com manipulação articular vertebral apresentou valores de 40N e 400 N (Newton) nas regiões cervical e sacro-ílica, respectivamente, o pico de força do AAI-4 foi de 121N e 211N, com o menor e o maior nível de gradação da força do aparelho, respectivamente (COLLOCA et al., 2005; FUHR E MENKE, 2005; KAWCHUK et al., 2006). Assim, a capacidade de aplicar força controlada sobre articulação é a vantagem que o uso do AAI, inclusive do AAI-4, apresenta quando comparado à manipulação vertebral. Segundo alguns autores, essa característica proporciona ao profissional que usa o *Activator*® possibilidade de redução nos riscos de lesões nos tecidos articulares (FUHR & MENKE, 2005).

Apesar do conhecimento da magnitude da força desenvolvida nos diferentes modelos de AAI (KELLER et al, 1999; COLLOCA et al., 2005; FUHR & MENKE, 2005;), pouco se sabe sobre os efeitos fisiológicos dessa força. Historicamente, os modelos animais têm sido utilizados experimentalmente para melhorar a compreensão de diversos distúrbios, como dor neuropática, câncer, diabetes

mellitus, pressão alta, entre outros, assim como auxiliar na pesquisa e no desenvolvimento de novas formas de tratamento para os mais variados processos patológicos (GUEDES et al., 2008; LIU, et al., 2009; KHANDEKAR et al., 2011; BARP et al., 2012; CHAN & CHAN, 2013; MAIONE et al., 2013; IMPELLIZZERI et al., 2014).

Na quiropraxia também há um crescimento de pesquisas que utilizam animais como modelos experimentais (PICKAR & WHELLER, 2001; CRAMER et al., 2004; IANUZZI et al., 2011; REED et al., 2013), inclusive com o uso do *Activator*® (SONG et al., 2006). Nesse último estudo citado, foi demonstrado o efeito do tratamento com *Activator*®, sobre a coluna lombar, em ratos com inflamação aguda no forame intervertebral de L5, induzida pela injeção local de agentes inflamatórios como bradicinina, serotonina, histamina e prostaglandina. Esse tratamento provocou redução nas sensibilidades mecânica e térmica, as quais foram aumentadas pela lesão. Além disso, reduziram a excitabilidade de neurônios do gânglio da raiz dorsal e fatores pró-inflamatórios nesse gânglio, demonstrando, assim, que o tratamento com *Activator*® é capaz de reduzir a sensação dolorosa nessas condições. A aplicação de AAI diretamente sobre os segmentos de L4-L5, durante a fase de remobilização após imobilização de membro posterior de ratos, também foi capaz de reduzir a sensibilidade mecânica (STIEVEN, 2010).

Todavia, a eficácia do tratamento com AAI não se limita apenas a sua aplicação sobre regiões da coluna vertebral. No estudo de DALCIN (2008) *apud* SCHIMIDT (2010), onde foram avaliados parâmetros da marcha após imobilização de joelho em ratos, seguido do tratamento com *Activator*® na região tibial durante

a fase de remobilização, foi observada recuperação da base de apoio, expansão dos dedos e do comprimento da marcha nos animais que receberam o tratamento. Ainda, recentemente foi demonstrado que o tratamento por duas semanas com *Activator*®, realizado na tíbia de ratos cujo membro posterior foi imobilizado por quatro semanas, também provocou o retorno da sensibilidade mecânica a valores similares ao do grupo controle, o que não ocorreu nos animais imobilizados com remobilização livre (TRIERWEILER et al., 2012; GÖTTERT, 2010).

Porém, diferentemente dos outros estudos que utilizaram o *Activator*® como terapêutica, o estudo de Trierweiler e cols. (2012) e Göttert (2010) inovaram e usaram uma ponteira adaptada que foi acoplada em uma extremidade do *Activator*® em substituição a sua ponteira original. Cabe ser destacado que a ponteira do *Activator*® é a parte do instrumento que encosta no tecido do animal ou paciente quando se faz a aplicação da força aos mesmos.

O objetivo da utilização da ponteira adaptada foi promover uma redução da área de contato do instrumento a fim de determinar uma melhor delimitação do ponto de contato do *Activator*® no rato, uma vez que esse animal possui massa corporal que é 350 vezes menor do que a de um homem de 70 kg. Com a redução, a área de contato da ponteira adaptada foi equivalente a 25% da área da ponteira original do instrumento, uma redução de cerca de quatro (04) vezes na área de contato em comparação com a ponteira original. Assim, a força desenvolvida pelo AAI ficou concentrada em uma menor área de contato. Como a área de contato é um dos fatores que influencia a magnitude da força, é possível que o uso da ponteira adaptada tenha proporcionado mudança no valor da força

aplicada ao animal. Para testar essa hipótese, o presente estudo utilizou uma célula de carga para determinar o valor do pico de força do AAI-4 com ponteira adaptada e original, quando o instrumento é aplicado por um quiropraxista experiente e quando se encontra firmemente seguro por um braço de metal. Avaliou ainda a sensibilidade mecânica em ratos tratados com AAI-4, com ponteira adaptada, durante a fase de remobilização, após imobilização da pata posterior direita, sendo a aplicação do AAI-4 realizada na região lombar da coluna vertebral (segmentos L5-L6), a fim de demonstrar se nessas condições também é efetivo o tratamento com *Activator*®. Ainda, foi avaliado o índice funcional dos nervos isquiático, tibial e fibular<sup>1</sup>, a fim de determinar se a imobilização provocou lesões nesses nervos.

<sup>1</sup>Fibular é a nova denominação em substituição ao termo “peroneal”, conforme última edição da Terminologia Anatomica elaborada pelo *Federative Committee on Anatomical Terminology* (FCAT).

## **2. OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo Geral**

O presente estudo determinou o valor do pico de força do AAI-4 com ponteira adaptada para uso em animais experimentais e com ponteira original, mediante emprego de célula de carga. Foi avaliado ainda o efeito do tratamento com AAI-4 com ponteira adaptada sobre o limiar mecânico de ratos sem e com imobilização do joelho da pata posterior direita. Para avaliar o possível efeito da imobilização sobre a função motora da pata, o presente estudo também determinou o índice funcional dos nervos isquiático, tibial e fibular nos animais que foram ou não imobilizados.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Determinação do valor do pico de força do AAI-4 com ponteira adaptada para uso em modelos animais e ponteira original:

- Para isso, se determinou, mediante o uso de célula de carga acoplada a um sistema de coleta de dados, o valor do pico de força do AAI-4 com ponteira adaptada para uso em animais experimentais e ponteira original, sendo as determinações realizadas nos quatro níveis de gradação de força desse instrumento (I, II, III e IV), e segundo dois protocolos experimentais: 1) o AAI-4 sendo aplicado sobre a célula de carga por um quiropraxista experiente, da mesma forma como é empregado na prática clínica, e 2) o AAI-4 sendo aplicado

sobre a célula de carga quando firmemente seguro em um braço de metal, para prevenir o efeito de qualquer carga adicional sobre a célula de carga durante o impulso do AAI 4.

- Efeito do tratamento com AAI-4 com ponteira adaptada sobre limiar mecânico e índice funcional do isquiático em ratos submetidos à imobilização da pata posterior: Para isto se avaliou:

- o limiar de sensibilidade mecânica, mediante emprego do teste de Von Frey eletrônico, em ratos machos, adultos, sem e com imobilização do joelho da pata posterior direita por 4 semanas e que receberam, durante a fase de remobilização, de 3 semanas, aplicação de AAI-4 com ponteira adaptada (nível de força I) na coluna vertebral lombar (segmentos L5-L6) três vezes por semana. Para isto o teste foi realizado antes da imobilização, ao término da imobilização, e ao final das 3 semanas de tratamento.
- o índice funcional dos nervos isquiático, tibial e fibular, mediante o teste de marcação das patas, em ratos, machos, adultos, sem e com imobilização do joelho da pata posterior direita por 4 semanas, a fim de determinar se a imobilização ocasionou déficit na função motora da pata imobilizada. Para isto o teste foi realizado imediatamente após o término do período de imobilização.

### 3 MATERIAS E MÉTODOS

#### 3.1 *Activator*®

Para a determinação dos valores do pico de força foi utilizado o quarto modelo do *Activator*®, o AAI-4, cujo fabricante é a empresa “Activator Methods International”, Ltda., situada no Phoenix, Arizona, USA. Como este instrumento possui quatro (04) níveis de gradação de força (I, II, III e IV), os testes experimentais foram realizados em cada um deles. Cabe ser aqui novamente mencionado que o nível I corresponde ao menor valor da força disparada pelo instrumento, enquanto no nível IV se desenvolve o máximo de força. Os níveis II e III correspondem aos valores entre os dos níveis I e IV.

Merece também ser dito que para uma adequada manipulação para o disparo ou “thrust” do AAI 4, o profissional precisa realizar dois procedimentos: inicialmente, ele deve realizar uma pressão axial do AAI 4 sobre a superfície alvo, até que ocorra a compressão e a retração da porção retrátil, localizada na extremidade oposta àquela adaptada para suporte da mão do profissional. É no final da porção retrátil que se localiza a ponteira do instrumento. Essa pressão inicial pode ser considerada como uma etapa anterior ao impulso do AAI 4 e como uma fase de “engatilhamento” do instrumento. Feita a pressão inicial, o profissional deve realizar uma segunda pressão, que é manual, na zona de disparo do aparelho, situada na porção oposta à retrátil. Essa pressão deve ser suficiente para que o AAI-4 produza o disparo, ou seja, a força mecânica no nível desejado de gradação de força do instrumento, a qual será aplicada diretamente sobre a região a ser tratada. Essa força mecânica desenvolvida pelo AAI-4 é consequência da compressão de um sistema interno de molas do instrumento,

que estão integradas em um sistema fechado que, a partir do processo de “engatilhamento”, o instrumento está apto a disparar a sua força mecânica. Se a fase de “engatilhamento” não for realizada como foi descrita acima, ainda assim, o instrumento pode realizar o disparo, mas o pico de força produzido por este disparo será próximo a um valor nulo. Assim, o AAI-4, ao ser aplicado, imprime uma força de intensidade controlada, com alta velocidade de disparo, entre 0,1-0,5ms.

Essas características do AAI-4 foram destacadas para facilitar o entendimento dos dois protocolos experimentais usados para a determinação do valor do pico de força desse aparelho. No primeiro deles, o AAI-4 foi empregado com o propósito de quantificar o pico de força desenvolvido pelo AAI-4, em seus diferentes níveis de força e com as ponteiros adaptada e original, quando um quiropraxista experiente disparou o instrumento. Esse procedimento permitiu determinar o valor do pico de força nas condições usadas na prática clínica. No segundo protocolo, o AAI-4 foi firmemente preso a um braço de metal, para aplicação do “thrust”, a fim de prevenir o efeito de qualquer carga adicional sobre a célula de carga durante o impulso do AAI-4.

Para a avaliação do efeito do tratamento com AAI-4 durante a fase de remobilização, após ratos terem sido submetidos à imobilização da pata posterior direita, o AAI-4 foi aplicado apenas pelo quiropraxista experiente, e com o aparelho no nível de gradação de força I e com ponteira adaptada.

### **3.2 Ponteiros**

A ponteira original do AAI-4 é manufaturada em polímero de silicone. Esta ponteira possui área de contato de cerca de 0,785 cm<sup>2</sup> (Fig. 1). A ponteira adaptada para uso em animais (Fig. 2), a qual foi uma doação do professor Dr. Günther Gehlen, foi confeccionada em nylon, com área de contato que correspondia a ¼ (25%) daquela da ponteira original, ou seja, 0.196 cm<sup>2</sup>.

Essas ponteiros foram utilizadas na etapa experimental de determinação do valor do pico de força do AAI-4. A ponteira adaptada foi usada ainda nas avaliações do efeito do tratamento com esse instrumento na fase de remobilização sobre o limiar mecânico e o índice funcional do isquiático de ratos com imobilização da pata posterior direita.



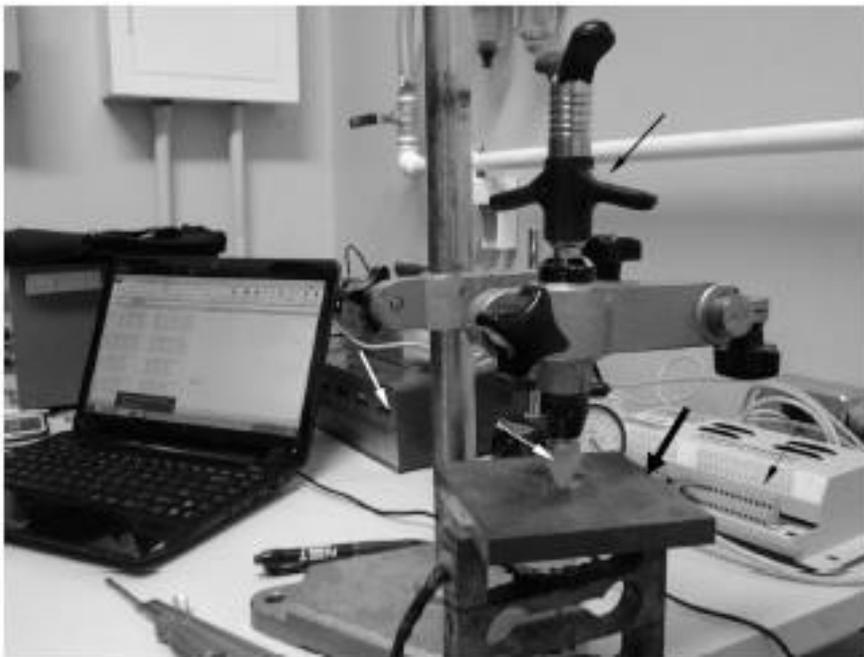
**Figura 2:** Fotografia da ponteira para uso no *Activator*® em substituição à ponteira original desse instrumento, quando o mesmo for empregado em estudos com modelos animais. Fonte: Retirado de Schmitt, 2010.

### 3.3 Determinação do valor do pico de força do AAI-4

Para a determinação do valor do pico de força do AAI-4 foi usada célula de carga do tipo “S” (Fig. 3), com capacidade de 30 kgf, fabricada pelo Grupo de Mecânica Aplicada (GMAp), do departamento de Engenharia Mecânica, vinculado a Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Para os testes, a célula de carga foi rigidamente montada sobre uma mesa e o AAI-4 aplicado perpendicularmente sobre ela para a medida do pico de força resultante do impulso (*thrust*). Os dados da célula de carga foram repassados a um conversor analógico de 16-bits (USB1608HS2AO, *Measurement Computing*, MA, USA), o qual estava conectado a um conversor de sinais com 5 entradas (manufaturado pelo GMAp) que, por sua vez, estava conectado a um amplificador de corrente (Modelo TL074, Texas Instruments Inc., TX, USA), ligado a um computador (Fig. 3). Os dados obtidos foram analisados mediante uso do software Agilent (UEE Pro 7.5, Agilent Technology, CA, USA).

As determinações dos picos de força foram realizadas de acordo com os dois protocolos experimentais. Inicialmente, o AAI-4 foi aplicado perpendicularmente pelo quiropraxista sobre a célula de carga. Feito isso, o AAI-4 foi fixado perpendicularmente no braço de metal e disparado sobre a célula de carga.

Em cada um dos protocolos, foram realizados três disparos consecutivos, tendo entre cada um deles intervalo de 10 segundos. Esse procedimento foi utilizado para cada um dos quatro níveis de gradação de força do AAI-4, tanto com a ponteira adaptada como com a ponteira original. Em cada teste foram coletados 50.000 pontos por segundo, durante intervalo de 3 segundos.



**Figura 3:** Fotografia mostrando o *Activator*®, modelo 4 (seta de cor preta e fina), com ponteira adaptada para uso em animais (seta de cor branca e pontilhada), seguro por um braço de metal. Pode se observar ainda célula de carga (seta de cor preta grossa), conversor de sinais (seta de cor preta fina e pontilhada) e condicionador de sinais (seta de cor branca fina).

### 3.4 Animais: Procedência e Manutenção

Neste estudo foram empregados ratos *Wistar*, machos, adultos, com peso entre 200 e 300 g, obtidos do CREAL do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Estes animais permaneceram no ratário do Departamento de Ciências Morfológicas desta mesma universidade, antes e após os procedimentos, onde foram alimentados com ração adequada *ad libidum* e mantidos sob condições controladas de luz (ciclo claro/escuro de 12 horas) e temperatura (22-24°C). Para a realização dos experimentos, os animais foram separados aleatoriamente e acondicionados em caixas de plástico adequadas (dois animais/caixa), com assoalho de maravalha e livre acesso à alimentação e água. A limpeza das caixas foi realizada, no máximo, a cada dois dias. O projeto que antecedeu a realização deste trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS (cadastro CEP: 21462).

### 3.5. Grupos Experimentais

Os ratos foram divididos nos seguintes grupos experimentais, cada um composto por 06 (seis) animais:

- a) Grupo controle: ratos que não sofreram imobilização do membro posterior direito.
- b) Grupo controle Activator: ratos que não sofreram imobilização do membro posterior direito e foram submetidos ao tratamento com AAI-4,

no nível de gradação de força I e com ponteira adaptada, 3 vezes por semana, durante 3 semanas.

- c) Grupo Imobilização-Remobilização-Livre: ratos que sofreram imobilização do joelho da pata posterior direita por 4 semanas e, após, durante o período de remobilização de 3 semanas, permaneceram livres em suas caixas criadouros.
- d) Grupo Imobilização-Remobilização-Activator®: ratos que sofreram imobilização do joelho da pata posterior direita por 4 semanas e, após, durante o período de remobilização, receberam aplicação do AAI-4, no nível de gradação de força I e com ponteira adaptada, sobre a região lombar da coluna vertebral (segmentos L5-L6), sendo este tratamento realizado 3 vezes por semana, durante 3 semanas.
- e) Grupo Sham: ratos que sofreram imobilização do joelho da pata posterior direita por 4 semanas e, após, durante o período de remobilização, receberam aplicação do AAI-4, no nível de gradação de força I e com ponteira adaptada, sobre a região lombar da coluna vertebral (segmentos L5-L6), sendo este tratamento realizado 3 vezes por semana, durante 3 semanas. Porém, nesse grupo de animais não houve a aplicação de pressão axial sobre a região da coluna vertebral, de modo a comprimir a porção retrátil do AAI-4, ou seja, não ocorreu o “engatilhamento” do instrumento, muito embora tenha sido realizada a pressão manual para o seu disparo.

### **3.6. Procedimento de Imobilização e Remobilização**

Previamente a realização do procedimento para imobilização da pata posterior direita, os ratos dos diferentes grupos experimentais foram submetidos

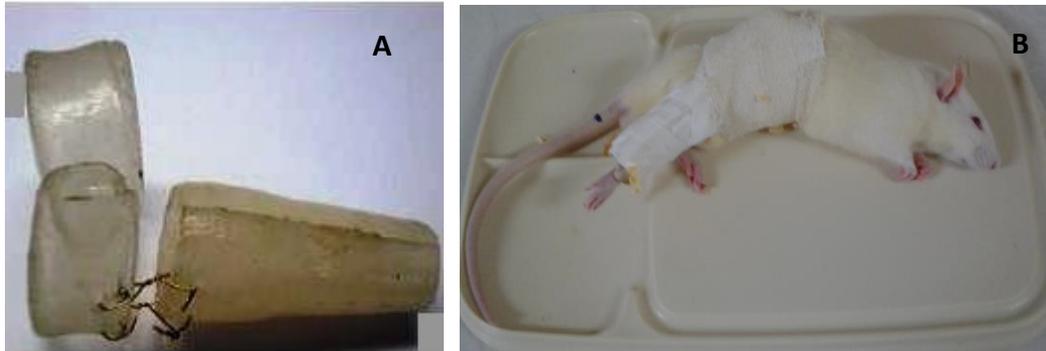
aos testes de Von Frey e de marcação da pata, que serão descritos posteriormente. Para o procedimento de imobilização, apenas os ratos pertencentes aos grupos com imobilização foram anestesiados com uma mistura de cetamina (90 mg/kg de peso corporal) e xilazina (10 mg/kg de peso corporal). Após anestesia, os ratos foram submetidos aos procedimentos para imobilização do joelho da pata posterior direita. Para isto talas, confeccionadas em resina de poliéster cristal (Fig. 4A), foram colocadas do tornozelo até a articulação coxofemoral do rato, de modo que o membro posterior direito permaneceu em extensão do joelho e flexão plantar do tornozelo (Fig. 4B).

Para melhor permanência da tala na pata posterior direita do rato, a mesma foi fixada a uma cinta colocada no abdome do animal (Fig. 4B). Após este procedimento, os ratos foram colocados em suas caixas moradias, 2 ratos/caixa, e mantidos no Biotério do Departamento de Ciências Morfológicas, do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS. Estes animais tiveram livre acesso à água e alimentação e foram mantidos sob condições de luz e temperatura como descritas anteriormente. A limpeza das caixas foi realizada, no máximo, a cada dois dias.

Os animais permaneceram com o aparato de imobilização por 4 semanas. Durante este período foram examinados diariamente pelo pesquisador para verificação das condições das talas. Os ratos que tiveram alguma alteração dérmica grave, como infecção na pata direita ou no abdômen, e/ou inchaço na pata direita, foram excluídos do trabalho e mortos por decapitação.

Ao final das 4 semanas de imobilização, o aparato foi removido e os animais foram, em seguida, submetidos aos testes de Von Frey e de marcação das patas. Após, os animais foram colocados em suas caixas moradias para início da remobilização. O grupo Imobilização-Remobilização-Livre permaneceu livremente em suas caixas moradias por 3 semanas. Os grupos Imobilização-Remobilização-Activator e Sham foram submetidos ao tratamento com AAI-4, descrito logo a seguir. Após o término das três semanas, os ratos destes grupos

experimentais foram submetidos novamente aos testes de Von Frey e de marcação das patas.



**Figura 4** – Fotos mostrando a tala (A) usada para imobilização da pata posterior de rato, e este animal com o aparato de imobilização na pata posterior direita (B). Note a cinta abdominal envolvendo essa região do rato. Foto A retirada de **Stieven, 2010**.

### 3.7. Tratamento com AAI-4

Para esse tratamento, os ratos receberam aplicação de AAI-4, com nível de gradação de força I e ponteira adaptada, na região lombar da coluna vertebral (segmentos L5-L6). Esse tratamento foi feito durante três (03) semanas, sendo realizadas três (03) aplicações por semana (Fig.5).

O AAI-4 foi aplicado por quiropraxista experiente (Felipe Coutinho), sempre no mesmo horário, ao final da tarde.



**Figura 5.** Foto mostrando a aplicação do Activator®, modelo 4, com ponteira adaptada para uso em animais experimentais, sobre a coluna lombar (segmentos L5-L6) de ratos.

### 3.8. Teste de Von Frey

Os animais dos grupos experimentais Imobilização-Remobilização-Livre, Imobilização-Remobilização-Activator e Sham foram testados para determinação do limiar de sensibilidade mecânica antes da imobilização, após a retirada do aparato imobilizador e ao final do tratamento com AAI-4. Os grupos controles (controle e controle-AAI-4), por sua vez, foram testados no momento em que os demais animais dos grupos com imobilização foram testados antes da realização da intervenção. Após, os animais dos grupos controles foram novamente submetidos ao teste de Von Frey ao término do tratamento com AAI-4, ou seja, ao final das três semanas de tratamento. Esses animais não foram testados no período imediatamente após a retirada do aparato imobilizador pelo motivo de não terem sido submetidos a esse procedimento.

Para a determinação do limiar de sensibilidade mecânica, foi utilizado o aparelho analgesímetro digital, modelo EFF 301, da Insight, Brazil (Fig.6). Esse aparelho possui um transdutor de pressão conectado a um contador digital de força expressa em gramas (g). O contato do transdutor de pressão à pata dos animais é realizado por meio de uma ponteira de polipropileno com 0.5 mm de diâmetro adaptada a este. Para o teste, os animais foram colocados individualmente em caixas de vidro (12x20x20 cm) apoiadas sobre uma superfície elevada e revestida por tela metálica. Após aclimatação neste ambiente por 20 minutos, uma pressão inócua, de intensidade crescente, foi aplicada sob a superfície plantar da pata direita do rato. Foram consideradas como respostas positivas aquelas em que o animal realizava o movimento de retirada do membro posterior imediatamente após o estímulo mecânico. Nesse momento, o valor da força, em gramas, era automaticamente registrado e considerado como o limiar de sensibilidade mecânica. Foram descartadas as respostas seguidas de caminhada. Para cada animal foram realizadas cinco (05) aplicações, com intervalo de 5 a 10 segundos entre cada uma delas. Para cada animal, o valor de seu limiar de retirada, em gramas, foi a média dos valores obtidos nas cinco aplicações.

Este teste foi realizado sempre em ambiente silencioso e ao início da manhã. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média dos valores do limiar de retirada da pata, em gramas, obtidos dos animais nos diferentes momentos de realização dos testes.



**Figura 6:** Analgesímetro digital, modelo EFF 301, da Insight, Brazil, utilizado na realização do teste de Von Frey eletrônico.

### 3.9. Determinação do Índice Funcional do Isquiático

Os ratos dos diferentes grupos experimentais foram submetidos à análise da função motora da pata para determinação do Índice Funcional do Isquiático (IFI), do tibial posterior (IFT) e do fibular (IFF). Esta determinação ocorreu apenas após a retirada do aparato imobilizador dos grupos com imobilização. Nesse momento, os ratos dos dois grupos controles também foram submetidos a esse teste para posterior comparação dos resultados.

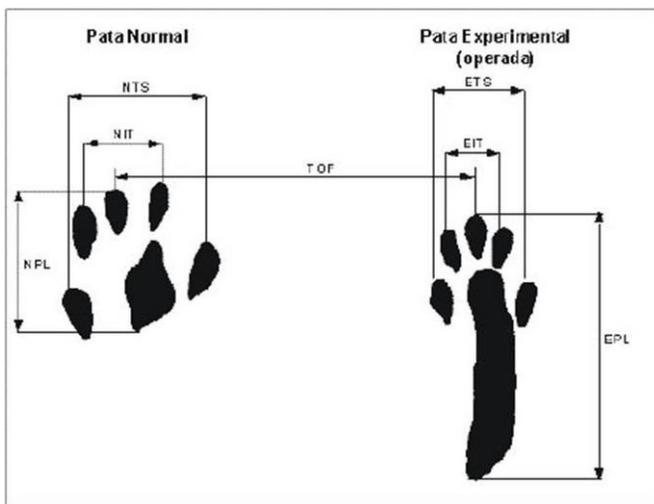
A avaliação funcional dos nervos, descrita por De Medinacelli (1982) e Bain e cols. (1988), foram realizadas pelo teste da marca das patas (*walking track analysis*), o qual constitui um método não invasivo de análise funcional dos nervos isquiático, tibial e fibular, que avalia alterações de marcha consequentes à lesão na pata por meio da impressão de pegadas. Nestes testes, o animal foi colocado em um corredor de madeira (8,5x100 cm) com acesso a um ambiente escuro. O chão do corredor foi forrado com uma tira de papel branco, sulfite, de mesma medida, e o rato a ser testado teve suas patas traseiras marcadas com tinta carimbo preta. A seguir, o animal foi solto no início do corredor para se locomover em direção ao ambiente escuro, ao final do corredor, deixando impressas as marcas de suas patas traseiras. Todos os animais foram anteriormente treinados com três passagens pelo corredor, permitindo a adaptação e exploração do local. Foram selecionadas para análise as pegadas com qualidade e clareza de impressão, sendo aferidas as patas imobilizadas (direita) e contralaterais (esquerda). As aferições foram feitas sempre pelo mesmo examinador e os índices funcionais calculado conforme as fórmulas abaixo:

$$\text{IFI} = -38,3 \frac{(\text{EPL-NPL})}{\text{NPL}} + 109,5 \frac{(\text{ETS-NTS})}{\text{NTS}} + 13,3 \frac{(\text{EIT-NIT})}{\text{NIT}} - 8,8$$

$$\text{IFT} = -37 \frac{(\text{EPL-NPL})}{\text{NPL}} + 104,4 \frac{(\text{ETS-NTS})}{\text{NTS}} + 45,6 \frac{(\text{EIT-NIT})}{\text{NIT}} - 8,8$$

$$\text{IFF} = 174,9 \frac{(\text{EPL}-\text{NPL})}{\text{NPL}} + 80,3 \frac{(\text{ETS}-\text{NTS})}{\text{NTS}} - 13,4$$

A pata esquerda, ou normal, corresponde à letra N; a pata imobilizada, ou experimental, à letra E. Foram realizadas as medidas: da extensão da pegada (PL: distância da extremidade do 3º dedo até o calcâneo), da largura da mesma (TS: distância entre o 1º e 5º dedo), e da distância entre os dedos intermediários (IT: 2º e 4º dedo) das patas traseiras (Fig. 7). Os valores obtidos por estas fórmulas foram considerados como um índice da condição funcional dos nervos isquiático, tibial e fibular, expresso em déficit funcional. Variações de zero a  $\pm 11$  estavam nos desvios de normalidade para a fórmula, sendo que zero representa função normal e  $-100$  representa perda total da função do nervo. Valores intermediários correspondem a déficits parciais de função.



**Figura 7:** Impressão em papel da pegada de um rato que sofreu lesão em uma das patas posteriores (operada). Para a impressão, esse animal teve pintada a superfície plantar das patas posteriores. Note os parâmetros que são medidos para calcular o Índice Funcional dos nervos Isquiático, Tibial e Fibular. N: Normal; E: experimental; TS: abertura total dos dedos (1º ao 5º); IT: abertura total dos dedos intermediários (2º ao 4º); PL: comprimento da pegada. Adaptado de Monte-Raso et al.,2006.

#### 4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O cálculo do “n” (número mínimo de animais) foi baseado nos estudos onde se utilizou imobilização de membro nas condições usadas no presente estudo (He, 2009; Stieven, 2010) e teste de Von Frey (Miura et al., 2011; Yowtak et al., 2011). Foi estabelecido um nível de significância de 0,05. Nenhuma perda foi assumida para esse estudo. Assim, chegou-se a um número amostral de 06 animais por grupo (5 grupos – 30 animais no total).

Os dados dos valores de pico de força do AAI-4 foram comparados pelo teste de análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguido pelo pós-teste de Tukey. Os fatores considerados foram níveis de gradação de força e tipos de ponteira.

Os dados do teste de sensibilidade mecânica (Teste de Von Frey) foram analisados pelo teste de análise de variância (ANOVA) de amostras repetidas. Foram comparados os valores pré-imobilização, pós-imobilização e pós-tratamento dentro de cada grupo. Para análise estatística dos dados dos índices funcionais dos nervos isquiático, tibial posterior e fibular foi utilizada análise de variância (ANOVA) de uma via, e feita a comparação entre os diferentes grupos experimentais no momento da retirada do aparato imobilizador dos ratos com imobilização.

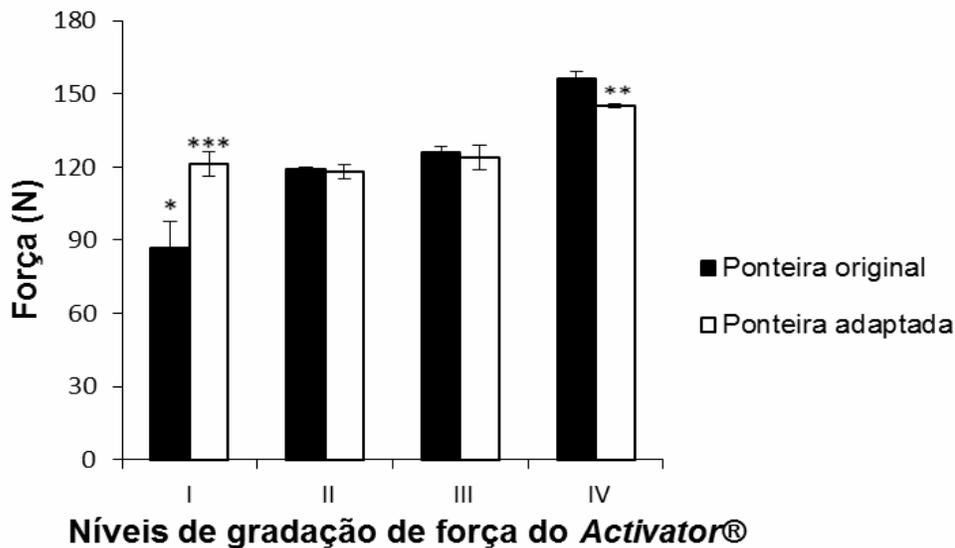
Para os testes foram consideradas diferenças estatisticamente significativas quando o valor de  $P$  foi  $<0.05$ . Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o software Sigma Stat 3.5.

## 5 RESULTADOS

Quando o AAI 4 com ponteira adaptada foi aplicado manualmente pelo quiropraxista (primeiro protocolo experimental), o valor do pico de força no nível I do instrumento foi de 121N, enquanto com ponteira original foi de 87N. O valor encontrado com a ponteira adaptada foi, então, 39% maior ( $P=0,001$ ) do que aquele com ponteira original (Fig. 8).

O pico de força do AAI-4 no nível de força IV, com ponteira adaptada, aumentou em torno de 20% quando comparado ao valor do nível I, com essa ponteira ( $P=0,0013$ ). O valor encontrado para o pico de força do AAI 4, com ponteira adaptada, no nível de força IV foi de 145N, enquanto com a ponteira original o valor foi de 156N. Já a diferença entre esses valores não foi estatisticamente significativa. Nenhuma mudança estatisticamente significativa foi encontrada no valor do pico de força do AAI 4 com ponteira adaptada nos níveis II e III quando comparados com o nível I de força (Fig. 8). Porém, com ponteira original houve aumento significativo ( $P=0,001$ ) do valor do pico de força obtido no nível I em relação aos demais níveis.

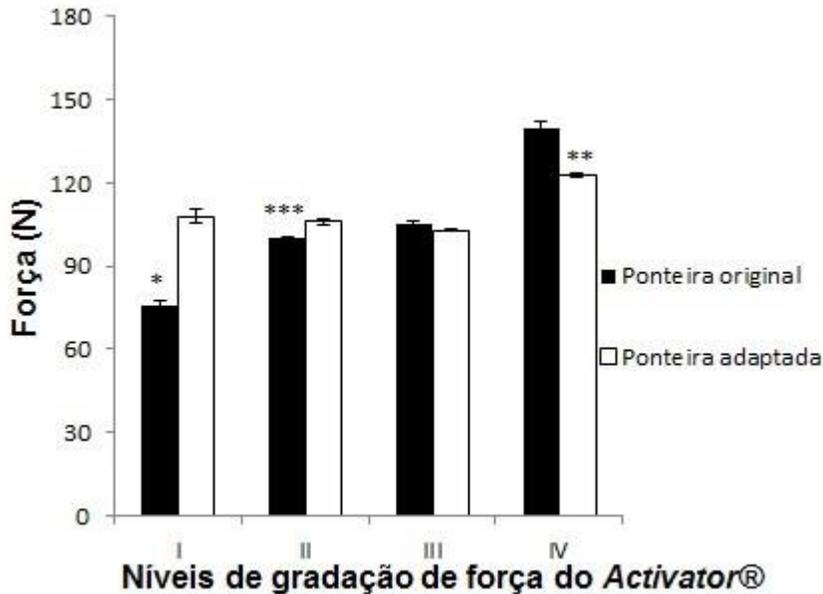
Os animais que foram imobilizados tiveram ganho de peso similar ao dos ratos controle (dados não mostrados).



**Figura 8:** Média do pico de força do *Activator*®, modelo 4, com ponteira adaptada e original nos diferentes níveis de força do instrumento (I, II, III e IV). Os valores do pico de força foram obtidos quando o instrumento foi perpendicularmente aplicado pelo quiropraxista sobre uma célula de carga. Os dados representam a média  $\pm$  erro padrão da média; \* indica diferença estatisticamente significativa quando o valor do nível de força I é comparado com os outros níveis de força do instrumento com ponteira original. \*\* indica diferença significativa quando o nível de força IV do AAI 4 é comparado com o nível I do instrumento com ponteira adaptada; \*\*\* indica diferença estatisticamente significativa quando o nível de força I do AAI 4 com ponteira adaptada é comparado ao nível de força I do instrumento com ponteira original (ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Tukey,  $P < 0,05$ ).

O uso da ponteira adaptada também aumentou significativamente os valores do pico de força no nível I quando o AAI-4 4 estava rigidamente seguro pelo braço de metal (segundo protocolo experimental). As alterações foram similares aquelas encontradas quando o AAI 4 com ponteira adaptada e ponteira original foram aplicados diretamente pelo quiropraxista sobre a célula de carga. Os valores obtidos foram os seguintes: com ponteira adaptada (I: 108N; II: 106N; III:

103N; IV: 123N); com ponteira original (I: 76N; II: 100N; III: 105N; IV: 140N) (Fig. 9).



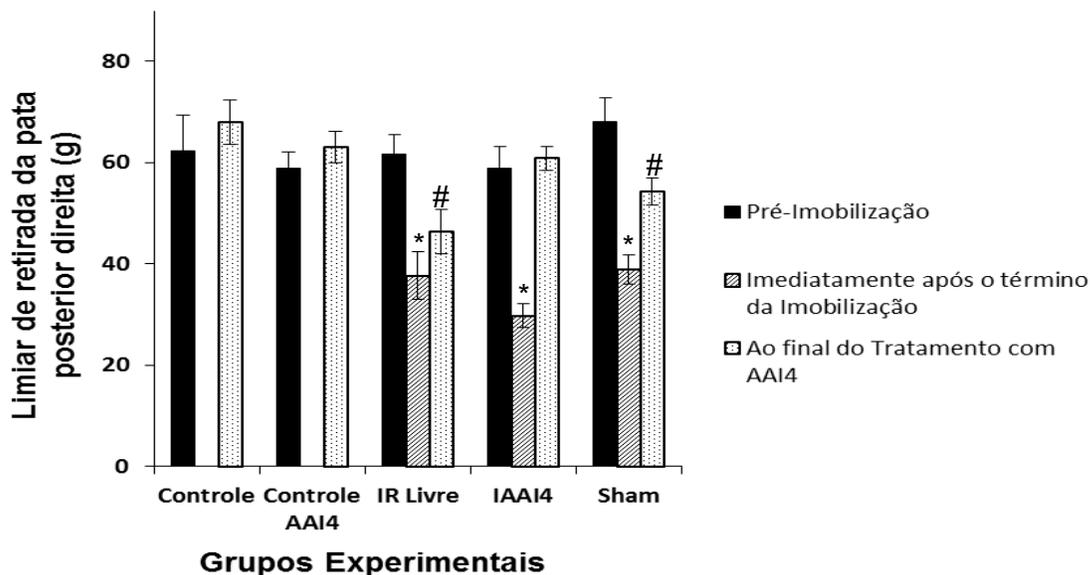
**Figura 9:** Média do pico de força do *Activator*®, modelo 4, com ponteira adaptada e original nos diferentes níveis de força do instrumento (I, II, III e IV). Os valores do pico de força foram obtidos quando o instrumento, firmemente seguro por um braço de metal, foi perpendicularmente aplicado sobre uma célula de carga. Os dados representam a média  $\pm$  erro padrão da média; \* indica diferença estatisticamente significativa quando o nível de força I do AAI 4 é comparado com os outros níveis de força do instrumento com ponteira original. \*\* indica diferença significativa quando o nível de força IV do AAI 4 é comparado com o nível I do instrumento com ponteira adaptada; \*\*\* indica diferença estatisticamente significativa quando o nível de força I do AAI 4 com ponteira adaptada é comparado ao nível de força I do instrumento com ponteira original (ANOVA de duas vias seguido por pós-teste de Tukey,  $P < 0,05$ ).

Nota-se, portanto, que o pico de força do AAI 4, com ponteira adaptada, no nível de força I, é aproximadamente 80% do valor máximo desenvolvido por esse aparelho nessas condições. Ainda, enquanto o valor do pico de força do AAI 4, com ponteira adaptada, teve aumento de 20% do nível de força mínimo para o máximo, o AAI 4 com ponteira original apresentou aumento gradual.

As respostas ao teste de sensibilidade mecânica (Von Frey eletrônico), realizado na pata direita dos ratos dos diferentes grupos experimentais, não variaram significativamente nos animais dos diferentes grupos experimentais antes da realização da imobilização. Ainda, a resposta a esse teste também não diferiu significativamente nos grupos controle e controle tratado com AAI-4. Todavia, a resposta ao teste de sensibilidade mecânica estava significativamente reduzida ( $P < 0,001$ ) logo após a retirada do aparato imobilizador, o que indica aumento nessa sensibilidade (Fig. 10).

O tratamento com AAI-4, por três semanas, durante a fase de remobilização, provocou o retorno da sensibilidade mecânica a valores similares àqueles obtidos antes da imobilização, indicando a eficiência do tratamento com AAI-4 nessa condição (Fig. 10). Nos ratos que receberam o tratamento sham também houve recuperação do limiar de sensibilidade mecânica, porém o valor obtido após o término do tratamento foi cerca de 79% daquele antes da imobilização ( $P < 0,001$ ), o que indica recuperação menor nesses animais.

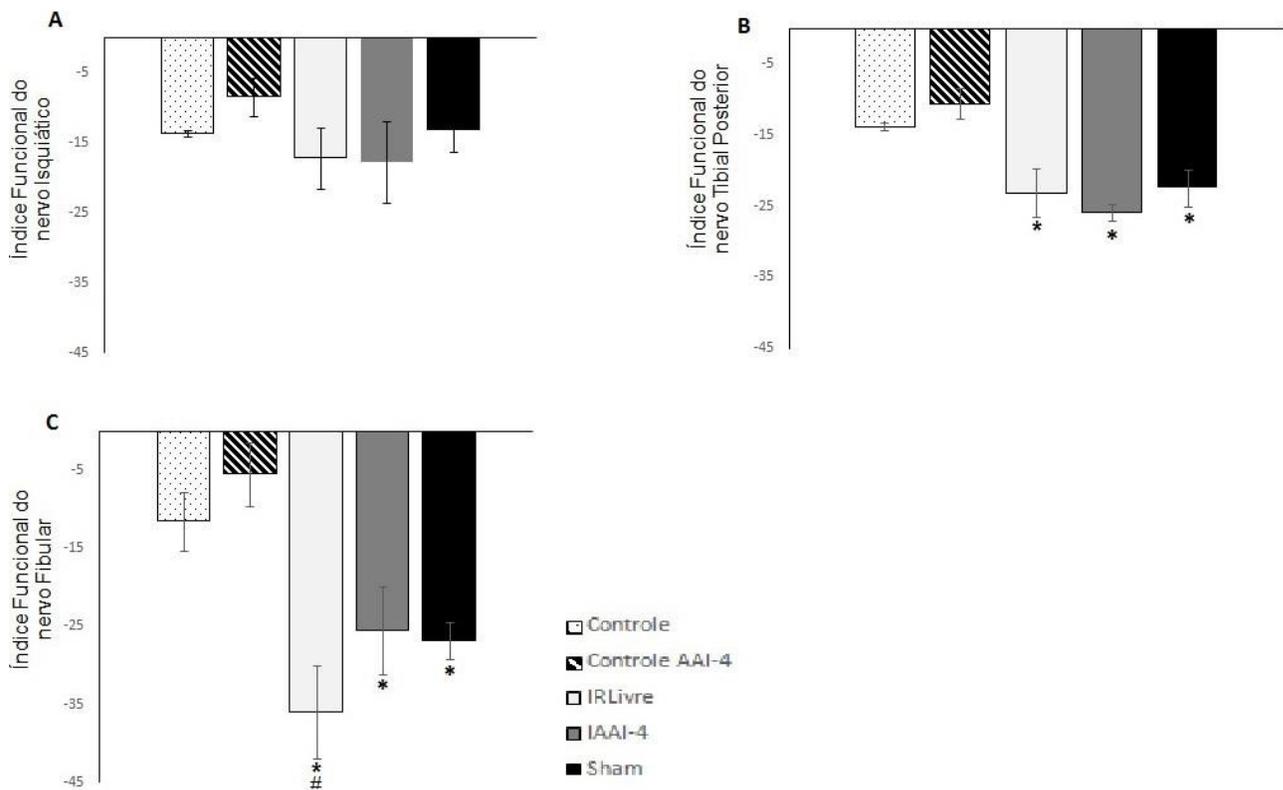
A eficiência do tratamento com AAI-4 ainda se ressalta quando se compara os valores obtidos nos ratos tratados com AAI-4 com aqueles dos animais que tiveram remobilização livre. Nesse último grupo de animais, o limiar de sensibilidade mecânica também aumentou ao final das três semanas, mas o valor correspondeu a apenas foi 74% daquele obtido antes da imobilização, ou seja, um percentual menor de recuperação quando comparado ao dos ratos que receberam tratamento com AAI-4, onde o retorno dos valores da sensibilidade mecânica foi total (Fig. 10).



**Figura 10:** Medida do limiar de retirada, em gramas, mediante realização do teste de Von Frey eletrônico na superfície plantar da pata posterior direita de ratos que tiveram ou não imobilização do joelho dessa pata por quatro semanas, seguido, após esse período, de fase de remobilização, com duração de três semanas, onde receberam aplicação do *Activator Adjusting Instrument* (AAI, *Activator*®) três vezes por semana na região lombar da coluna vertebral (segmentos L5-L6). Para aplicação o AAI-4 estava com ponteira adaptada para uso em animais experimentais e no nível de força I desse instrumento. Os dados representam a média±erro padrão da média das respostas de retirada da pata. \* indica diferença significativa entre os períodos "imediatamente após a retirada da imobilização" e "pré-imobilização". # representa diferença significativa entre os períodos "ao final do tratamento com AAI-4" e "pré-imobilização" (ANOVA de amostras repetidas seguida do pós-teste de Bonferroni para comparações múltiplas,  $P < 0,05$ ). Controle, ratos que não sofreram nenhuma intervenção cirúrgica; Controle AAI-4, ratos que não sofreram nenhuma intervenção cirúrgica e foram submetidos ao tratamento com AAI-4; IR Livre, ratos que sofreram imobilização e, após, durante o período de remobilização, permaneceram livres em suas caixas criadouros; IAAI-4, ratos que sofreram imobilização

e, após, durante o período de remobilização, receberam aplicação do AAI-4; Sham, ratos que sofreram imobilização e, após, durante o período de remobilização, receberam aplicação do AAI-4 sem o “engatilhamento” do instrumento, ou seja, sem a compressão da porção retrátil do AAI-4.

Nas respostas ao teste da avaliação da função motora da pata se observa que o IFI não modificou significativamente nos ratos que tiveram imobilização da pata posterior direita. Porém, os valores dos IFT e IFF foram significativamente mais reduzidos nos grupos imobilizados (Fig. 11).



**Figura 11:** Medida do Índice Funcional dos nervos Isquiático (A), Tibial posterior (B) e Fibular (C) em ratos sem e com imobilização do joelho da pata posterior direita. Os dados representam a média±erro padrão da média. \* indica diferença significativa entre os grupos submetidos à imobilização (IRL, IACT e Sham) e o grupo Controle AAI-4. # indica diferença significativa entre o grupo IRL e o controle (ANOVA de uma via,  $P < 0,05$ ). Controle AAI-4, ratos que não sofreram nenhuma intervenção cirúrgica e foram submetidos ao tratamento com AAI-4; IR Livre, ratos que sofreram imobilização e, após,

durante o período de remobilização, permaneceram livres em suas caixas criadouros; IAAI-4, ratos que sofreram imobilização e, após, durante o período de remobilização, receberam aplicação do AAI-4; Sham, ratos que sofreram imobilização e, após, durante o período de remobilização, receberam aplicação do AAI-4 sem o “engatilhamento” do instrumento, ou seja, sem a compressão da porção retrátil do AAI-4.

## 6 DISCUSSÃO

Os dados do presente estudo mostraram que o uso de ponteira adaptada no AAI 4 provoca acréscimo acentuado no pico de força no nível I, nos dois protocolos experimentais aqui avaliados. O valor nesse nível corresponde a 80% do máximo valor do pico de força, ou seja, daquele obtido no nível IV do AAI 4. Apesar dessa mudança, os valores do pico de força do AAI 4 com ponteira adaptada e original foram similares no nível de força IV. Como nenhuma mudança significativa ocorreu também nos níveis de força II e III do AAI 4 com ponteira adaptada e, nesses níveis, os valores foram similares aos encontrados no AAI 4 com ponteira original, fica evidente que o pico de força encontra-se já elevado no nível I de força do instrumento quando se usa a ponteira adaptada. Desta forma, houve pouca mudança no pico de força do nível mínimo para o nível máximo do AAI-4 com ponteira adaptada. Isso parece ser uma resposta característica do AAI 4 com ponteira adaptada, pois foi observada nos dois protocolos aqui estudados. Portanto, o uso de ponteira adaptada praticamente determina o valor máximo de força no nível I do AAI-4.

A mudança gradual nos valores do pico de força do AAI-4, do nível mínimo para o máximo, quando a ponteira original foi usada, também ocorreu em outros estudos (COLLOCA et al., 2004; 2005; KAWCHUK et al., 2006). Assim, nossos resultados com ponteira original reproduziram aqueles encontrados na literatura. Isto reforça nossos resultados das alterações nos valores do pico de força do AAI-4 com ponteira adaptada e sugere que as diferenças são resultantes do uso desta ponteira. Como a ponteira adaptada reduziu a superfície de contato do AAI 4 em

cerca de 4 vezes, a energia liberada pelo AAI-4, que com ponteira original é transferida para sua maior área de contato, foi concentrada nessa menor área, que corresponde a 25% da superfície de contato da ponteira original. Portanto, é possível que o aumento do pico de força do AAI-4, com ponteira adaptada, está relacionado a redução da área da superfície de contato da ponteira adaptada. Essa hipótese parece válida desde que ponteira adaptada aumentou os valores do pico de força do AAI-4 de forma similar nos dois protocolos experimentais realizados no presente estudo, quando o AAI-4 foi aplicado sobre a célula de carga pelo quiropraxista, e quando estava rigidamente seguro pelo braço de metal.

Os dados do segundo protocolo experimental também reforçam que o papel da ponteira se dá sobre o pico de força do AAI-4. Nessa condição, foi avaliada apenas a força disparada pelo instrumento, pois foram praticamente nulos os efeitos de possíveis interferências externas sobre o sistema. Contudo, não se pode excluir o possível efeito do material com que foi confeccionada a ponteira adaptada sobre o valor do pico de força do AAI-4. A ponteira adaptada foi fabricada em nylon, enquanto a ponteira original foi feita de silicone. Essa diferença de materiais pode ter interferido nos valores determinados em nosso estudo para o valor do pico de força do AAI-4. Porém, para o esclarecimento dessa questão torna-se necessária a realização de estudos com ponteiros adaptadas fabricadas com outros tipos de materiais, inclusive com ponteira adaptada confeccionada em silicone. Os resultados desses estudos mostrarão como o tipo de material usado na confecção da ponteira adaptada pode influenciar no valor do pico de força do AAI-4.

Interessantemente, o uso do AAI-4 com ponteira adaptada ocasionou melhora na sensibilidade mecânica, aumentada pela realização da imobilização da pata direita dos ratos. Esse resultado foi similar ao descrito em outros estudos onde a aplicação do AAI-4 foi feita no local da imobilização (GOTTERT, 2010; SCHMITT, 2010; TRIERWEILER, et al., 2012;). Assim, nossos resultados mostram que, independente do local de aplicação do AAI-4, se na região lombar da coluna

vertebral ou na pata imobilizada, esse tratamento determina melhora na sensibilidade mecânica de ratos, ocasionando o retorno dos valores dessa sensibilidade àqueles obtidos antes do procedimento de imobilização. Esse resultado, portanto, salienta a eficácia do tratamento com AAI-4 em condições de aumento na sensibilidade mecânica, o que normalmente se observa em condições dolorosas (DE VOCHET et al., 2003; CRAMER et al., 2006; SONG et al., 2006; TRIERWEILER et al., 2012; YU et al., 2012; BRANTINGHAM et al., 2013). Deste modo, nossos dados reforçam a possibilidade do tratamento com AAI-4 ser efetivo para condições dolorosas, o que vai ao encontro dos resultados obtidos na clínica quiroprática (POLKINGHORN & COLLOCA, 2001; POLKINGHORN & COLLOCA, 2003; SHEARAR, et al., 2005; BRANTINGHAM et al., 2011).

É possível que o aumento do pico de força, consequente do uso da ponteira adaptada no AAI-4, tenha contribuído para o aumento da sensibilidade mecânica nos animais tratados. Foi demonstrado que uma força de 40N é suficiente para ativar aferentes sensíveis a estímulos mecânicos (fuso muscular e órgão tendinoso de Golgi), os quais participam de reflexos neuromusculares (GILLETTE, 1987). Também foi demonstrada uma relação direta entre a magnitude do pico de força aplicado pela manipulação vertebral e o aumento da atividade muscular paraespinal de repouso. Esta resposta foi associada à estimulação dos mecanorreceptores da periferia, os quais provocam mudanças na excitação dos motoneurônios e, assim, aumento na atividade muscular. (DUNNING & RUSHTON, 2009; YU, et al., 2012; NOUGAROU et al., 2013). De acordo com Trierweiler e cols. (2012), em seu estudo o teste de Von Frey foi realizado imediatamente após a aplicação do *Activator*® sobre a tíbia proximal dos ratos que tiveram os joelhos imobilizados. O teste de Von Frey, em ratos, aplica um estímulo mecânico leve e constante sob a superfície plantar, o qual provoca reação de retirada da pata estimulada quando o estímulo é percebido pelo animal. A magnitude da força necessária para induzir a resposta de retirada é cerca de 40N. Como o pico de força do AAI-4 com ponteira adaptada foi maior do que esse valor, essa força seria suficiente para ativar a resposta de retirada da pata nos ratos.

Portanto, não se pode desconsiderar a influência desse efeito nos resultados do teste de Von Frey. Porém, se deve destacar aqui que o tratamento com AAI-3 (outro modelo de AAI), com ponteira original, não apenas reduziu as sensibilidades mecânica e térmica, mas também provocou decréscimo em parâmetros inflamatórios em ratos submetidos a uma condição dolorosa (SONG et al., 2006). Do mesmo modo, houve redução da sensibilidade mecânica quando varredores de espécies reativas de oxigênio foram utilizadas como tratamento em animais submetidos à imobilização do joelho, reforçando a ideia do envolvimento de agentes pró-inflamatórios nesta condição dolorosa (OHMACHI et al., 2012). Assim, é possível que a redução em parâmetros inflamatórios pode ter contribuído também para a resposta ao teste de Von Frey observada em nosso estudo e nos demais da literatura (FERRETI et al., 2005; MORIMOTO et al., 2013; OHMACHI et al., 2012; TRIERWEILER et al., 2012;), visto que a magnitude do valor do pico de força do AAI-4, com ponteira original, obtido em nosso estudo, foi similar aquele do AAI-3 (COLLOCA et al., 2005).

É preciso considerar ainda que a complacência (rigidez) do tecido do rato, e a resposta desse tecido em relação à força de entrada (impedância), pode ter também influenciado os resultados aqui descritos. Neste momento, é impossível determinar o efeito do aumento do pico de força do AAI-4 com ponteira adaptada sobre esses parâmetros. Foi sugerido que a frequência natural de ressonância, a complacência do tecido, a impedância e a comparação com outras formas de tratamentos manuais poderiam ser áreas de análises futuras dentro da pesquisa com AAI (PICKAR et al., 2007). Desta forma, são necessários mais estudos com o enfoque aqui salientado para elucidar os mecanismos envolvidos nos efeitos antinociceptivos do AAI-4 com ponteira adaptada para uso em ratos. Assim, apesar de o AAI-4 com ponteira adaptada ser uma ferramenta útil no estudo dos efeitos do tratamento quiroprático em modelos animais, sua validação científica requer outros testes com diferentes abordagens. Neste contexto, os resultados do nosso trabalho são importantes pelo fato de que eles são os primeiros a

demonstrar que o uso da ponteira adaptada no AAI-4 determina praticamente o valor máximo do pico de força no nível I desse aparelho.

Surpreendentemente, os animais do grupo Sham tiveram um acréscimo, de menor amplitude, no retorno da sensibilidade mecânica após o tratamento com AAI-4 com ponteira adaptada (nível I de força). É possível que durante o tratamento Sham, por mais que tenha havido o extremo cuidado do quiropraxista em não realizar a primeira fase, de engatilhamento, do Activator®, é plausível que em algum momento, a pressão axial do AAI-4 sobre a coluna lombar dos animais possa ter ocorrido, levando a compressão e a retração da porção retrátil, local onde está localizada a ponteira do instrumento. Assim, quando o instrumento foi disparado, uma força de maior magnitude, semelhante a efetuada no grupo IACT (121 N) pode ter ocorrido quando o disparo ou *thrust* foi efetuado, contribuindo, assim, para o retorno da sensibilidade mecânica em alguns animais deste grupo. Portanto, para futuros estudos com modelos animais, é adequada a manutenção de um grupo experimental com tratamento Sham, mas com a ressalva de que o tratamento Sham deve ser feito de forma diferente da que foi conduzida no presente estudo. Nesse grupo Sham proposto deve ser feita apenas uma pressão de contato do AAI-4 com a coluna lombar do animal, simulando uma situação pré-disparo, mas sem a realização da pressão manual necessária para o disparo do AAI-4, evitando, desta forma, o funcionamento do Activator®.

Interessantemente, os animais do nosso estudo, submetidos à imobilização do joelho da pata direita por 4 semanas, não apresentaram déficit significativo na função motora da pata, avaliada pelo índice Funcional do Isquiático. Porém, a presença desse déficit é evidenciada nos índices funcionais dos nervos tibial posterior e fibular. Como o teste de marcação das patas se propõe a avaliar o grau de lesão e recuperação de nervo por meio de uma equação matemática a partir da impressão das pegadas das patas dos animais, nossos dados mostram que as condições de imobilização aqui usadas não ocasionam lesões significativas no nervo isquiático, mas em seus ramos mais periféricos. É possível que esse

resultado seja decorrente da presença do aparato imobilizador, que em nossas condições experimentais ficou sobre a região de inervação dos nervos tibial posterior e fibular.

Contudo, é intrigante a ausência de mudanças significativas no IFI. Recentemente foi demonstrado que a imobilização por curto período de tempo leva a alterações morfológicas e eletrofisiológicas no nervo isquiático, como diminuição no número de fibras axonais de maior diâmetro, aumento no número de fibras de menor diâmetro e diminuição do limiar de disparo dessas fibras (CARLOS, 2012). Yoshida e cols. (2013) demonstraram que a imobilização por duas semanas provocou alterações no nervo isquiático, como espessamento do perineuro e aderências entre os feixes de fibras nervosas desse nervo com o perineuro, as quais podem comprometer a função das fibras nervosas que inervam os músculos relacionados à marcha. Em nosso estudo é possível vislumbrar uma pequena redução nos valores do IFI nos ratos submetidos à imobilização. Isso nos permite sugerir que alterações morfofuncionais já estão ocorrendo no nervo isquiático. Porém, para que as mesmas determinem alterações que possam ser detectadas no teste do IFI, parece ser necessário maior tempo de imobilização. Apesar da inexistência de mudança significativa no IFI, os dados do IFT e IFF mostram que o modelo de imobilização usado em nosso estudo determina déficit na função motora da pata dos ratos imobilizados. Embora fosse esperado encontrar o valor zero durante a avaliação do IFI, IFT e IFF nos animais controle e controle AAI-4, ou seja, nos grupos sem intervenção, os valores encontrados, principalmente para os animais controle, foram em torno de -10 a -15. Embora esse valor possa sugerir déficit, ele é similar ao encontrado na literatura em outros estudos (LEMOS et al., 2008; SOBRAL et al., 2008; MARCOLINO et al., 2010). É possível que esse valor mais baixo não tenha permitido visualizar mais diferenças estatísticas entre os grupos imobilizados e o grupo controle, na avaliação dos três índices. Diferentemente de outros modelos animais que apresentam um grau elevado de perda da função nervosa, como em animais submetidos ao esmagamento do nervo isquiático (MARCOLINO et al.,

2010; SOBRAL et al., 2008) ou até mesmos a sua secção (BETINI, 2010), cujos valores podem chegar a -100 ou próximos a esse valor, os resultados encontrados em nosso estudo sugerem que o modelo de imobilização utilizado leva a alterações nervosas de menor magnitude, as quais provavelmente determinam valores não tão reduzidos nos testes de funcionalidade nervosa. Todavia, como os animais que foram imobilizados tiveram aumento na sensibilidade mecânica, que foi revertido com o tratamento com AAI-4, é possível que o teste de marcação das patas ao final do tratamento dos ratos com AAI-4 também mostrasse recuperação do déficit motor dos animais. Assim, podemos inferir eficiência do AAI-4 também no tratamento de lesões no nervo isquiático e seus ramos periféricos, o que é comum na prática clínica.

## 7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir:

- O uso de ponteira adaptada no AAI-4 ocasiona acréscimo no valor do pico de força desse instrumento, sendo o valor encontrado no nível I 80% daquele observado no máximo nível de gradação de força. Porém, o valor máximo obtido não difere daquele encontrado quando se usa ponteira original.

- O uso da imobilização do membro posterior direito, em ratos, durante 4 semanas, determinou déficit na funcionalidade motora dos nervos tibial e fibular, condição que não foi evidenciada no índice funcional do nervi isquiático, mediante teste de marcação das patas.

- O tratamento com AAI-4, no nível I de gradação da força e com ponteira adaptada, aplicado na coluna vertebral lombar durante a fase de remobilização, melhora a sensibilidade mecânica de ratos submetidos à imobilização do membro posterior.

## 8 REFERÊNCIAS

BARP, J.; SARTÓRIO, C. L.; CAMPOS, C.; LLESUY, S. F.; ARAUJO, A. S.; BELLÓ-KLEIN, A. Influence of ovariectomy on cardiac oxidative stress in a renovascular hypertension model. **Can J Physiol Pharmacol**. v. 90(9), p. 1229-34, 2012.

BETINI, J. **Influência do exercício de natação no processo de regeneração nervosa, reinervação muscular e recuperação funcional em ratos após neurotmesa**. Dissertação de Mestrado. Universidade Metodista de Piracicaba. Piracicaba-SP, 2010.

BIALOSKY, J. E.; BISHOP, M. D.; PRICE, D.D.; ROBINSON, M. E.; GEORGE, S. Z. The Mechanisms of Manual Therapy in the Treatment of Musculoskeletal Pain: A Comprehensive Model. **Man Ther**. v. 14(5), p. 531–538, 2009.

BRADLEY, S.; POLKINGHORN, A.; COLLOCA, C. J. Chiropractic Management of Chronic Chest Pain Using Mechanical Force, Manually Assisted Short-Lever Adjusting Procedures. **J Manipulative Physiol Ther**. v. 26, p. 108-15, 2003.

BRANDT, K. D.; Response of joint structures to inactivity and to reloading after immobilization. **Arthritis Care & Research** (American College of Rheumatology), v. 49, n. 2, p. 267-271, 2003.

BRANTINGHAM et al. Manipulative and Multimodal Therapy for Upper Extremity and Temporomandibular Disorders: A Systematic Review. **J Manipulative Physiol Ther**. v.36, p.143-201, 2013.

CARLOS, P. S. **Morfologia do Nervo Isquiático de Ratos Submetidos à Imobilização de Pata**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Ceará- CE. 2012.

CHAN, S. H. & CHAN, J. Y. Brain stem NOS and ROS in neural mechanisms of hypertension. **Antioxid Redox Signal**. v. Feb 18, 2013. In press.

COLLOCA C. J.;KELLER, T. S; GUNZBURG, R. Biomechanical and Neurophysiological Responses to Spinal Manipulation in Patients With Lumbar Radiculopathy. **J Manipulative Physiol Ther**. v. 27, p. 1-15, 2004.

COLLOCA et al; comparison of mechanical force of manually assisted chiropractic adjusting instruments. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics**, v.28, n. 6, p. 414-422, 2005.

CORONADO, R. A.; GAY, C. W.; BIALOSKY J. E.; CARNABY, G. D.; BISHOP, M. D; GEORGE, S. Z. Changes in pain sensitivity following spinal manipulation: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Electromyography and Kinesiology**. v. 22, p. 752–767, 2012.

CRAMER, G. D.; FOURNIER, J. T.; WOLCOTT, C. C.; HENDERSON, C. N. R. Degenerative Changes Following Spinal Fixation in a Small Animal Model. **J Manipulative Physiol Ther**. v. 27(3), p. 141-154, 2004.

CRAMER, G.; BUDGELL. B.; HENDERSON. C.; KHALSA, P.; PICKAR, J. Basic Science Research Related to Chiropractic Spinal Adjusting: The State of the Art and Recommendations Revisited. **J Manipulative Physiol Ther**. v. 29(9),p. 726-761, 2006.

DE VOCHT, J. W.; LONG, C. R.; ZEITLER, D. L.; SCHAEFFER W. Chiropractic Treatment of Temporomandibular Disorders Using The Activator Adjusting Instrument: A Prospective Case Series. **J Manipulative Physiol Ther.** v.26, p. 421-5, 2003.

DUNNING, B. J. & RUSHTON A. The effects of cervical high-velocity low-amplitude thrust manipulation on resting electromyographic activity of the biceps brachii muscle. **Manual Therapy.** v.14, p. 508–513, 2009.

FERRETTI, M.; SRINIVASAN, A.; DESCHNER, J.; GASSNER, R.; BALIKO, F.; PIESCO, N.; SALTER, R.; AGARWAL, S. Anti-inflammatory effects of continuous passive motion on meniscal fibrocartilage. **J Orthop Res.** v. 23(5), p. 1165-71, 2005.

FRYER, G. & ALAN J. PEARCE, A. J. Lumbosacral Manipulation Effect on Reflex Excitability. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics.** v. 35, n. 2, 2012.

FUHR, A. W.; MENKE, J. M.; Status of activator methods chiropractic technique, theory, and practice. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics.** v. 28, n.2, p. 135.e1-135.e20, 2005.

GEORGE, S. Z.; BISHOP, M. D.; BIALOSKY, J. E.; ZEPPIERI, G.; ROBINSON, M. E. Immediate effects of spinal manipulation on thermal pain sensitivity: an experimental study. **BMC Musculoskeletal Disorders.** v. 7:68, 2006.

GOTTERT, D.N.; **Avaliação da sensibilidade mecânica em modelo animal através do teste de Von Frey.** 2010. Monografia (Trabalho de Conclusão do curso de Quiropraxia) – Universidade Feevale, Novo Hamburgo – RS, 2010.

GREVE, J.M.A; AMATUZZI, M.M; **Medicina de reabilitação aplicada à ortopedia e traumatologia**. 1. ed. São Paulo, SP: Roca Ltda, 1999.

GUEDES, R. P.; ARAÚJO, A. S.; JANNER, D.; BELLÓ-KLEIN, A.; RIBEIRO, M. F.; PARTATA, W. A. Increase in reactive oxygen species and activation of Akt signaling pathway in neuropathic pain. **Cell Mol Neurobiol**. v. 28, p. 1049-56, 2008.

HE, X. & DISHMAN, V. Spinal motor neuronal degeneration after knee joint immobilization in the guinea pigs. **J Manipulative Physiol Ther**. v. 33, n. 5, p. 329-337, 2009.

HENDERSON, C. N. R. The basis for spinal manipulation: Chiropractic perspective of indications and theory. **Journal of Electromyography and Kinesiology**. v. 22, p. 632–642, 2012.

HOMOLA, S. Chiropractic: history and overview of theories and methods. **Clin Orthop Relat Res**. v.444, p. 236-42, 2006.

IANUZZI, A.; PICKAR, J. G.; KHALSA, P. S. Relationships Between Joint Motion and Facet Joint Capsule Strain During Cat and Human Lumbar Spinal Motions. **J Manipulative Physiol Ther**. v. 34(7), p. 420-431, 2011.

IMPELLIZZERI et al. Targeting inflammation: new therapeutic approaches in Chronic Kidney Disease (CKD). **Pharmacological Research**. Disponível online em URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2014.02.007>. March, 2014. In Press

KAWCHUK, G. N.; PRASAD, N. G.; MCLEOD, R. C.; LIDDLE, T.; LI, T. ZHU. Variability of force magnitude and force duration in manual and instrument-based Manipulation techniques. **J Manipulative Physiol Ther.** v. 29(8):p. 611-8, 2006.

KELLER, T. S.; COLLOCA, C. J.; FUHR, A. W. Validation of the force and frequency characteristics of the activator adjusting instrument: Effectiveness a mechanical impedance measurement tool. **J Manipulative Physiol Ther.** v. 22(2):p. 75-86, 1999.

KELLER, T. S.; COLLOCA, C. J.; MOORE, R. J.; GUNZBURG, R.; HARRISON, D. E.; HARRISON, D. D. Three-dimensional vertebral motions produced by mechanical force spinal manipulation. **J Manipulative Physiol Ther.** v. 29(6), p. 425-436, 2006.

KHANDEKAR, M. J.; COHEN, P.; SPIEGELMAN, B. M. Molecular mechanisms of cancer development in obesity. **Nature Reviews Cancer.** v. Dec11, p. 886-895, 2011.

KOLBERG, C.; HORST, A.; KOLBERG, A.; BELLÓ-KLEIN, A.; PARTATA, W. A. Effects of high-velocity, low-amplitude manipulation on catalase activity in men with neck pain. **J Manipulative Physiol Ther.** v. 33(4), p. 300-7, 2010.

KOLBERG, C.; HORST, A.; MORAES, M. S, KOLBERG, A.; BELLÓ-KLEIN, A.; PARTATA, W. A. Effect of high-velocity, low-amplitude treatment on superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in erythrocytes from men with neck pain. **J Manipulative Physiol Ther.** v. 35(4), p. 295-300, 2012.

LEMOS et al. Glycerol - Preserved Allogeneous Nerve: An Experimental Study With Rats. **Acta Ortop Bras.** v.16, n.3, p. 133-137, 2008.

LIU et al. An in vivo mouse model of long-term potentiation at synapses between primary afferent C-fibers and spinal dorsal horn neurons: essential role of EphB1 receptor. **Molecular Pain**. v. 5, n.29, 2009.

MAIONE, S.; COSTA, B.; DI MAZO, V. Endocannabinoids: A unique opportunity to develop multi target analgesics. **Pain**. 2013. *In Press*

MARCOLINO, A. M.; BARBOSA, R. I.; NEVES, L. M. S.; VINAS, T. S.; DUARTE, D. T. B.; MAZZER, N. et al. Low intensity laser (830 nm) functional to recover of the sciatic nerve in rats. **Acta Ortop Bras**. [online]. v. 18, n.4, p. 207-11, 2010  
Disponível em URL: [http:// www.scielo.br/aob](http://www.scielo.br/aob)

MONTE-RASO, V.V., et al. Os efeitos do ultra-som terapêutico nas lesões por esmagamento do nervo ciático de ratos: análise funcional da marcha. **Revista brasileira de fisioterapia**. v.10, n.1, p. 113-119, 2006

MORIMOTO, A.; WINAGA, H.; SAKURAI, H.; OHMICHII, M.; YOSHIMOTO, T., OHMICHII, Y.; MATSUI, T.; USHIDA, T.; OKADA, T.; SATO, J. Treadmill running and static stretching improve long-lasting hyperalgesia, joint limitation, and muscle atrophy induced by cast immobilization in rats. **Neurosci Lett**. v. Feb 8, n. 534, p. 295-300, 2013.

NOUGAROU, F.; DUGAS, C.; DESLAURIERS, C.; PAGÉ, I.; DESCARREAU, M. Physiological Responses To Spinal Manipulation Therapy: Investigation Of The

Relationship Between Electromyographic Responses And Peak Force. **J Manipulative Physiol Ther.** v. 36, p. 557-563, 2013.

OHMACHI, Y.; Sato, J.; OHMACHI, M.; Sakurai, H.; Yoshimoto, T.; Morimoto, A.; et al. Two-week cast immobilization induced chronic widespread hyperalgesia in rats. **Eur J Pain** v. 16, n.3, p. 338-48, 2012.

OWENS, E. F. Chiropractic subluxation assessment: what the research tells us. **J Can Chiropr Assoc.** v. 46, n. 4, 2002.

PICKAR, J. G. & WHELLER, J. D. Response of Muscle Proprioceptors to Spinal Manipulative-like Loads in the Anesthetized Cat. **J Manipulative Physiol Ther.** v. 24(1), p. 2-11, 2001.

PICKAR, J. G. & KANG, Y. Paraspinal Muscle Spindle Responses To The Duration of A Spinal Manipulation Under Force Control. **J Manipulative Physiol Ther** 2006;29:22-31

PICKAR, J.G.; SING, P.S.; KANG, Y.; GE, W. Response of Lumbar Paraspinal Muscles Spindles is Greater to Spinal Manipulative Loading Compared with Slower Loading under Length Control **Spine J.** v. 7, n.5, p. 583–595, 2007.

PICKAR, J. G. & BOLTON, P. S. Spinal Manipulative Therapy and Somatosensory Activation. **J Electromyogr Kinesiol.** v. 22(5), p. 785–794, 2012.

POLKINGHORN, B. S. & COLLOCA, C. J.. Chiropractic Treatment of Postsurgical Neck Syndrome With Mechanical Force, Manually Assisted Short-Lever Spinal Adjustments. **J Manipulative Physiol Ther.** v.24, p. 589-95, 2001.

REED, W. R.; CAO, D. Y.; LONG, C. R.; KAWCHUK, G. N.; PICKAR, J. G. Relationship between Biomechanical Characteristics of Spinal Manipulation and Neural Responses in an Animal Model: Effect of Linear Control of Thrust Displacement versus Force, Thrust Amplitude, Thrust Duration, and Thrust Rate. **Evid Based Complement Alternat Med.** V. 2013, n. 492039, 2013.

SCHMITT, D. L. **Efeitos dos Ajustes Quiropráticos e Exercícios Físicos em Ratos Submetidos a um Modelo de Imobilização: Avaliados Pela Funcionalidade Da Marcha.** Monografia (Trabalho de Conclusão do curso de Quiropraxia) – Universidade Feevale, Novo Hamburgo – RS, 2010.

SHEARAR, K. A.; COLLOCA, C. J.; WHITE, H. L. A Randomized Clinical Trial Of Manual Versus Mechanical Force Manipulation in the Treatment of Sacroiliac Joint Syndrome. **J Manipulative Physiol Ther.** v. 28, p. 493-501, 2005.

SOBRAL, L. L.; OLIVEIRA, L. S.; TAKEDA, S. Y. M.; SOMAZZ, M. C.; MONTEBELO, M. I. L.; TEODORI, R. M. Immediate versus late exercise for rat sciatic nerve regeneration after axonotmesis: histomorphometric and functional analysis. **Rev Bras Fisioter.** v. 12, n. 4, p. 311-6, jul./ago. 2008.

SONG, X. et al. Spinal manipulation reduces pain and hyperalgesia after lumbar intervertebral foramen inflammation in the rat. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics,** v.29, n.1, p.5-13, 2006.

STIEVEN, F.F; **Efeitos do Activator® sobre a hiperalgesia do membro posterior em ratos ajustados na região lombar.** 2010. Monografia (Trabalho de Conclusão do curso de Quiropraxia) – Universidade Feevale, Novo Hamburgo – RS, 2010.

TRIERWEILER, J.; GÖTTERT, D. N.; GEHLEN, G. Evaluation of Mechanical Allodynia in an Animal Immobilization Model Using the Von Frey Method. **J Manipulative Physiol Ther.** v.35, n.1, p.18-25, 2012.

WEINSTEIN, S.L; BUCWALTER, J. A; **Ortopedia de Turek: Princípios e sua aplicação.** 1.ed. Barueri, SP: Manole Ltda, 2000.

YOWTAK, J.; LEE, K. Y.; KIM, H. E.; WANG, J.; KIM, H. K.; CHUNG, K.; CHUNG, J. M. Reactive oxygen species contribute to neuropathic pain by reducing spinal GABA release. **Pain.** v. 152, n. 4 p. 844–852, 2011.

YOSHIDA et al. Histopathological Changes in the Periphery of the Sciatic Nerve of Rats after Knee Joint Immobilization. **Phys. T** v. 25, n. 5, 2013.

YU et al. Changes in pressure pain thresholds and Basal electromyographic activity after instrument-assisted spinal manipulative therapy in asymptomatic participants: a randomized, controlled trial. **J Manipulative Physiol Ther.** v. 35, p.437-445, 2012.

**ANEXO****ACTIVATOR WITH ADAPTER FOR USE IN ANIMAL MODELS INCREASES PEAK FORCE ONLY IN ITS FIRST FORCE SETTING**

Felipe K Duarte, D.C; Carolina Kolberg, D.C; Rodrigo R Barros, Technician; Vivian K Duarte, D.C; Günter Gehlen, PhD; Jakson M Vassoler, PhD; Wania A Partata, PhD

Artigo aceito para publicação no Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics.

## **ABSTRACT**

**Objective:** This study was designed to assess the peak force of a manually operated chiropractic-adjusting instrument, the Activator Adjusting Instrument 4 (AAI 4), with an adapter for use in animals, which has a 3-4 fold smaller contact surface area than the original rubber tip.

**Methods:** Peak force was determined by thrusting the AAI 4 with the adapter or the original rubber tip onto a load cell. First, the AAI 4 was applied perpendicularly by a chiropractor onto the load cell. Then, the AAI 4 was fixed in a rigid framework and applied to the load cell. This procedure was done to prevent any load on the load cell prior to the thrust impulse. In two situations, trials were performed with the AAI 4 at all force settings (settings I, II, III and IV, minimum to maximum, respectively). A total of 50,000 samples per second over a period of 3 seconds were collected.

**Results:** In two experimental protocols, the use of the adapter in the AAI 4 increased the peak force only with setting I. The new value was around 80% of the maximum value found for the AAI 4. Nevertheless, the peak force values of the AAI 4 with the adapter and with the original rubber tip in setting IV were similar.

**Conclusion:** The adapter effectively determines the maximum peak force value at force setting I of AAI 4.

**Key Indexing Terms:** chiropractic, force, adjustments, manipulation

## INTRODUCTION

The use of chiropractic methods for treatment and prevention of changes in the musculoskeletal system has been increasing worldwide.<sup>1,2,3,4,5,6</sup> In chiropractics, there is an emphasis on manual treatments, such as vertebral manipulation with high velocity and low amplitude. However, techniques involving the use of instruments are also employed, particularly the Activator Adjusting Instrument (AAI), a hand-operated device for applying mechanical force.<sup>7,8,9,10</sup> Although several mechanical instruments to apply force exist, the Activator IV (AAI4) is arguably the most popular of these instruments.<sup>11</sup>

The AAI 4 is a hand-operated and spring-loaded device designed for clinical use in human patients. This device is used for treating functional changes affecting the spinal column and other joints. It delivers a mechanical force or thrust to a patient's spine at a rapid speed and in a precise direction.<sup>7,8,9,10,12,13,14,15,16,17</sup> Of the five existing versions of the AAI, we used the fourth, the Activator Adjusting Instrument 4 (AAI 4) (Fig.1). This device possesses four (I, II, III and IV) precision force settings, where I corresponds to the minimum force and IV to the maximum force. One advantage of its use is the application of a controlled force with less variability compared to vertebral manipulation.<sup>8,9,11</sup> Thus, the AAI may offer an advantage over manual adjustments for research studies that aim to demonstrate the physiological responses to high-velocity, very low-amplitude thrusts.

Historically, animal models have been used experimentally to improve the understanding of several disorders such as cancer, diabetes mellitus, high blood pressure, etc., as well as in research to develop new forms of treatment for a

number of pathological conditions.<sup>18,19,20,21</sup> The use of animal models in chiropractics has been growing and will certainly result in better understanding of the inherent mechanisms of the chiropractic treatment.<sup>22,23,24,25,26</sup> Animal models have also been used in studies that aim to demonstrate the physiological effects of the AAI.<sup>5,13,27,28,29</sup> A recent study showed that the use of AAI 4 improved mechanical sensitivity after immobilization of the right hind paw in rats.<sup>30</sup> However, this study used an adapter placed at the end of the AAI 4 that reduced the contact surface area of the device by around 4-fold.<sup>30</sup> The contact area was reduced because the rat has a mass approximately 350x smaller than a human weighing 70 Kg. Nevertheless, the force exerted by the AAI 4 was concentrated in the small area of the adapter. It is possible that the force of the AAI 4 onto the animal was of greater magnitude. To test this hypothesis, our study used a load cell to assess the peak force of the AAI 4 with an adapter and with the original rubber tip. First, the AAI 4 was applied perpendicularly by a chiropractor onto the load cell. Then, the AAI 4 was fixed in a rigid metal arm and applied perpendicularly onto the load cell. This last experimental step was carried out in order to prevent the effect of any load on the load cell prior to the thrust impulse. In two experimental protocols, the peak force of the AAI 4 was determined in its four force settings.

## **METHODS**

### **Experimental Procedures**

The present investigation was carried out using the AAI IV manufactured by Activator Methods International, Ltd., Phoenix, Arizona, USA. In the tests, the peak

force values of the AAI IV were determined at each of its force levels (I, II, III and IV), with two different tips. The original tip was manufactured of silicone polymer, with a contact surface area of about 0.785 cm<sup>2</sup>. The adapter (a gift from Trierweller et al.<sup>30</sup> – the same used in their study) (Figs. 1,2) was made of nylon, with a contact surface area one-fourth of the original (0.196 cm<sup>2</sup>), and has 25% of the total area of the original tip.

For determination of peak force values, we used a load cell of the “S” type, with 30 kgf capacity (Fig. 1), manufactured by the *Grupo de Mecânica Aplicada* (GMAP) (Department of Mechanical Engineering, School of Engineering, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil).

For the tests, the load cell was mounted rigidly on a table and the AAI 4 was thrust perpendicularly onto it (Fig. 1). Data for the load cell were collected by a 16-bit analogue converter (USB1608HS2AO, Measurement Computing, MA, USA) connected to a signal conditioner with 5 inputs (manufactured by GMAP). This device was connected to a current amplifier (Model TL074, Texas Instruments Inc., TX, USA) which in turn was connected to a computer. Data were analyzed using Agilent software (UEE Pro 7.5, Agilent Technology, CA, USA).

Peak force determinations were carried out in two experimental protocols. First, a chiropractor applied a perpendicular uniaxial force to the load cell. Then, the AAI 4 was attached perpendicularly to a rigid metal arm and a uniaxial force was applied to the load cell.

In two experimental protocols, the peak force was determined by thrusting the AAI 4 onto the load cell three times consecutively, with 10-s intervals between each application. With these procedures the peak force was determined at each force setting of the AAI 4, with the adapter and the original tip. In each of these tests, and at each of the AAI 4 force levels, 50,000 points per second were collected for 3 s.

### **Statistical Analysis**

Data were compared by two-way ANOVA followed by the Tukey post hoc test. Differences were considered statistically significant when the *P* value was <0.05. All statistical analyses were carried out with Sigma Stat 3.5 software.

### **RESULTS**

The use of the adapter changed the peak force values in the AAI 4. When the AAI 4 with the adapter was applied manually by the chiropractor, the peak force value was 121 N at setting I, while with the original rubber tip it was 87 N (Fig 3). The value found with the adapter was 39% higher than that with the original rubber tip. No significant change was found in the peak force with the adapter at force settings II and III compared to force setting I. However, the peak force increased about 20% with the adapter at force setting IV compared to setting I. The peak

force value with the adapter at force setting IV was 145 N, while with the original rubber tip it was 156 N. The difference was not statistically significant.

The use of the adapter also increased the peak force at setting I when the AAI 4 was rigidly fixed by the framework (Fig 4). The changes were similar to that found when AAI 4 with the adapter and original tip was applied manually by the chiropractor. The new values were: with adapter (I: 108N; II: 106N; III: 103N; IV: 123N); original rubber tip (I: 76N; II: 100N; III: 105N; IV: 140N). Thus, the peak force of the AAI 4 with adapter at force setting I was approximately 80% of the maximum value developed by the device. The peak force changed around 20% from the minimum to maximum settings of the AAI 4 when the adapter was used, whereas the peak force of this device with the original rubber tip had a gradual increment from the minimum to maximum force settings.

## **DISCUSSION**

The data obtained show that the use of the adapter on the AAI 4 increased the peak force only at setting I in two experimental protocols. The new value at this force setting was around 80% of the peak force at setting IV of the AAI 4. No significant change occurred at force settings II and III of the AAI 4 with the adapter. At these force settings, the values were similar to those found for the AAI 4 with the original rubber tip. Nevertheless, the peak force values of the AAI 4 with adapter and original rubber tip in setting IV were similar. Therefore, the use of the adapter increases the peak force only at setting I of the AAI 4. As the peak force is already

elevated at setting I, the peak force changes less from the minimum to maximum force setting when the adapter is used. This appears to be a characteristic response of the AAI 4 with the adapter. In the two protocols studied here, the adapter induced an increase in peak force only at setting I of the AAI 4. Therefore, the adapter practically determines the maximal peak force value at setting I of AAI 4. Nevertheless, the maximum force achieved is similar to that obtained at force setting IV with the original rubber tip.

The gradual shift in peak force values of the AAI 4 from minimum to maximum force settings when the original rubber tip was used also occurred in other studies.<sup>11,16,31</sup> Thus, our results with the original tip reproduced those in the literature. This reinforces the possibility that the changes in the peak force values of the AAI 4 with the adapter are due to the use of the adapter. Since the adapter reduced around 4-fold the contact surface area of the AAI 4, the energy from the large area of the AAI 4 was concentrated in this smaller area (which corresponds to 25% of the original rubber tip area). It is therefore possible that the increase in peak force of the AAI 4 with the adapter is related to the reduction of the contact surface area of the AAI 4. Supporting this hypothesis is the similar increase in the peak force at setting I of the AAI 4 with the adapter in the two protocols used here, where the AAI 4 was held manually by a chiropractor or held in a rigidly fixed metal arm. Since in this latter condition, only the force delivered by the AAI 4 was assessed, this result reinforces the role of the tip in affecting the peak force of the AAI 4.

However, it is impossible to exclude a possible effect on the peak force of the material used to manufacture the adapter. The adapter was made of nylon, while the original rubber tip was made of silicone. Further studies with adapters fabricated with other materials, including silicone, are necessary to clarify the effects of the material types on the peak force of the AAI 4 with the adapter.

Interestingly, the use of the AAI 4 with the adapter improved the sensitivity after immobilization of the right hind paw in the rat.<sup>30</sup> It is possible that the increase in peak force of the AAI 4 with the adapter contributed to this effect. However, it was demonstrated that a force of 40 N is enough to activate mechanoreceptive afferents deemed appropriate in neuromuscular reflexes.<sup>33</sup> According to Trierweiler et al.,<sup>30</sup> the Von Frey filament test was performed immediately after chiropractic manipulation of the immobilized rats. The Von Frey test creates a mechanical stimulus that triggers a light and constant pressure required to cause withdrawal of the hind paw.<sup>30</sup> The magnitude of the force necessary to induce this response is around 40 N.<sup>33</sup> Thus, the force developed by the AAI 4 with the adapter was sufficient to activate the withdrawal response of the rats. Another study reported that treatment with AAI 3 (another model of mechanical-force, manually assisted chiropractic adjusting instrument, with the original rubber tip, not only reduced mechanical and thermal sensitivity, but also caused a decrease in inflammatory parameters in rats submitted to a painful condition.<sup>25</sup> Thus, it is possible that the reduction in inflammatory parameters may have contributed to the antinociceptive response of the immobilized rats that were treated with the AAI 4 with adapter.<sup>30</sup> It is presently impossible to discard this hypothesis, since the magnitude of the peak

force of the AAI 4 with the original rubber tip in our study was similar to that generated by the AAI 3.<sup>16</sup> In addition, it is necessary to consider the compliance (stiffness) of the rat tissue and the response of this tissue to input force (impedance). It is impossible to determine the effect of the increase in peak force of the AAI 4 with the adapter on these parameters. It has been suggested that the natural resonance frequency, tissue compliance, response to input force and comparisons to other types of adjustment should be areas of inquiry for AAI research.<sup>5</sup> Further studies are necessary to clarify the mechanisms involved in the antinociceptive effect of the AAI 4 with the adapter on rats.

Although the AAI 4 with the adapter can be a useful tool to study the effects of chiropractic treatment in animal models, its ultimate scientific validation requires more testing using different approaches. Our results are important because they are the first to demonstrate that the use of the adapter in the AAI 4 practically determines the maximal peak force value at force setting I of this device, but the maximum force achieved is similar to that obtained at force setting IV with the original rubber tip.

## **Limitations**

There are some aspects that should be considered in the study. It is necessary to obtain more details about the peak force delivery by the AAI 4 with adapter. Studies using more-precise devices, i.e. transducers, are necessary. In addition, studies with adapters developed with other materials are needed to show the

influence of the material on the peak force of the AAI 4. Because animal models have lower mass than humans, it would be appropriate to determine the effects of the force delivered by the AAI 4 with the adapter on the animal tissues.

## **CONCLUSION**

In our two experimental protocols, where AAI 4 was manually held by a chiropractor or held in a rigidly fixed metal arm and applied onto the load cell, the use of an adapter at the end of the AAI 4 (which reduced the contact surface area 4-fold) increased the peak force only at setting I. Since the new value was around 80% of the peak force found at setting IV of the AAI 4, the adapter practically determines the maximal peak force value at setting I.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

This study was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

## **FUNDING SOURCES AND POTENTIAL CONFLICTS OF INTEREST**

No conflicts of interest were reported by the authors for this study.

**REFERENCES**

1. Barnes PM, Bloom B, Nahin RL. Complementary and alternative medicine use among adults and children: United States, 2007. *Natl Health Stat Report* 2008; 1-23.
2. Bishop MD, Beneciuk JM, George SZ. Immediate reduction in temporal sensory summation after thoracic spinal manipulation. *Spine J* 2011; 11:440-446.
3. Goertz CM, Long CR, Hondras MA, Petri R, Delgado R, Lawrence DJ, et al. Adding chiropractic manipulative therapy to standard medical care for patients with acute low back pain: the results of a pragmatic randomized comparative effectiveness study. *Spine (Phila Pa 1976)* 2012; 10. In press.
4. Pickar JG. Neurophysiological effects of spinal manipulation. *Spine J* 2002;2:357-.
5. Pickar JG, Sung PS, Kang Y, Ge W. Response of lumbar paraspinal muscles spindles is greater to spinal manipulative loading compared with slower loading under length control. *Spine J* 2007; 7(5):583-595.
6. Kolberg C, Horst A, Moraes MS, Kolberg A, Klein AB, Partata WA. Effect of high-velocity, low-amplitude treatment on superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in erythrocytes from men with neck pain. *J Manipulative Physiol Ther* 2012; 35(4):295-300.

7. Keller TS, Colloca CJ, Fuhr AW. Validation of the force and frequency characteristics of the activator adjusting instrument: Effectiveness a mechanical impedance measurement tool. *J Manipulative Physiol Ther* 1999; 22(2):75-86.
8. Fuhr AW, Menke JM. Status of activator methods chiropractic technique, theory, and practice. *J Manipulative Physiol Ther* 2005;28:135.e1-135.e20.
9. Keller TS, Colloca CJ, Moore RJ, Gunzburg R, Harrison DE, Harrison DD. Three-dimensional vertebral motions produced by mechanical force spinal manipulation. *J Manipulative Physiol Ther* 2006; 29(6):425-436.
10. Saraiva MC and cols. *Manual de Técnicas Quiropráticas*. Novo Hamburgo (RS): Feevale; 2004.
11. Kawchuk GN, Prasad NG, McLeod RC, Liddle T, Li T, Zhu Q. Variability of force magnitude and force duration in manual and instrument-based Manipulation techniques. *J Manipulative Physiol Ther* 2006;29(8):611-8.
12. Cramer G, Budgell B, Henderson C, Khalsa P, Pickar J. Basic Science Research Related to Chiropractic Spinal Adjusting: The State of the Art and Recommendations Revisited. *J Manipulative Physiol Ther* 2006; 29(9): 726-761.
13. Ianuzzi A, Pickar JG, Khalsa PS. Determination of torque-limits for human and cat lumbar spine specimens during displacement-controlled physiological motions. *Spine J* 2009; 9:77-86.

14. Keller TS, Colloca CJ. Mechanical force spinal manipulation increases trunk muscle strength assessed by electromyography: a comparative clinical trial. *J Manipulative Physiol Ther* 2000; 23:585-95.
15. Polkinghorn BS, Colloca CJ. Chiropractic Treatment of Postsurgical Neck Syndrome with Mechanical Force, Manually Assisted Short-Lever Spinal Adjustments. *J Manipulative Physiol Ther* 2001; 24(9):589-95.
16. Colloca CJ, Keller TS, Black P, Normand MC, Harrison DE, Harrison DD. Comparison of mechanical force of manually assisted chiropractic adjusting instruments. *J Manipulative Physiol Ther* 2005; 28(6):414-422.
17. Symons BP, Herzog W, Leonard T, Nguyen H. Reflex responses associated with activator treatment. *J Manipulative Physiol Ther* 2000; 23:155-9.
18. Guedes RP, Araújo AS, Janner D, Belló-Klein A, Ribeiro MF, Partata WA. Increase in reactive oxygen species and activation of Akt signaling pathway in neuropathic pain. *Cell Mol Neurobiol* 2008; 28:1049-56.
19. Barp J, Sartório CL, Campos C, Llesuy SF, Araujo AS, Belló-Klein A. Influence of ovariectomy on cardiac oxidative stress in a renovascular hypertension model. *Can J Physiol Pharmacol* 2012; 90(9):1229-34.
20. Chan SH, Chan JY. Brain stem NOS and ROS in neural mechanisms of hypertension. *Antioxid Redox Signal* 2013; Feb 18. In press.

21. Khandekar MJ, Cohen P, Spiegelman BM. Molecular mechanisms of cancer development in obesity. *Nature Reviews Cancer* 2011; Dec11:886-895.
22. Bakkum BW, Henderson CNR, Hong SP, Cramer GD. Preliminary morphological evidence that vertebral hypomobility induces synaptic plasticity in the spinal cord. *J Manipulative Physiol Ther* 2007; 30(5): 336-342.
23. He X, Dishman V. Spinal motor neuronal degeneration after knee joint immobilization in the guinea pigs. *J Manipulative Physiol Ther* 2009; 33(5):329-337.
24. Song XJ, Xu DS, Vizcarra C, Rupert RL. Onset and recovery of hyperalgesia and hyperexcitability of sensory neurons following intervertebral foramen volume reduction and restoration. *J Manipulative Physiol Ther* 2003; 26(7):426-436.
25. Song XJ, Gan Q, Cao JL, Wang ZB, Rupert RL. Spinal manipulation reduces pain and hyperalgesia after lumbar intervertebral foramen inflammation in the rat. *J Manipulative Physiol Ther* 2006; 29(1):5-13.
26. Cramer GD, Fournier JT, Wolcott CC, Henderson CNR. Degenerative Changes Following Spinal Fixation in a Small Animal Model. *J Manipulative Physiol Ther* 2004; 27(3):141-154.

27. Pickar JG, Wheller JD. Response of Muscle Proprioceptors to Spinal Manipulative-like Loads in the Anesthetized Cat. *J Manipulative Physiol Ther* 2001; 24(1):2-11.
28. Reed WR, Cao DY, Long CR, Kawchuk GN, Pickar JG. Relationship between Biomechanical Characteristics of Spinal Manipulation and Neural Responses in an Animal Model: Effect of Linear Control of Thrust Displacement versus Force, Thrust Amplitude, Thrust Duration, and Thrust Rate. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013;2013:492039.
29. Ianuzzi A, Pickar JG, Khalsa PS. Relationships Between Joint Motion and Facet Joint Capsule Strain During Cat and Human Lumbar Spinal Motions. *J Manipulative Physiol Ther* 2011; 34(7):420-431.
30. Trierweiler J, Göttert DN, Gehlen G. Evaluation of Mechanical Allodynia in an Animal Immobilization Model Using the Von Frey Method. *J Manipulative Physiol Ther* 2012; 35(1):18-25.
31. Colloca C J, Keller TS, Gunzburg R. Biomechanical and Neurophysiological responses to spinal manipulation in patients with lumbar radiculopathy. *J Manipulative Physiol Ther* 2004; 27(1):1-15.
32. Colloca CJ. Evaluation of Mechanical Allodynia in an Animal Immobilization Model Using the Von Frey Method. Letters to the Editor. *J Manipulative Physiol Ther* 2012; 35(8):657.

33. Gillette RG. A speculative argument for the coactivation of diverse somatic receptor populations by forceful chiropractic adjustments. *Man Med* 1987; 3:1-14.
34. Hawk C, Azad A, Phongphua C, Long CR. Preliminary study of the effects of a placebo chiropractic treatment with sham adjustments. *J Manipulative Physiol Ther* 1999;22:436-4.
35. Colloca CJ, Keller TS, Gunzburg R. Neuromechanical characterization of in vivo lumbar spinal manipulation. Part II. Neurophysiological response. *J Manipulative Physiol Ther* 2003; 26(9):579-591.
36. Vernon H, MacAdam K, Marshall V, Pion M, Sadowska M. Validation of a Sham Manipulative Procedure for the Cervical Spine for Use in Clinical Trials. *J Manipulative Physiol Ther* 2005; 28(9):662-666.

## Legends of Figures

**Fig 1.** *AAI 4 (narrow black arrow) with adapter (narrow white dotted arrow) attached rigidly to a framework that maintains the same position when thrusting. Note the load cell (wide black arrow), the converter (narrow black dotted arrow) and the signal conditioner (narrow white arrow) used to detect the peak force of the AAI 4 when this device was manually held and held by a fixed rigid arm.*

**Fig 2.** *Adapter of the AAI 4 developed for use in studies with animal models, which was used in AAI 4 that was manually held and held by a fixed rigid arm.*

**Fig 3.** *Mean peak force of the AAI 4 with adapter and original rubber tip at all force settings (I, II, III and IV) when the device was manually applied by a chiropractor on the load cell. Data represent the means  $\pm$  SEM. \* indicates significant difference when force setting I is compared to other force settings of the AAI 4 with original rubber tip; \*\* indicates significant difference when force setting IV is compared to force settings I of the AAI 4 with adapter, \*\*\* indicates significant difference when force setting I is compared between AAI 4 with adapter and original rubber tip (two-way ANOVA followed by Tukey post-hoc test,  $p < 0.05$ ).*

**Fig 4.** Mean peak force of the AAI 4 with adapter and original rubber tip at all force settings (I, II, III and IV) when the device was fixed in a rigid framework and applied to the load cell.. Data represent the means  $\pm$  SEM. \* indicates significant difference when force setting I is compared to other force settings of the AAI 4 with original rubber tip; \*\* indicates significant difference when force setting IV is compared to force settings I of the AAI 4 with adapter; \*\*\* indicates significant difference when force setting I is compared between AAI 4 with adapter and with original rubber tip (two-way ANOVA followed by Tukey post-hoc test,  $p < 0.05$ ).

Figure 1

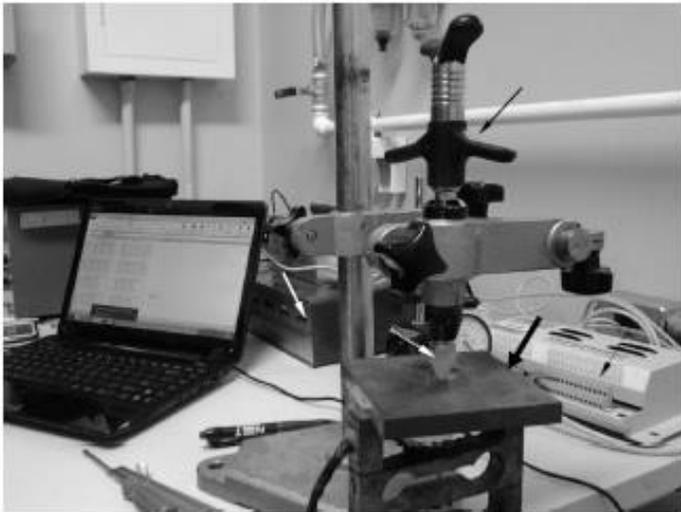


Figure 2

Figure 3

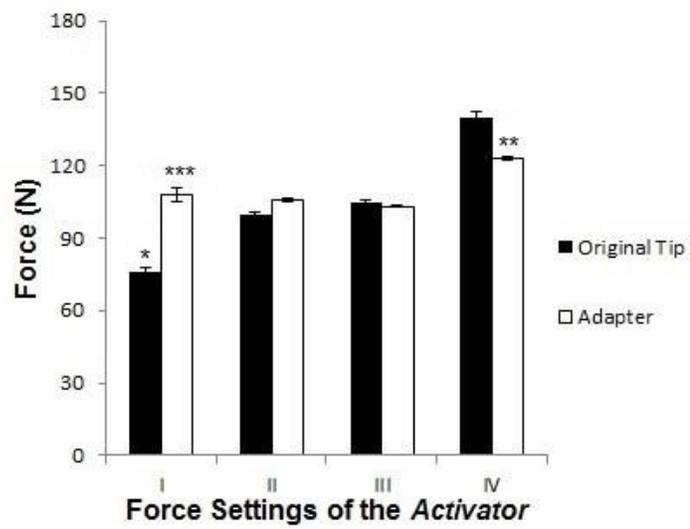


Figure 4

