Alessandra Eira Iague Sleiman Molina

Análise da sensibilidade e reprodutibilidade da escala de Basso, Beattie e Bresnahan (BBB) em ratos Wistar.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Ortopedia e Traumatologia

Orientador: Prof. Dr. Tarcísio E. Pessoa de Barros F^o

São Paulo
2006

Alessandra Iague Sleiman Molina

DEDICATÓRIA

A Marcos, esposo querido que com sabedoria e garra incentiva todos os meus projetos de vida, auxiliando nas dificuldades e tornando real todos os nossos sonhos.

À minha mãe, Alvalena, por sua participação constante e zelosa suprimdo, carinhosamente, a figura materna em minha ausência.

Aos meus filhos, Tainá, Pedro, Natan e Sâmia, pela compreensão e alegria não me deixando esmorecer nos momentos difíceis.

Ao meu pai, Adelino, pelo exemplo de sabedoria e dignidade que nos proporcionou muitas alegrias e realizações.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Tarcísio E. Pessoa de Barros Fº, pela oportunidade em compartilhar de seus conhecimentos e me direcionar como modelo profissional e de vida acadêmica.

Alessandra Iague Sleiman Molina

AGRADECIMENTOS

Para desenvolver e finalizar este trabalho houve a colaboração de pessoas, que muito me auxiliaram direta ou indiretamente, mas que sem elas esta dissertação não seria possível.

Ao Prof. Dr. Olavo Pires de Camargo, pela acolhida no Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, ao iniciar o curso de Pós-Graduação.

Ao Prof. Dr. Tarcísio Eloy Pessoa Barros Filho, pelos ensinamentos transmitidos como orientador e pelas práticas soluções apresentadas neste trabalho.

À Sra Jane Donini dos Santos Ferreira secretária do Centro de Pesquisas e Treinamento, do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo auxílio na execução deste trabalho.

Ao Sr. Gustavo Bispo dos Santos, técnico do Laboratório de Microcirurgia, pela colaboração constante na realização da parte experimental.

À Sra. Veroneide Andrade Folha, auxiliar de enfermagem do Laboratório de Microcirurgia do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pela dedicação aos animais de trabalho experimental, sem a qual não seria possível a realização dos mesmos.

Ao residente, Dr. Douglas Vingi Norazahi, pela efetiva participação neste trabalho.

Alessandra Iague Sleiman Molina

Ao Prof. Dr. José Oswaldo Moreira, pela colaboração imediata e sugestões valiosas.

Aos fisioterapeutas Ft. Dra. Anita, Ft. Dr. Leandro e Ft. Dr. Eduardo que com dedicação e boa vontade auxiliaram na execução deste trabalho.

Ao Dr. Raphael Marcon, pelas menções apresentadas de muito valor.

À Sra. Sandra Maria Silveira, secretária da diretoria executiva do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo profissionalismo e atenção dispensada neste período.

À equipe da Secretaria de Pós-Graduação do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Helena Nunes Pereira, Rosana Moreno Costa, Claudia Adriana Ferreira Nobre e Hernane Ferreira Silva, pela solicitação dos prazos de forma gentil e dedicada.

À Sra Leide Salomão, secretária da Comissão Científica, pelo incentivo durante a permanência no Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Ao Sr. Sérgio Spézzia da equipe de editoração das imagens realizadas da videoteca do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Ao meu Tio, Sr. Everaldo Costa Eira, que auxiliou na execução da filmagem dos animais sempre de forma atenciosa e prestativa.

Alessandra Iague Sleiman Molina

Ao Sr. Tomaz Puga Leivas, Sra Lucia Maria Evangelista Ferraz e Sra. Márcia Salgado da Costa Amaral pela colaboração nos cálculos estatísticos e na revisão deste trabalho.

Alessandra Iague Sleiman Molina

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com:

Terminologia Anatômica em Português conforme a TERMINOLOGIA ANATÔMICA INTERNACIONAL DA FEDERATIVE COMMITTEE ON ANATOMICAL TERMINOLOGY - FCAT (COMISSÃO FEDERATIVA DE TERMINOLOGIA ANATÔMICA – CFTA) aprovada em 1998 e traduzida pela Comissão de Terminologia Anatômica da Sociedade Brasileira de Anatomia – CTA-SBA. 1. Ed. (Brasileira) São Paulo, Editora Manole Ltda 2001. 248p.

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. GUIA DE APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÕES, TESES E MONOGRAFIAS. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena, 2ª ed. - São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação – SBD/FMUSP, 2005.

Utilizaram-se a terminologia e as definições estatísticas conforme o GUIA PARA EXPRESSÃO DA INCERTEZA DE MEDIÇÃO, Segunda Edição Brasileira do Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (BIPM,

---

Alessandra Iague Sleiman Molina

IEC, IFCC, ISSO, IUPAC, IUPAP, OIML, 1983). Edição Revisada (Agosto de 1998) – Rio de Janeiro: ABNT, INMETRO, SBM, 1998.

As abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com LIST OF JOURNALS INDEXED IN INDEX MEDICUS (1992) e na LILACS - LITERATURA LATINO-AMERICANA E DO CARIBE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE (1995).

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Alessandra Iague Sleiman Molina

SUMÁRIO

Resumo

Summary

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	OBJETIVO.....	10
3.	REVISÃO DA LITERATURA.....	12
4.	MÉTODOS.....	48
	Análise estatística.....	55
5.	RESULTADOS.....	60
6.	DISCUSSÃO.....	76
7.	CONCLUSÕES.....	98
8.	ANEXOS.....	100
9.	REFERÊNCIAS.....	105

RESUMO

Molina, AEIS. Análise da sensibilidade e reprodutibilidade da escala de Basso, Beattie e Bresnahan (BBB) em ratos (Dissertação). São Paulo. Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 121p

Procurou-se avaliar a sensibilidade e a reprodutibilidade da escala funcional de Basso, Beattie e Bresnahan (escala BBB) para a avaliação da capacidade locomotora dos ratos após lesão medular. A escala BBB é uma medida preditiva baseada em critérios observacionais específicos da movimentação do animal durante a marcha e que atribui uma pontuação seqüencial e acumulativa correspondente aos critérios pré-estabelecidos satisfeitos. Submeteram-se 30 ratos Wistar à laminectomia e à contusão medular leve, moderada e grave produzida pelo equipamento computadorizado de impacto por queda de peso desenvolvido pela Universidade de Nova Iorque (NYU Weight-Drop Impactor). No 28º dia após a contusão medular, cada rato foi colocado numa caixa transparente (80x80x30cm), com o fundo e a parede posterior forrados com material antiderrapante escuro e estimulado a se movimentar. A movimentação de cada rato foi registrada, simultaneamente, por 3 câmeras digitais e, após a edição, cópias idênticas dos filmes foram encaminhadas à seis pesquisadores independentes, sem a informação sobre a gravidade da lesão correspondente de cada rato, para a determinação da capacidade locomotora segundo a escala funcional de Basso, Beattie e Bresnahan. Verificou-se a sensibilidade do método para detectar diferenças entre os resultados das patas do lado esquerdo e direito, entre os ratos submetidos a lesões leves, moderadas e graves e entre os avaliadores através de comparações dos resultados funcionais e a reprodutibilidade através de testes de correlação. A escala BBB apresenta: a) nas lesões leves sensibilidade satisfatória e elevada reprodutibilidade; b) nas lesões moderadas a sensibilidade é insatisfatória e a reprodutibilidade satisfatória, porém moderada; c) sensibilidade insatisfatória e redução da reprodutibilidade.

Descritores: Coluna vertebral, Traumatismos da coluna vertebral, Métodos, Recuperação de função fisiológica, Escalas, Ratos.

Summary

Molina, AEIS. Analysis of sensitivity and reproducibility of the Basso, Beattie and Bresnahan (BBB) Scale on rats (Dissertation). São Paulo. Faculty of Medicine, University of São Paulo; 2006.

An assessment of the sensitivity and reproducibility of the Basso, Beattie and Bresnahan functional scale (BBB scale) was carried out, to evaluate the locomotion capacity following spinal cord injury. The BBB scale is a predictive procedure based on specific observational criteria of the locomotion of the animal under way, which attributes a sequential and cumulative score corresponding to satisfied pre-established criteria. 30 Wistar rats underwent laminectomy and light, moderate and severe spinal cord injury generated by the computerized equipment of impact through weight-drop developed by the University of New York (NYU Weight-Drop Impactor). At day 28 following the spinal cord injury, each rat was placed into a transparent box (80x80x30cm), with the bottom and the posterior wall lined with dark anti-slip material, and stimulated to move. The locomotion of each rat was recorded, simultaneously, by 3 digital cameras and, after editing, identical copies of the films were sent to six independent researchers, with no information regarding the severity of the injury in each rat, for determining the locomotory capabilities according to the Basso, Beattie and Bresnahan scale. The sensitivity of the method was verified for detecting differences between the results obtained from the left and right-side paws, among the rats subjected to light, moderate and severe injuries and among the evaluators through comparisons of the functional results and the reproducibility through correlation tests.

Descriptors: Spine, Spine injuries, Methods, Recovery of function, Scales, Rats

---

1. INTRODUÇÃO

A partir de dados epidemiológicos da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo e do DATASUS, disponíveis em 2004, estima-se a ocorrência de cerca de 1950 casos novos por ano de uma população de aproximadamente 55.000 indivíduos com traumatismo raquimedular no Estado de São Paulo de 8950 casos novos por ano e de 250.000 pacientes com lesão medular no Brasil¹

A disponibilidade de dados confiáveis e atuais sobre a lesão medular no Brasil ainda é escassa. Os estudos epidemiológicos disponíveis sobre os traumatismos mostram dados alarmantes (CREMESP, APM, SMESP, 1998; Waiselfisz, 2002). Verifica-se uma mudança gradual da incidência das principais causas externas de morbidade, que alertam para um aumento significativo dos traumatismos, principalmente, dos relacionados ao trânsito, agravados pelo consumo de álcool (Ipea, 2004; OMS, 2004), e destacam a importância da orientação e da prevenção (Barros Filho, 1999).

A incidência de pacientes internados com lesão medular no Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo aumentou em 32% entre 1997 e 2001 (Marion, 2003). As principais causas das lesões medulares são os acidentes de transporte (automóveis, motocicletas e pedestres), as quedas e

---

¹ Dados fornecidos pelo Centro de Atendimento ao Traumatizado Raquimedular do IOTHCFMUSP-CENATRA. Barros Fº TEB (2005) Escopo do Projeto CENATRA.

---

acidentes pessoais e as lesões corporais (agressões e tentativas de suicídio) decorrentes do aumento da violência, principalmente, nos grandes aglomerados urbanos brasileiros, como na região da Grande São Paulo. Constata-se a predominância de pacientes jovens e do sexo masculino: 90% homens entre 10 e 30 anos (Jorge et al., 1995; D'Andrea Greve, 1995; D'Andrea Greve, 1997; Barros et al., 1999; Gazal-Carvalho et al., 2002). Esta lesão transforma as pessoas jovens e produtivas em pacientes dependentes.

A lesão medular, uma síndrome neurológica altamente incapacitante, altera o funcionamento ou prejudica vários órgãos e sistemas, produz uma alteração da homeostase física e emocional do paciente e do meio sócio-familiar no qual está incluído (Castro, 2003), constitui um desafio à reabilitação (Lianza et al., 2001) e apresenta um efeito potencialmente devastador na sua qualidade de vida (Rodrigues, 1999).

O paciente com lesão medular apresenta, ainda, problemas decorrentes da sua incapacidade, muitos deles de caráter progressivo: dor, espasticidade, úlceras de pressão, problemas urológicos, neurológicos, plásticos, vasculares, cárdio-respiratórios e problemas psicológicos, principalmente de depressão. Necessita da atenção de uma equipe multiprofissional e multidisciplinar capacitada em centros especializados. Mesmo no Estado de São Paulo, a assistência integral ao paciente com lesão medular é restrita, disponível em poucas instituições. O paciente torna-

---

se usuário constante e intensivo dos recursos do Sistema Único de Saúde e, mesmo com o aumento significativo do tempo de sobrevida observado nos últimos anos, apresenta elevado número de anos potenciais de vida perdidos (APVP). O tratamento é caro, contínuo e não apresenta resolutividade adequada. A incapacidade é severa e irreversível. A maioria não dispõe de condições financeiras para adquirir os recursos da tecnologia assistiva disponíveis. Sua qualidade de vida é precária.

Desde as primeiras descrições de pacientes com fratura da coluna vertebral encontradas nos papiros egípcios descobertos por Edwin Smith, cuja autoria é supostamente atribuída a Imhotep (datados da terceira dinastia do Antigo Egito, ~1700 anos a.C.), que em uma descrição de um dos casos afirma tratar-se de “uma lesão que não deve ser tratada” (Breasted, 1930 e Barros Filho et al., 2001) e de Hipócrates (1460-1375 a.C) que estabelece a primeira terapia conhecida, com a aplicação de uma tração axial para a redução e alinhamento vertebral e de uma força corretiva à gibosidade, (Galvão, 2003) até o século XX, com a descoberta dos raios X e com a introdução das cirurgias de estabilização com placas e parafusos preconizadas por Wilson em 1940 (Galvão, 2003), nenhuma recuperação funcional é obtida. A partir de então, observa-se um rápido desenvolvimento de técnicas cirúrgicas, de materiais de implante, de técnicas de imagem, de fármacos e medicamentos (Young et al., 1981; Young e Flamm, 1987; Tebet, 2002), de procedimentos de reabilitação através de meios físicos (Galvão, 2003) e de equipamentos específicos (De Biase, 2005), os quais

---

têm melhorado a preservação e a utilização da capacidade funcional restante dos pacientes, a prevenção e o tratamento de doenças secundárias à lesão medular (Castro, 2003) e a qualidade de vida; no entanto, nenhuma recuperação significativa tem sido obtida ainda (Galvão, 2003; Marion 2003; De Biase, 2005).

Com os recentes avanços do conhecimento da fisiopatologia (Panji e Wrathall, 1988; Tator e Koyanagi, 1997; Kuhn e Wrathall, 1998; Vialle, 1999), das técnicas de reconstrução tecidual e da engenharia de tecidos, do papel dos fatores de crescimento tecidual, da regulação dos fatores anabólicos (Tator, 1998) e catabólicos (Oliveira, 2005) neuronais (Young et al., 1981; Young e Flamm, 1982) e, principalmente, com o desenvolvimento das terapias celulares (Cristante et al., 2002; Barros Filho et al., 2002) surgem os primeiros relatos significativos da regeneração medular e da recuperação funcional em animais (Lu e Waite, 1999; Cristante et al., 2002). Há uma esperança real para os pacientes com lesão medular.

A utilização de modelos experimentais em animais torna-se fundamental para o desenvolvimento das novas terapias. A maioria dos modelos utiliza o rato pela sua praticidade, custo e disponibilidade. Vários modelos experimentais em ratos são utilizados para avaliar a recuperação funcional através de reflexos sensoriais e locomotores. A confiabilidade e a efetividade das medidas são maiores quanto mais simples a sua aplicação e mais fáceis a observação e a atribuição da pontuação. Uma dificuldade,

---

referida nesses estudos, é o estabelecimento de um sistema de avaliação padronizado para a medida comportamental e funcional em animais com lesão medular (Panji e Wrathall, 1988; Kurn, 1998; Vialle, 1999). Os estudos da regeneração do sistema nervoso central e da avaliação do comportamento neurofisiológico, dos processos de reabilitação e para o controle e a comprovação da recuperação funcional dependem de modelos experimentais mais eficientes, precisos e reprodutíveis.

Os métodos de avaliação comportamental, as definições e os critérios para a avaliação da capacidade locomotora dos ratos variam consideravelmente na literatura (Gale et al., 1985; Goldberger et al., 1990; Metz et al., 2000). Desenvolvem-se métodos de avaliação que utilizam escalas de locomoção livre ou em campo aberto (Tarlov et al., 1953; Tarlov e Kliger 1954; Basso et al., 1995; Tator e Koianagi, 1997), escalas de análise cinemática da locomoção em esteiras, escalas de análise das pegadas ou “footprint” (De Medinaceli et al, 1982; De Medinaceli, 1990), por marcha marcada ou “grid walk” (Z’Graggen et al., 1998), por “narrow bean” (Hiks e D’Amato, 1975), por exploração (Bignami, 1996) e por resposta de contato ou “contact placing response” (Redemaker, 1931; Kunkel-Bagden et al., 1993). A maioria dos métodos baseiam-se na atribuição de pontuação através de uma escala qualitativa ou semi-quantitativa pré-determinada, ou apresentam problemas de reprodutibilidade e de falta de precisão e de sensibilidade, principalmente, para pequenas

---

respostas ou pequenas diferenças (Panji e Wrathall, 1988; Kurn, 1998; Vialle, 1999; Lu e Waite, 1999; Metz et al., 2000; Molina e Barros, 2004).

Lu e Waite, 1999, afirmam que é necessário o desenvolvimento de um modelo experimental padronizado, reproduzível, de fácil aquisição e que apresente poucas variáveis. Novas estratégias de estudo em modelos animais e de métodos de avaliação do comportamento neurofisiológico são continuamente propostos e testados (Molina e Barros, 2004; Ferguson et al., 2004; Scheff et al., 2002; Metz et al., 2000) para estabelecer condutas experimentais mais adequadas.

Em 1997, o Instituto de Ortopedia e Traumatologia implantou o Centro de Atendimento ao Traumatismo Raquimedular – CENATRA e iniciou a implantação do Laboratório de Estudos do traumatismo Raquimedular e de Nervos – LETRAN (Barros Filho et al., 2003) para a realização de pesquisas avançadas. Dentre os vários modelos experimentais em utilização, adota o modelo de lesão medular em ratos utilizado pelo Multicenter Animal Cord Injury Study – MASCIS (Basso et al., 1996).

O modelo, NYU Spinal Cord Contusion System, é utilizado para a produção de contusões reproduzíveis da medula espinal com diferentes intensidade, e a escala de Basso, Bettie e Bresnahan (Basso et al, 1995) é

---

utilizada para a avaliação funcional da recuperação da capacidade locomotora.

O NYU Spinal Cord Contusion System é um aparelho computadorizado, desenvolvido pela Universidade de Nova Iorque (New York University - NYU), capaz de produzir lesões medulares padronizadas de diferentes intensidades em ratos submetidos a uma laminectomia, por contusão direta com queda de peso (haste) de alturas pré-determinadas. O modelo estabelece a utilização de ratos Sprague-Dawley com peso variando entre 200 e 220g, dificilmente encontrados no Brasil. Rodrigues (1999) padroniza a lesão medular experimental em ratos Wistar, para o LETRAN, de acordo com os parâmetros do Multicenter Animal Cord Injury Study – MASCIS.

A escala de Basso, Beattie e Bresnahan (BBB) (Basso et al., 1995) é uma escala preditiva, baseada em critérios observacionais da resposta locomotora dos ratos, e atribui uma pontuação de zero a vinte e um, através de uma escala semi-quantitativa pré-estabelecida.

Procurou-se avaliar a sensibilidade e a reprodutibilidade da escala funcional de Basso, Beattie e Bresnahan, ou escala BBB, analisando-se os resultados da capacidade locomotora de ratos Wistar submetidos a diferentes intensidades de contusão medular medidos por seis pesquisadores independentes.

A determinação das características e das limitações da escala de Basso, Beattie e Bresnahan possibilita a definição de novas estratégias (Lago Jr et al., 2005), o melhor planejamento das pesquisas, o uso de desenhos experimentais mais adequados, o maior poder de discriminação das diferenças, a realização de pesquisas ou da comparação de dados interlaboratoriais e o fornecimento de subsídios para o aperfeiçoamento contínuo dos métodos de avaliação.

---

2. OBJETIVOS

Avaliar a sensibilidade e a reprodutibilidade da escala BBB (Basso et al., 1995) na avaliação da função locomotora dos ratos submetidos à lesão medular leve, moderada e grave.

---

3. REVISÃO DA LITERATURA

Estudos sobre a Lesão Medular e o Desenvolvimento dos Modelos Experimentais em Animais

Schmaus (1890), citado por Yeo (1976), realiza um estudo experimental em coelhos criando um modelo para avaliar a lesão da medula espinhal através da aplicação de um golpe sobre uma tábua apoiada no dorso dos animais. Observa alterações fisiopatológicas com de áreas de degeneração medular.

Kirchgasser (1897), citado por Dohrmann (1972), estuda as modificações da medula espinhal após traumatismo na região dorsal ocorrida em coelhos e descreve o processo de degeneração da bainha de mielina e das células dos cornos anteriores da medula.

Allen (1911), citado por Tarlov e Klinger (1954), foi um dos primeiros a criar um modelo experimental, utilizando cães, de forma reprodutível de lesão medular direta sobre a dura-máter. Através da queda de peso direto sobre a duramáter. O modelo fica conhecido como “queda de peso” e a gravidade da lesão é quantificada por meio

---

do produto do peso em gramas e pela altura em centímetros sendo expresso em gramas-centímetros (g.cm).

Allen (1914), citado por Tarlov e Klinger (1954), constata que a contusão medular provocada por um impacto de 240 g.cm ocasiona uma paraplegia espástica que melhora após 10 dias e que ao se aumentar o impacto para 400 g.cm, a lesão torna-se mais grave e irreversível. Descreve que o edema e a hemorragia na substância cinzenta e branca da medula espinal melhoram ao se diminuir a pressão intramedular por mielotomia havendo melhora dos animais. Propõe que o aumento da pressão intramedular causado pelo edema e hemorragia produz, após o trauma direto, necrose isquêmica.

Ayer (1919) através da injeção de parafina no espaço extradural, produz compressão da medula espinal em gatos que apresentaram paraplegia. Conclui que os animais apresentam as meninges inflamadas apesar da medula espinal apresentar-se histologicamente normal.

Thompson (1923), citado por Tarlov e Klinger (1954), com a ponta dos dedos ou com um cabo de bisturi, esmaga a medula

---

espinal de cães. Correlaciona o achado que apresenta área de hemorragia no local da lesão com os analisados no ferimento por arma de fogo na medula espinal.

McVeigh (1923) produz lesões em cães na medula espinal no nível TVII-TVIII e em cadáveres. Pela compressão digital da medula observa edema na coluna após oito horas da lesão. A hemorragia intramedular estende-se acima e abaixo do nível da lesão. Conclui que as lesões medulares ocorridas em cães são similares às ocorridas em cadáveres principalmente as alterações mecânicas.

Ferraro (1927), citado por Yeo (1976), golpeia a região dorsal de coelhos com uma barra de ferro e observa as alterações anatomopatológicas da medula na primeira hora e após 12 horas. Observa gliose reativa com mudanças na substância cinzenta. Esclarece que há alterações patológicas provocadas pelas ondas de choque produzidas pelo trauma que são transmitidas pelo líquido cefaloraquidiano.

Craig (1932), citado por Dohrmann (1972), coloca no espaço extradural da medula espinhal de gatos, pedaços de cera óssea constatando a existência de uma área de degeneração, no nível da lesão, que apresentam vasculização e degeneração cística.

Amako (1936), citado por Yeo (1976), modifica o método de impacto criado por Allen, observando em cães hemorragia na substância cinzenta com formação de uma cavidade na medula espinhal.

Groat et al. (1945) elevam verticalmente gatos que sofreram lesão na coluna vertebral por uma tábua. Observam que a força utilizada para provocar a lesão interfere nas alterações histopatológicas e eletrofisiológicas das células da medula espinal.

Tarlov et al. (1953), colocam balões hidráulicos de diferentes tamanhos no espaço extradural e aplicam uma força compressiva quantificável na medula espinal em cães. Observam que há degeneração da medula espinal no local da lesão provocada pelos balões e que a recuperação funcional do animal após a compressão depende do período de compressão medular.

Tarlov e Klinger (1954) apresentam um método de avaliação da recuperação funcional que pontua a recuperação de 52 cães de tamanho médio após laminectomia e lesão medular aguda produzida, pela expansão, de balões de 3 tamanhos. Classificam os animais segundo o comportamento específico demonstrado durante sua locomoção em campo aberto. Classificando-os em cinco níveis funcionais (de 0-4) a partir da observação comportamental baseada em critérios e definições não operacionalizados vagos ou subjetivos como “bom movimento” ou “recuperação completa”

Woodward e Freeman (1956) estudam em cães, a isquemia da medula espinal de 27 cães. Secciona os vasos sanguíneos e as raízes nervosas de TVI à TXI. Constata mudanças na avaliação histológica e perda de neurônios no corno dorsal na isquemia leve, seguida por redução da substância cinzenta posterior e separação dos elementos neurais. Produzem um quadro de mielomalácia .

Kajiwara (1961) joga coelhos de várias alturas para estudar as alterações histopatológicas da lesão medular. Observa hemorragia e edema da medula espinal traumatizada.

Harvey e Srebnik (1967) descrevem um modelo de lesão medular realizada pelo esmagamento da medula espinal de ratos pela pressão digital do pesquisador e observa a regeneração de fibras nervosas e melhora da locomoção dos ratos tratados com levotiroxina antes e após a lesão.

Albin (1968) estuda o efeito do resfriamento nas lesões da medula espinal em macacos da espécie *Mulata*. Observam que em baixas temperaturas ocorrem alterações estruturais de despolarização dos microtubos e que para o sucesso dos tratamentos deve-se inicia-lo até 4 horas após a lesão na medula espinal.

Ducker e Hamit (1969) avaliam 4 tipos de tratamento em cães sofreram lesão medular por queda de peso de 25g à altura de 15cm. Comparam estes grupos sendo que no grupo 1 os animais foram tratados por hipotermia local pela irrigação da ferida com solução

---

salina circulando através de água gelada à 0°; no grupo 2 os animais foram tratados com dexametasona após a lesão; no grupo 3 os animais receberam uma única dose de metilprednisolona intratecal e um grupo controle. A análise da recuperação neurológica é feita segundo a escala de Tarlov. Observam que os grupos que recebem dexametasona intramuscular e hipotermia local melhoram significativamente a função neurológica.

Ducker e Kindt (1971) realizam estudo com 32 macacos Rhesus. Procedem a laminectomia em região de T₁₂-L₁, com lesão medular por queda de peso colocado em um êmbolo à 20 cm de altura. Os grupos são divididos de acordo com a massa do êmbolo em 10, 15, 20 e 25 g com 8 animais cada. Concluem que quanto maior a carga aplicada, maior é a gravidade da lesão medular, havendo melhora do quadro clínico apesar das alterações histológicas.

Fairholm e Turnbull (1971) realizam estudo experimental, prospectivo em 34 coelhos e cinco cães que sofreram lesão medular por queda de peso. Após terem sido sacrificados é realizada uma microangiografia definindo duas zonas de lesão. Afirmam que a preservação da microcirculação interfere na recuperação dos neurônios e axônios.

Dohrman (1972) realiza uma revisão de literatura sobre trabalhos experimentais em animais que sofreram lesão medular. Constata alterações estruturais; vasculares; fisiológicas e biomecânicas que mudam conforme os diferentes métodos de tratamento utilizados.

Yeo et al., (1975) realizam revisão de estudos sobre lesão medular em animais. Constatam que o modelo que mais se aproxima às condições humanas ocorre em macacos porém, este modelo apresenta algumas dificuldades por ser de tratamento caro e difícil manuseio. Observam que o modelo realizado em ovelhas é bem aceito por possuir um tamanho adequado da medula espinhal e por ser fácil tratamento em longos períodos.

Koozekanani et al. (1976) provocam lesão medular em cães por queda de peso, através de laminectomia. O movimento da queda de peso foi realizada por uma câmara fotográfica e comparado com a simulação realizada por computador. Observam que os dados produzidos pelo computador são dinâmicos durante o impacto, enquanto que a avaliação pela fotografia ocorre com intervalos.

Eidelberg et al. (1976) descrevem um modelo de lesão meular submáxima, realizando compressão na região torácica no nível TVI-TVIII por uma carga de 100g Poe 3 minutos. A função motora é avaliada

---

através de um plano inclinado de até 25 graus e realizadas avaliações histológicas. Concluem que este modelo simula a compressão de uma luxação ou fratura-luxação com fragmento dentro do canal vertebral.

Dohrmann e Panjabi (1976) realizam estudo experimental com lesão medular , através de queda de peso, na região de TV-TVI. Aplica-se um trauma de 400g.cm. na medula de gatos que foram divididos em cinco grupos: 1) 5g x 80cm, 2) 10g x 40cm, 3) 20g x 20cm, 4) 40 g x 10cm, 5) 80g x 5cm . Comparam os parâmetros de lesão entre cinco grupos e observaram que houve diferença em todos os grupos quanto ao volume de lesão e quanto a quantidade de energia transferida para a medula conforme a massa, a altura, a massa do protetor de medula e a velocidade. Notou-se que a energia absorvida pela medula espinal do grupo 4 é aproximadamente 100 vezes maior que a do grupo 1.

Rivlin e Tator (1977) apresentam um método de avaliação da função motora em ratos, colocando o qanimal em plano inclinado. Verifica-se em que nível os ratos normais e sujeitos à mielectomia, mantém-se no plano inclinado sem cair; quantificando a função motora entre os dois grupos e observando diferenças.

Yeo et al. (1977) observam as mudanças associadas à necrose pós-trauma na medula espinhal em ovelhas com lesão medular por queda de peso. Dividem-se as ovelhas em quatro grupos; grupo I controle, grupo II tratados com metil predilosona, grupo III tratados com alfa metil paratirosina e grupo IV com oxigênio hiperbárico. Todos os animais apresentaram recuperação significativa porém sem recuperação total. Os animais tratados com oxigênio hiperbárico apresentaram melhora da recuperação motora por oito semanas após a lesão e os tratados por alfa metil paratirosina mostraram menor degeneração cística. A aplicação da alfa metil paratirosina é impedida pela toxidade renal em pacientes com lesão medular.

Rawe et al. (1978) estudam em gatos as alterações histopatológicas da lesão medular. Demonstram uma elevação seguida de diminuição da pressão arterial após o trauma com alteração da auto-regulação vasomotora. Constata que o edema após trauma medular poderia ser controlado se também houver controle da pressão arterial sistêmica.

Balentine (1978) realiza lesão medular em ratos por queda de peso, na região tóraco-lombar. A região dorsal é exposta por laminectomia. Observa paraplegia com presença de necrose isquêmica provocada pela lesão vascular que se inicia 30 minutos após o trauma e se completa até 24 horas .

Rivlin e Tator (1978a) apresentam um novo modelo de lesão medular em ratos utilizando a pinça de aneurisma modificado cuja força de compressão graduada é impressa sobre a medula de 180 g.. Há controle na localização, na força aplicada e no tempo de compressão constatando relação entre a duração da compressão e dano neurológico.

De La Torre e Boggan (1980), em estudo experimental com 32 cães submetidos à lesão medular por queda de peso, observam o tratamento com drogas. Constituem quatro grupos com oito cães cada e são submetidos a tratamento com solução salina, dexametasona, manitol e dimetil-sulfoxide. Constatam que a solução salina isotônica e de manitol não revertem a paralisia e que os cães com dimetil-sufoxide têm recuperação total ou parcial.

Bohlman et al. (1981) demonstram como produzir traumatismo por contusão da medula espinal através da queda de peso. Utilizam pesos diferentes para a obtenção de lesões leves à graves. A compressão é realizada de maneira controlada e monitorada, utilizando um transdutor de pressão. Correlacionam os achados histológicos com as alterações da paralisia.

Means et al. (1981) realizam estudo experimental em gatos, e utilizam a metilprednisolona em animais que sofreram lesão medular,

---

Mostram os benefícios à recuperação motora, no tratamento com metilprednisolona e observam que há uma correlação entre o tamanho da cavidade na medula e a recuperação motora.

Anderson (1982) utiliza um cilindro pneumático que guia a ponta do dispositivo de impacto contra o saco dural de 76 gatos submetidos à lesão medular controlada por uma pressão de 170g no nível de L2, avaliou-se o efeito da metilprednisolona no metabolismo da lesão medular. A extensão das alterações anatômicas da medula espinal é avaliada por cortes transversais ao nível da lesão. O grau de comprometimento funcional é determinado através do potencial evocado sensitivo das patas traseiras, no pré e pós-lesão. Afirma-se que o grupo tratado com doses de metilprednisolona apresenta preservação da perfusão microvascular.

Khan e Griebel (1983) estudam a lesão medular em ratos e comparam três técnicas de lesão experimentalmente: a queda de peso; o método de compressão por grampo de aneurisma e o método de compressão extradural com balão. Correlacionam os três modelos e observam que a técnica de compressão por grampo de aneurismo produz uma lesão medular consistente no pós-operatório. Concluem

---

que a principal causa da lesão na medula espinal pela queda de peso é o fator mecânico; enquanto que a utilização da pinça de aneurisma e do balão extradural apresentam fatores mecânicos e vasculares.

Wrathall et al. (1985) produzem uma lesão medular em ratos pela técnica da queda de peso, no qual o peso de 10g cai de 2,5; 5,0 e 17,5cm de altura sobre a dura-máter no nível de TVIII. O déficit funcional é avaliado 4 semanas após a lesão e a medula espinal analisada por histopatologia. Sugerem que há correlação entre parâmetros morfológicos, altura do peso e recuperação funcional visto que os resultados demonstram diferentes graus de lesão entre os três grupos com déficit funcional leve, moderado e grave.

Fine et al. (1986) realizam estudo com 9.647 pacientes com traumatismo raquimedular no Centro Nacional de Traumatismo da medula Espinhal da Unioversidade do Abama, sobre as causas da lesão medular, sua etilogia e sua prevalência.

Iizuka et al. (1986) estudam 38 ratos Wistar, fêmeas, de 180 a 230 gm.. Através de laminectomia em nível TXI, produz lesão medular por compressão através de “clip” vascular. Realizou-se a compressão em por 5 segundos em 11 ratos, por 10 segundos em 9 ratos, e por 30 segundos em 11 ratos. Em cinco ratos do grupo controle produziu-se lesão completa da

---

medula em T11. Mostrou-se que a análise das imagens após lesão medular não seja freqüente, uma boa correlação entre clínico-patológica pode ocorrer, quando utilizada a técnica de Fink-Heimer como preparação. A automatização da análise de imagens pode facilitar a conduta para determinados procedimentos terapêuticos.

Bresnahan et al. (1987) apresenta um aparelho de impacto com capacidade de produzir lesão traumática. Demonstram os resultados obtidos através das alterações anatômicas e funcionais, concluindo que as propriedades mecânicas no momento do impacto, interferem na reprodutibilidade da lesão medular.

Panjabi e Wrathall (1988) analisam biomecânicamente a lesão experimental da medula espinal de ratos, e as alterações funcionais, ocorridas por queda de peso. Com a massa constante de 10 gramas, varia a altura em 2,5, 5,0 e 17,5cm. Os parâmetros do déficit funcional são quantificados pelo registro do plano inclinado e registro motor das patas traseiras. Constatam uma relação significativa ($p=0,0001$) entre os parâmetros biomecânicos do trauma e do tempo de lesão, afirmam que o impulso é preditor da perda funcional.

Fujita e Yamamoto (1989) descrevem um modelo de lesão medular que realiza uma tração gradual da medula espinal de cães,

---

monitorada e registrada através do potencial evocado. Verificam que quanto maior é a força de tração, menor é a amplitude do potencial evocado e que a vulnerabilidade máxima da medula espinal torácica ocorre quando é aplicada uma tração de 200g. Concluem que a lesão da medula espinhal é devido à tração, e que a tração da medula espinal não causa somente lesão mas, também, aumenta a vulnerabilidade e a compressão da medula espinal.

Behrmann et al. (1992) apresentam um aparelho de contusão medular em ratos e comparam com um grupo que é submetido a secção anatômica da medula. Utilizam a escala de Tarlov para avaliar a recuperação locomotora. Observam os animais em campo aberto, em plano inclinado e em grade concluindo que há melhor recuperação funcional nos animais que sofreram lesão medular quando comparados com o grupo submetido à secção.

Constantini e Young (1994) em estudo experimental comparam o efeito da metilprednisolona, gangliosídeo GMI e da associação metilprednisolona e gangliosídeo GM1, na lesão medular aguda realizada em ratos. Realizam a avaliação iônica tecidual. Utilizam o New York University (NYU) spinal cord contusion system- IMPACTOR para reproduzir lesões por contusão. A lesão é provocada por queda de uma haste de 10g a uma altura de 1,25cm, 2,5cm e 5,0cm sobre a

---

medula espinal exposta por laminectomia ao nível de Tx. Constatase que a metilprednisolona MP eo GM-1 têm efeito aditivo na lesão medular porém não devem ser utilizados em humanos pois inibem a lipocortina.

Basso et al. (1994) afirmam que ratos com contusão medular leve, quando comparados à ratos com contusão moderada, apresentam: a) maior recuperação da locomoção; b) rápido índice de recuperação; c) maior poupança do trato rubroespinal e do trato vestibuloespinal ao longo da borda periférica do funículo dorsal e ventro-lateral.

Basso et al. (1995) afirmam que vários estudos da recuperação locomotora em ratos com lesão medular utilizam variações da escala apresentada por Tarlov. Apresentam uma escala de avaliação da recuperação locomotora em ratos com lesão medular nos níveis de TVII, TVIII, TIX a partir das respostas funcionais, sensitivas e motoras que varia de 0 (zero) a 21 (vinte e um). Os dados demonstram que esta escala é eficiente, ampla e não ambígua. Concluem que é capaz de distinguir resultados comportamentais em diferentes lesões e prever alterações anatômicas no centro da lesão. Afirmam que a recuperação é mais evidente nos grupos com lesão nas alturas de 12,5 e 25 mm e que examinadores, em diferentes laboratórios, podem reproduzir a análise dos resultados do teste BBB, oferecendo uma medida mais discriminativa do

---

resultado comportamental, permitindo uma melhor avaliação do uso de drogas aplicadas após lesão medular.

Basso et al., (1996a) padronizam o New York University (NYU) Spinal Cord Contusion System – IMPACTOR como método para produção de lesão medular contusa em ratos. Citam o teste BBB como sendo sensível para avaliar a recuperação da função locomotora em ratos com lesão medular contusa. Demonstram que o sistema NYU produz uma contusão medular graduada, consistente e reproduzível em todos os ratos. Afirmam que um exame dos efeitos terapêuticos para índices lentos e rápidos de recuperação é mais evidente nos grupos graduados com 12,5 e 25mm de altura da queda do peso de 10g sobre a medula. Confirmam que a maior quantidade de tecido poupado resulta na melhor recuperação da função locomotora final. Concluem que a escala BBB é aplicável após a utilização do sistema NYU, na análise da recuperação da função locomotora em ratos com lesão medular contusa.

Basso et al., (1996b) em estudo realizado pelo MASCIS-Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study, no qual participam 22 observadores de 8 diferentes centros que classificaram as patas traseiras de 9 ratos com lesão medular entre 2 e 6 semanas após contusão. Separaram-se os observadores em 3 grupos coorte. Um com experiência pelo sistema Ohio State University (OSU) e dois

---

grupos sem experiência com o OSU. Os resultados indicam que os observadores sem experiência podem aprender rapidamente a usar a escala BBB de forma consistente, que os escores entre 4 e 16 são mais consistentes e que a experiência implica em maior consistência nestes escores.

Haghighi et al., (1996) apresentam um modelo de lesão experimental na medula espinhal por radiofrequência e correlacionam com achados da ressonância magnética. Concluem que a lesão por radiofrequência é um modelo que deve ser utilizado para o estudo da lesão da medula espinhal e observam que há correlação entre as alterações histopatológicas e a ressonância magnética.

Tator (1998) realiza a análise das alterações vasculares através da autopsia em seres humanos com lesão medular em região cervical, após 18 à 66 horas. O estudo sugere que tanto a compressão quanto o alongamento podem ocluir ou realizar constrição dos vasos que irrigam o trato corticoespinhal.

Kurn e Wrathall (1998) produzem lesão da medula espinal em camundongos que foram desenvolvidos em laboratórios, pela técnica de queda de peso na qual utilizam diferentes pesos e alturas (1 g x 2,5

---

cm, 2 g x 2,5 cm, 3 g x 2,5 cm e 3 g x 5 cm) e avalia os resultados por testes funcionais e alterações histopatológicas. Observam que é produzido em todos os camundongos déficit funcional após a lesão e que ocorre gradual recuperação funcional porém as respostas podem ser modificadas pela utilização de ratos geneticamente modificados. Sendo relacionada a recuperação funcional com a quantidade de substância branca íntegra.

Rodrigues (1999) produz lesão na medula espinhal em 30 ratos Wistar, machos e fêmeas, entre 20 e 25 semanas. Realizaram-se impactos por queda de peso nas alturas de 12,5; 25 e 50 mm após laminectomia. Nota que a técnica por queda de peso apresenta algumas vantagens: 1) a quantificação g.m. não é a exata representação da energia aplicada sobre a medula; 2) a medula é comprimida na sua face dorsal diferente das lesões em seres humanos; 3) percebe resultados variáveis com a queda de peso. Conclui que a padronização da lesão medular em ratos Wistar é eficaz; é possível se estimar o volume de lesão espinal durante o impacto e não se comprova diferença significativa entre os volumes de lesão provocadas por queda de massa (10g) de 12,5 e 25 mm de altura.

Vialle et al. (1999) realizam lesão na medula espinhal em ratos Long-Evans, onde é provocada uma lesão pelo NYU_Impactor. Analisam-se histologicamente a progressão das alterações

---

secundárias ao trauma, constatando que há alterações progressivas na medula espinal na área de necrose secundária e redução no número de neurônios após a lesão observando degeneração neuronal e vacuolização após 48 horas.

Cristante et al. (2002) estuda-se 20 ratos submetidos à lesão medular sendo transplantadas células do sistema nervoso fetal no local da lesão. Demonstram que as células transplantadas permanecem viáveis e que há uma grande reação inflamatória no grupo controle.

Tebet (2002) avalia os efeitos da metilprednisolona (MP) e do gangliosídeo GM-1 no tratamento da lesão medular em 24 ratos Wistar. Formaram-se 04 grupos sendo o grupo I injetado com MP; o grupo II com o GM-1; o grupo III com MP associada ao GM-1; e o grupo IV (controle) com soro fisiológico. Os animais foram avaliados pela escala de Basso, Beattie e Bresnahan tendo sido constatado que houve diferença entre o grupo I e o grupo II sugerindo que a metilprednisolona possa atenuar os efeitos secundários da lesão medular e que o uso de corticóides não afetou a extensão da morte celular. Concluindo que na comparação dos três grupos os melhores resultados funcionais foram os obtidos com o uso da metilprednisolona isoladamente; os animais que receberam GM-1 superior ao grupo controle e os animais que receberam metilprednisolona associada ao GM-1 foi superior ao controle.

Galvão (2003) estuda a eficácia terapêutica da oxigenoterapia hiperbárica em 17 ratos Wistar, machos com lesão medular provocada por queda de peso de 10g na altura de 12,5 mm no nível de T10. A avaliação locomotora foi realizada no 2º, 9º, 16º, 23º e 30º dia pós-operatório. Os animais foram avaliados pela escala de Basso, Beattie e Bresnahan (BBB). Constatou-se recuperação da capacidade locomotora acelerada nos ratos tratados com oxigenoterapia hiperbárica até o 9º dia pós-operatório e a partir desta data, a progressão funcional decresceu até o 16º dia havendo equivalência no 30º dia, havendo equiparação de resultados. O exame anatomopatológico comprovou alterações estruturais uniformes nos dois grupos, a avaliação da recuperação funcional foi semelhante em ambos os grupos e a lesão medular leve provocada nos ratos evoluiu de maneira diferente no grupo de oxigenoterapia hiperbárica comparativamente ao grupo controle, na fase inicial (efeito acelerador). Tratados com carbonato de cálcio.

Webb et al. (2005) realizam um trabalho de revisão sobre o comportamento sensorio motor em ratos, adultos com lesão medular incompleta em região cervical. O estudo identifica o comportamento de determinados tratamentos sobre lesões cervicais incompletas. Constatam a importância de certas estruturas neurológicas no comportamento das patas traseiras e revê o comportamento das patas dianteiras neste tipo de lesão. Concluem que há alterações no comportamento tanto das patas traseiras

---

quanto nas dianteiras sendo que nas patas dianteiras as alterações aparecem no instante da lesão mais alterada que as traseiras porém, logo após a lesão ambas apresentam-se igualmente comprometidas. Sugere-se que há alterações neuroanatômicas e neuroquímicas nos motoneurônios devendo ser realizados mais estudos sobre a microcirculação intraespinhal e regeneração neural.

De Biase (2005) avalia 20 pacientes com idade média de 32,0 e 8,2 anos; 17 homens com lesão medular cervical incompleto. Utilizaram-se o NeuroEDUCATOR II sobre os músculos quadríceps direito e esquerdo na posição sentada e de sentada para ortostatismo segundo a classificação normalizada pela ASIA. Demonstrou-se ser possível aumentar o potencial eletromiográfico de base mantidos ao longo do tempo; os exercícios de extensão do joelho do sentado para o ortostatismo foi mais eficiente do que na posição sentada. Conclui que o aumento do diferencial de potencial eletromiográfico foi maior na segunda série de exercícios aplicados e que a retroalimentação foi eficiente e efetiva.

Oliveira (2005) observa os efeitos do tempo da descompressão medular em 50 ratos Wistar, machos com compressão medular pela fita de tecido (cetim) nos níveis de TIX e TX. Avaliou-se a recuperação da capacidade locomotora segundo a escala de Basso; Beattie e Bresnahan. Notou-se que o modelo de lesão medular em ratos com fita de compressão é reprodutível, produzindo lesão neurológica; a técnica utilizada para captar o

---

potencial evocado avalia os efeitos da descompressão medular; a escala BBB mostra-se eficiente na interpretação do efeito da descompressão medular e que quanto mais precoce a descompressão medular, melhor a recuperação neurológica.

Koopmans et al. (2005) demonstram a associação do método CatWalk na utilização da escala de Basso, Bettie e Bresnahan(BBB) . Utilizam 22 ratos Wistar, fêmeas de 11 semanas. Os animais foram avaliados no 21 dias após lesão sendo divididos em 2 grupos . Concluem que a associação do método CatWalk é possível sendo sensível quando associado à escala BBB.

Caracterização da Escala BBB

Metz et al., 2000 avaliam os modelos experimentais para a avaliação funcional de ratos submetidos à lesão medular. Referem que as definições e os critérios para a determinação da capacidade locomotora variam consideravelmente. Examinam os modelos de análise da motricidade dos ratos em campo aberto (“open field locomotion score”), os métodos de análise das pegadas (“footprint analysis”), da análise cinemática (“kinematic analysis of video recordings during walking”) e outros métodos de avaliação motora como o da marcha em piso gradeado (“grid walk”) e o teste da viga limitada (“narrow beam score”). Defendem que a melhor estratégia é a de combinar a avaliação pela escala BBB com métodos diferentes e

---

complementares para uma quantificação mais eficiente e confiável do déficit motor após a lesão medular e para possibilitar a comparação de resultados de pesquisas interlaboratoriais. Recomendam testes diferentes para estudos com os ratos com baixa motricidade, casos de ratos com pontuação entre 0 e 12 da escala BBB, e com alta, ratos com pontuação de 13, ou acima, da escala BBB. Para a avaliação de ratos com baixa capacidade locomotora, propõem a utilização combinada da escala BBB e da avaliação da marcha em piso gradeado (“grid walk”) e da análise cinemática (“kinematic analysis of vídeo recordings during walking”) . Para os ratos com alta motricidade, sugerem a combinação com a avaliação da marcha em piso gradeado (“grid walk”) e com o teste da viga limitada (“narrow beam score”).

Scheff et al., 2002 com base em uma série de dados reais obtidos de avaliações da capacidade locomotora dos ratos submetidos à contusão medular pela escala BBB (Basso et al., 1995) a partir de 14 artigos publicados no “Journal of Neurotrauma” ente 1998 e 2001, constitui quatro grupos, 1 controle e 3 diferentes tratamentos e estabelecem uma pesquisa experimental hipotética. Supõem todos os ratos previamente idênticos e normais, com 21 pontos na escala BBB e medem as alterações da capacidade funcional locomotora em sete ocasiões correspondentes aos dias 2, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 após uma contusão medular moderada e os respectivos tratamentos. Cada grupo é formado por 10 medidas representativas do tipo de dados adquiridos pelo uso da escala BBB. Constatam a utilização de testes estatísticos, tanto paramétricos quanto não

---

paramétricos, pelos pesquisadores, confirmando a falta de homogeneidade nos critérios e a controvérsia sobre o método estatístico mais apropriado. Consideram a escala ordinal com intervalos diferentes entre os seus pontos e constata maior facilidade de variação de pontuação na faixa elevada da escala em relação a faixa baixa. A melhora de 2 pontos na parte baixa da escala é completamente diferente de uma melhora de 2 pontos na parte baixa. Estabelecem uma estratégia para determinar o método estatístico adequado. Identificam comportamentos e características diferentes ao longo da escala. Recomendam a utilização de estatísticas mais conservadoras. Relatam tentativas de criação de subpontuação em partes específicas da escala para melhorar a sensibilidade da escala, por alguns autores.

Molina; Barros (2004) comparam três escalas e referem que a escala BBB é uma medida fácil e sensível de avaliação da recuperação locomotora, concebida para refletir a recuperação progressiva após a lesão medular, e fornece uma escala expandida para mostrar os comportamentos nas fases de recuperação inicial, intermediária e avançada. Podendo ser reprodutível com confiança em diferentes laboratórios.

Ferguson et al., 2004 avaliam a escala BBB (Basso et al., 1995) e propõem uma transformação “post hoc” para reduzir a variabilidade e aumentar o poder discriminatório em casos de pequenas variações das pontuações (resultados das avaliações) caírem na faixa superior da escala. Realizam a avaliação pela escala BBB de 643 ratos submetidos a contusões

---

leve a graves (haste 12,5, 2,5 ou 50mm de altura). A faixa alta da escala não foi analisada. Na faixa baixa, constataram descontinuidades na distribuição da pontuação. A pontuação 2 e 3 foi raramente atribuída. Refere que as descontinuidades aumentam a variância desproporcionalmente e representam um problema para as análises estatísticas, paramétricas ou não paramétricas. Sugere a combinação “post hoc”, dos resultados com 2, 3 e 4 pontos da escala BBB.

---

4. MÉTODOS

Para a determinação da sensibilidade e da reprodutibilidade da escala de Basso, Beattie e Bresnahan (Basso et al., 1995), ou escala BBB, compararam e se correlacionaram as medidas atribuídas por seis pesquisadores independentes da recuperação funcional da capacidade locomotora de 30 ratos, no vigésimo oitavo dia após serem submetidos à laminectomia e à lesão medular leve, moderada ou grave. Avaliaram, através de filmes idênticos as imagens registradas da movimentação de cada animal por três câmeras digitais simultâneas, sem a informação sobre a gravidade da lesão correspondente de cada rato.

O modelo experimental adotado para a realização da lesão medular foi o desenvolvido pelo Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study – MASCIS, padronizado para ratos Wistar por Rodrigues (1999) e adotado pelo Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e de Nervos – LETRAN do IOT-HC-FMUSP. O modelo experimental está validado nacional e internacionalmente.

O experimento foi conduzido no LETRAN do IOT-HC-FMUSP: recepção e seleção dos animais, formação dos grupos experimentais, lesão medular, manutenção, filmagem da capacidade locomotora e eutanásia.

O protocolo desta avaliação foi submetido e aprovado pela Comissão Científica do IOT e pela Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq (protocolo de pesquisa nº 1059/02) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

MODELO EXPERIMENTAL DE LESÃO MEDULAR EM RATOS

Avaliaram-se 30 ratos Wistar procedentes do Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Adotaram-se os critérios de inclusão e de exclusão estabelecidos por Rodrigues (1999) e Galvão (2003), e utilizados no Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e de Nervos – LETRAN.

Critérios de inclusão:

- Ratos da linhagem Wistar, machos e adultos jovens (~5 a 6 semanas);
- Peso entre 320 e 340 gramas, inclusive;
- Pelagem normal sob inspeção visual;

-
- Estado clínico normal avaliado pela veterinária do Biotério de Manutenção da Área de Pesquisas Biológicas do Laboratório de Biomecânica LIM-41 do IOT-HC-FMUSP;
  - Motricidade normal.

Critérios de exclusão:

- Óbito após a lesão (durante o experimento);
- Perda de tecido na área lesada;
- Autofagia ou mutilação entre os animais;
- Ausência de controle de micção;
- Infecção profunda e refratária a antibioticoterapia após lesão;
- Infecção urinária após 10 dias de tratamento com antibiótico (presença de sangue na urina);
- Movimentação normal após a lesão (21 pontos na escala BBB).

O desenho do modelo experimental adotado consistiu das seguintes etapas:

A - Recepção e seleção dos animais;

B - Formação aleatória dos grupos experimentais;

C - Lesão medular por queda de peso controlada por equipamento computadorizado;

- Procedimento anestésico
- Laminectomia
- Contusão medular

D - Procedimentos após contusão medular;

-
- E - Antibioticoterapia pós-operatória;
  - F - Manutenção dos animais;
  - G - Avaliação locomotora (filmagem da motricidade de cada rato com 3 câmeras simultâneas no 28º dia após lesão e análise das filmagens de cada rato para a avaliação da capacidade funcional locomotora pela escala BBB correspondente ao 28º dia após a lesão por 6 pesquisadores independentes, sem informação da gravidade da lesão correspondente a cada rato);
  - H - Eutanásia (29º dia após lesão);
  - I - Análise estatística.

A - Recepção e seleção dos animais

No momento da recepção, todos os ratos foram avaliados quanto às condições gerais e à motricidade, conforme os critérios de inclusão, e identificados através de marcações de listras coloridas nas caudas.

Os animais foram continuamente submetidos a estímulos sonoros, estalos da luva de borracha e som de palmas, e ao manejo dos técnicos do laboratório e dos pesquisadores para familiarizar e condicionar os ratos à movimentação, facilitando a avaliação da capacidade funcional locomotora após a lesão medular.

B - Formação aleatória dos grupos experimentais

Os ratos foram separados aleatoriamente (sorteio) em três grupos experimentais, conforme a intensidade da contusão medular pré-estabelecida produzida pelo equipamento computadorizado de impacto por queda de peso, desenvolvido pela Universidade de Nova Iorque (o NYU Spinal Cord Contusion System – New York University, 1993 – que utiliza o NYU Weight-Drop Impactor para a produção da contusão medular), variando-se a altura da queda entre a haste com peso de 10g que produz a lesão e a medula dos ratos.

Grupo	Altura da haste
Lesão medular leve	12,5 mm
Lesão medular moderada	25 mm
Lesão medular grave	50 mm

C - Lesão medular por queda de peso controlada por equipamento computadorizado

Procedimento anestésico

Utilizou-se pentobarbital intraperitoneal na dose de 65 mg/kg. Esta dose de pentobarbital teve seu efeito após 5 minutos da aplicação e manteve o rato anestesiado por aproximadamente duas horas.

Laminectomia

Cada rato foi submetido a uma laminectomia para a exposição da medula com o auxílio de um microscópio cirúrgico (Fig-1). A seguir, foi posicionado no equipamento computadorizado para impacto por queda de peso para o procedimento da contusão medular.

Realizaram-se as laminectomias conforme a técnica cirúrgica estabelecida por Rodrigues, 1999:

- A – Procedeu-se à tricotomia correspondente ao local da incisão no dorso de cada rato.
- B – Realizou-se uma incisão na pele, de aproximadamente cinco centímetros, na linha média dorsal para expor a coluna vertebral de TVIII a TXII.
- C - Afastaram-se os músculos inseridos nos processos espinhosos e nas lâminas de TX a TXI. Identificou-se a última costela, correspondente a TXII, e palpam-se os processos espinhosos de TVIII e TXII, sendo identificados.
- D - Utilizou-se um coagulador bipolar para a hemostasia, quando necessário.
- E - Removeu-se a metade distal do processo espinhoso de TIX e o processo espinhoso e as lâminas de TX com um sacabocado. Cuidou-se para não lesionar o saco dural. Iniciou-se a remoção pela borda caudal de TX, retirando-se os fragmentos da lâmina até a metade caudal de TIX.
- F - Utilizou-se a cera de osso para a hemostasia, quando necessário.

G – Realizou-se a laminectomia com a dimensão necessária para obter uma margem de segurança e acomodar adequadamente a extremidade da haste do equipamento computadorizado de impacto.

FIGURA 1 Via de acesso para a laminectomia nos processos espinhosos de Tix e Tx

Para a produção e o monitoramento da contusão medular, utilizou-se o equipamento computadorizado de impacto por queda de peso (Fig.2) desenvolvido pela Universidade de Nova Iorque (NYU Weight-Drop Impactor) e seguiram-se os procedimentos e cuidados indicados no Manual do Impactor (New York University, 1993):

- Posicionou-se o rato no equipamento computadorizado de impacto por queda de peso NYU Weight-Drop Impacto. Os processos espinhosos de TVIII e TXI foram fixados com presilhas e acomodou-se o rato sobre uma esponja.
- Ajustou-se a haste do equipamento na posição zero (inicial), e prendeu-se a garra de base na margem da ferida cirúrgica.
- Centralizou-se a extremidade da haste do equipamento entre TIX e TX e ajustou-se para obter um impacto direto com a medula. Este contato foi confirmado por sinais sonoro e luminoso emitidos pelo equipamento.
- Elevou-se a haste, conforme a intensidade de contusão estabelecida, para 12,5mm, 25mm e 50mm de altura.
- Liberou-se a haste do equipamento para contundir a medula.
- Colocou-se o rato em uma superfície aquecida e inspecionou-se o sítio de contusão. Procedeu-se à hemostasia de qualquer sangramento presente. A ferida cirúrgica foi suturada por planos com fio de poliamida (nylon®) monofilamentar número três zeros (3.0).

FIGURA 2   Posicionamento do rato no equipamento computadorizado de impacto por queda de peso NYU Weight-Drop Impactor para a produção da lesão medular

---

D - Procedimentos após contusão medular

- Transferiu-se o rato para uma câmara com temperatura controlada (25°C).
- Esvaziou-se a bexiga duas vezes ao dia, por compressão vesical manual, seis e 24 horas após a lesão e diariamente quando necessário até o momento da eutanásia.
- Controlou-se a temperatura ambiente, e mantiveram-se as gaiolas forradas para prevenir úlceras de pressão (Wrathall et al., 1985; Rodrigues, 1999).
- Verificou-se, diariamente, a coloração e o odor da urina e a ocorrência de feridas provocadas por autofagia.

E - Antibioticoterapia pós-operatória

A fim de reduzir a taxa de infecção das vias urinárias e da ferida operatória, instituiu-se a dose de 25mg/kg de cefalotina (Keflin Neutro®) subcutânea após o procedimento anestésico. Ministraram-se outras doses por 48h, a segunda, seis horas após, e outras duas doses no dia seguinte.

F - Manutenção dos animais

Mantiveram-se os animais acondicionados em gaiolas plásticas forradas de 60x40cm. Colocaram-se, no máximo, cinco ratos em cada gaiola, sob condições adequadas de higiene, de alimentação e de hidratação. A manutenção dos animais numa mesma gaiola durante todo o experimento possibilitou uma melhor familiarização e a redução da agressividade e das mutilações entre os ratos.

As condições ambientais de temperatura e de umidade mantiveram-se iguais para todos ratos dos grupos com lesão medular leve, moderada e grave.

Realizaram-se, periodicamente, a higienização da gaiola e a troca da maravalha.

G - Avaliação locomotora

A movimentação de cada rato, posicionado numa caixa transparente de vidro de 80x80x30cm, com o fundo e a parede superior forradas com material antiderrapante na cor azul marinho para produzir um alto contraste com a cor branca dos ratos Wistar, no vigésimo oitavo dia após a lesão medular por contusão, foi registrada, simultaneamente, por três câmeras

---

filmadoras digitais externas (Fig. 2). Após a edição, cópias idênticas dos filmes resultantes foram encaminhadas a cada um dos seis pesquisadores independentes, sem a informação da gravidade da lesão correspondente a cada rato, para a determinação da capacidade locomotora pela escala funcional de Basso, Beattie e Bresnahan (Basso et al., 1995), ou escala BBB.

A avaliação funcional pela escala BBB (Anexo 2) considera os movimentos da articulação do quadril, do joelho, do tornozelo, e a posição do tronco, do rabo e das patas traseiras. Cada pesquisador atribui pontos de zero a 21, sendo o zero correspondente à ausência total de movimentos e o 21, à presença de movimentos normais:

- Atribui-se uma pontuação seqüencial e acumulativa de acordo com a observação de um movimento definido pela escala BBB e com a freqüência de sua ocorrência: nenhuma (0-5%), ocasional (<50%), freqüente (51%-94%) e consistente (95-100%).
- As filmagens editadas foram enviadas a seis pesquisadores independentes (P1, P2, P3, P4, P5 e P6), previamente treinados, todos profissionais da área da saúde, que avaliaram a movimentação dos ratos através das imagens coletadas, sem o conhecimento prévio do grupo ao qual pertenciam.

FIGURA 3   Caixa confeccionada em vidro transparente (80x80x30cm) com fundo e a parede superior forradas com materiais em cor azul marinho para proporcionar alto contraste com a cor branca dos ratos. Em detalhe, o posicionamento das três câmeras digitais para a filmagem simultânea da motricidade dos ratos no 28º dia pós-operatório

---

Os examinadores observaram a filmagem do 28º dia pós-operatório dos animais e registraram os aspectos da motricidade em formulário de pontuação (Anexo 1) que contém 10 atributos de padrões de recuperação da função locomotora: 1) movimentação dos membros inferiores; 2) posição do tronco; 3) posição do abdome; 4) acomodação das patas; 5) marcha; 6) coordenação; 7) capacidade de limpar as patas; 8) posição predominante das patas traseiras; 9) instabilidade do tronco; 10) posição do rabo.

Foram analisadas as alterações presentes nos três grupos de contusão, no 28º dia após a lesão, nos grupos com lesão medular leve, moderada e grave. O momento da avaliação, 28º dia após a lesão, foi estabelecido por ser o período de maior variação absoluta e de elevada variação relativa nos resultados da avaliação da recuperação funcional da capacidade locomotora de ratos avaliados pela escala BBB, a partir dos dados dos ratos Wistar submetidos a procedimento experimental equivalente no LETRAN, com avaliações nos 2º, 9º, 16º, 23º. e 30º dias, apresentados por Galvão, 2003.

Os dados da ficha de pontuação foram interpretados pelos examinadores, que observaram o movimento do lado esquerdo e direito do animal e quantificaram a recuperação da função locomotora atribuindo uma nota entre zero e 21, baseados na escala de avaliação locomotora de BBB (Anexo 2).

Para a filmagem e a avaliação, estabeleceu-se a seguinte seqüência de procedimentos:

Os grupos foram identificados por cores conforme a intensidade da lesão:

Grupo	Altura da haste
Ratos azuis	lesão medular leve - 12,5 mm
Ratos verdes	lesão medular moderada - 25 mm
Ratos pretos	lesão medular grave - 50 mm

Os ratos foram identificados por marcas coloridas, de acordo com o grupo de origem (gravidade da lesão), e numerados de 1 a 10. Os ratos de reposição de 11 a 20. A codificação não foi informada aos pesquisadores.

H- Eutanásia

Os animais foram submetidos à eutanásia no 29º dia após a lesão, injetando-se uma dose tóxica para o animal de 140 mg/kg de pentobarbital intraperitoneal de acordo com as regras e regulamentações da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – CAPPesq do HC-FMUSP.

Animais excluídos

Durante o período de experimentação, diversos ratos foram excluídos, e novos incluídos em substituição, respeitando-se os critérios de inclusão e exclusão.

A reposição dos animais excluídos foi realizada em dois períodos. Na segunda reposição decidiu-se, por segurança, aumentar o número de animais previstos para cada grupo, incluindo-se ratos extras para compensar as perdas estimadas no período de seguimento do estudo.

Um rato do grupo leve foi excluído por apresentar motricidade normal após a lesão. Outros 29 ratos foram substituídos por óbitos após a anestesia, após a lesão, por autofagia, por infecção urinária, totalizando sete óbitos do grupo leve, nove no moderado e treze no severo.

Os animais de reposição foram submetidos aos mesmos procedimentos.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise da sensibilidade e da reprodutibilidade, verificou-se a consistência dos resultados comparativos entre os lados direito e esquerdo dos ratos e entre os resultados agrupados dos ratos submetidos a lesões leves, moderadas e graves obtidos pelos diferentes pesquisadores.

Verificou-se a homogeneidade dos resultados para a inferência sobre as diferenças das médias (confiabilidade) e dos níveis de concordância (correlação) entre os pesquisadores.

Realizou-se a estatística descritiva das medidas ordinais da capacidade locomotora pela escala BBB segundo o lado do rato: direito ou esquerdo; segundo a intensidade da lesão medular: leve, moderada e grave; e segundo o pesquisador: mediana (MED), média (M), desvio-padrão (DP) e erro padrão da média (EPM).

A estatística descritiva da capacidade locomotora pela escala BBB foi apresentada em tabelas estatísticas (Tabelas de 1 a 8) e representada na forma de gráficos de coluna (média $\pm$ erro padrão da média; gráficos de 1 a 6).

A normalidade das distribuições foi testada pela prova de Kolmogorov-Smirnov para variáveis contínuas e pelo Coeficiente de Variação de Pearson (inferior a 30%). Não se constataram distribuições normais. Adotaram-se testes não paramétricos.

Nas tabelas de 1 a 3 e nos gráficos de 1 a 3, compararam-se os resultados da capacidade locomotora avaliada pela escala BBB entre os lados direito e esquerdo dos ratos submetidos a lesões leves, moderadas e graves, segundo os pesquisadores.

Nas avaliações pela escala BBB da capacidade locomotora de acordo com a intensidade da lesão medular, leve (Tabela 1), moderada (Tabela 2) e grave (Tabela 3), e com os pesquisadores, utilizou-se a prova de Wilcoxon para amostras relativas (pareadas) não paramétricas para a inferência sobre a diferença das médias entre os lados direito (D) e esquerdo (E) de cada rato e o coeficiente de correlação ρ (rho) de Spearman (unilateral) para a verificação da efetividade do pareamento.

Constataram-se diferenças na capacidade locomotora entre os lados direito e esquerdo nos ratos submetidos à contusão leve (Tabela 1), e a falta de pareamento efetivo das medidas dos ratos submetidos à contusão moderada (Tabela 2) e grave (Tabela 3).

Demonstrou-se que há diferença entre a capacidade locomotora de cada lado dos ratos e que as avaliações são independentes.

Nas tabelas de 4 a 6 e nos gráficos de 4 a 6, agruparam-se os resultados dos lados direito e esquerdo e compararam-se os resultados entre os diferentes pesquisadores (inter-rater).

Nas tabelas de 4 a 8, agruparam-se os resultados da capacidade locomotora dos lados direito e esquerdo e o tamanho amostral passou a referir o número de avaliações independentes de cada pesquisador.

Para a inferência sobre as diferenças das médias entre os diferentes pesquisadores, utilizou-se a prova de Friedman para amostras não paramétricas relacionadas (Tabelas 4 a 6) e, caso significativo, as diferenças, aos pares, foram discriminadas pelo teste de comparações múltiplas modificado por Dunn (Tabelas 5 e 6). Nos casos em que o teste de Dunn não apresentou o poder estatístico (poder-eficiência) suficiente para discriminar as diferenças, admitiu-se, no mínimo, a diferença entre os pesquisadores que apresentaram a maior diferença na soma dos postos ("rank").

Na tabela 7, apresentaram-se os resultados dos coeficientes de correlação ρ (rho) de Spearman e as estatísticas descritivas da capacidade locomotora dos ratos submetidos a lesões medulares de intensidade leve,

---

moderada e grave para cada pesquisador. Para a comparação das capacidades locomotoras avaliadas pela escala BBB entre as intensidades da lesão medular, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para amostras não paramétricas independentes; e, caso significativo, as diferenças aos pares foram discriminadas pelo teste de comparações múltiplas modificado por Dunn (Tabelas 5 e 6).

Os resultados dos coeficientes de correlação ρ (rho) de Spearman para inferência sobre a concordância entre as medidas da capacidade locomotora pela escala BBB interpesquisadores, aos pares, segundo a intensidade da lesão medular nos ratos, foram apresentados em tabela resumo (Tabela 8).

Adotaram-se as seguintes faixas para a classificação do nível de reprodutibilidade ou de concordância:

QUALIDADE	CONCORDÂNCIA	ρ (rho)
Satisfatória ou adequada	Excelente	= 1,00
	Boa	$\geq 0,80$
	Moderada	$\geq 0,60$
Insatisfatória ou inadequada	Razoável	$\geq 0,40$
	Pobre	$\geq 0,20$

Utilizou-se o arredondamento científico. Nas tabelas, os valores das estatísticas descritivas foram apresentados com uma casa após a vírgula, os

---

resultados dos testes e a probabilidade (p) com até duas casas após a vírgula ou até o primeiro número significativo.

As diferenças comprovadas estatisticamente foram evidenciadas por asteriscos (*) nas tabelas.

Adotou-se o nível de confiança de 5% ($\alpha = 0,05$).

Adotaram-se testes bilaterais ou bicaudais ($H_0 = \mu_1 - \mu_2 = 0$).

Utilizaram-se os programas estatísticos StatSoft, Inc.® (2001) Statistica (data analysis software system), versão 6.0 e GraphPad Software, Inc.® (1996) Graphpad Prism, versão 2.01.

---

5. RESULTADOS

Alessandra Iague Sleiman Molina

TABELA 1 ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CAPACIDADE LOCOMOTORA DOS RATOS SUBMETIDOS À CONTUSÃO MEDULAR LEVE MEDIDA PELA ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL SEGUNDO O PESQUISADOR. COMPARAÇÃO ENTRE AS AVALIAÇÕES DOS LADOS DIREITO E ESQUERDO PELA PROVA DE WILCOXON ($\alpha= 0,05$)

LESÃO MEDULAR LEVE	ESCALA BBB – PESQUISADOR											
	P1		P2		P3		P4		P5		P6	
	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E
1	7	0	9	0	8	0	12	0	9	0	8	0
2	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0
3	1											
4	3	13	18	19	19	19	19	19	18	19	18	19
5	8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	1											
7	1	11	18	18	18	7	19	19	18	18	18	18
8	1											
9	0	10	19	13	19	14	17	10	19	14	19	14
10	1											
11	1	1	18	0	5	0	18	0	18	0	18	0
MED	1											
M	1	9	18	9	16	6	14	9	18	9	18	9
DP	1											
EPM	1	9	18	1	8	0	14	1	18	1	18	1
Wilcoxon	9											
Spearman	9											
(unilateral)	9											
p	9											
p	9											
W	13											
p	0,22											
33												
0,02*												
33												
0,02*												
23												
0,04*												
25												
0,07												
25												
0,08												
0,67												
0,01*												
0,60												
0,02*												
0,66												
0,01*												
0,63												
0,02*												
0,58												
0,03*												
0,58												
0,03*												

GRÁFICO 1

Capacidade locomotora dos ratos submetidos à contusão medular leve medida pela escala BBB de avaliação funcional segundo o pesquisador

TABELA 2 ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CAPACIDADE LOCOMOTORA DOS RATOS SUBMETIDOS À CONTUSÃO MEDULAR MODERADA MEDIDA PELA ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL SEGUNDO O PESQUISADOR. COMPARAÇÃO ENTRE AS AVALIAÇÕES DOS LADOS DIREITO E ESQUERDO PELA PROVA DE WILCOXON ($\alpha= 0,05$)

LESÃO MEDULAR MODERADA	ESCALA BBB – PESQUISADOR											
	P1		P2		P3		P4		P5		P6	
	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E
1	8	2	1	1	0	3	1	1	1	1	1	4
2	0	8	1	4	0	1	0	4	0	4	0	4
3	9	6	1	0	5	1	8	1	8	1	8	1
4	8	0	9	1	6	0	8	1	8	0	8	1
5	0	8	1	9	0	5	1	8	1	8	1	8
6	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0
7	6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1
8	9	7	9	9	6	1	9	9	9	9	9	9
9	13	13	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
MED	8	6	1	1	1	1	1	1	1	1	2	4
M	5,9	5,0	4,8	5,0	4,1	3,4	5,3	4,9	5,3	4,8	5,4	5,2
DP	4,8	4,5	6,4	6,3	6,2	6,0	6,3	6,2	6,3	6,3	6,2	6,1
EPM	1,6	1,5	2,1	2,1	2,1	2,0	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,0
Wilcoxon												
	W	4		1		6		3		4		2
	p	0,81		0,88		0,56		0,81		0,62		0,94
Spearman (unilateral)												
	ρ	0,24		0,54		0,05		0,44		0,35		0,35
	p	0,27		0,06		0,44		0,12		0,18		0,18

GRÁFICO 2 Capacidade locomotora dos ratos submetidos à contusão medular moderada medida pela escala BBB de avaliação funcional segundo o pesquisador

TABELA 3 ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CAPACIDADE LOCOMOTORA DOS RATOS SUBMETIDOS À CONTUSÃO MEDULAR GRAVE MEDIDA PELA ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL SEGUNDO O PESQUISADOR. COMPARAÇÃO ENTRE AS AVALIAÇÕES DOS LADOS DIREITO E ESQUERDO PELA PROVA DE WILCOXON ($\alpha= 0,05$)

LESÃO MEDULAR GRAVE	ESCALA BBB - PESQUISADOR											
	P1		P2		P3		P4		P5		P6	
	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E
1	3	8	1	9	1	4	1	6	1	5	1	6
2	2	2	2	1	1	0	1	3	2	1	4	1
3	3	2	9	1	1	1	3	1	2	2	3	1
4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
5	2	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	5	5	4	9	2	1	1	1	2	4	1	1
8	1	0	9	0	1	0	4	0	4	0	4	0
9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0
MED	1,5		1,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1
M	20,8		3,0	2,4	0,9	0,9	1,3	1,3	1,4	1,4	1,6	1,1
DP	2,6		3,4	3,5	0,6	1,2	1,9	1,2	1,2	1,8	1,5	1,8
EPM	0,5	0,81	1,1	1,1	0,2	0,4	0,6	0,39	0,4	0,6	0,5	0,6
Wilcoxon	W	2	8		2		0		0		5	
	p	0,88	0,64		0,88		1,00		1,00		0,62	
Spearman (unilateral)	p	0,91	0,17		0,55		0,20		0,32		0,27	
	p	0,0001*	0,32		0,05		0,28		0,18		0,22	

GRÁFICO 3 Capacidade locomotora dos ratos submetidos à contusão medular grave medida pela escala BBB de avaliação funcional segundo o pesquisador

TABELA 4

ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CAPACIDADE LOCOMOTORA DOS RATOS SUBMETIDOS À CONTUSÃO MEDULAR LEVE MEDIDA PELA ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL SEGUNDO O PESQUISADOR. COMPARAÇÃO INTERPESQUISADOR PELA PROVA DE FRIEDMAN ($\alpha=0,05$)

ESCALA BBB - PESQUISADOR						
LESÃO MEDULAR LEVE	P1	P2	P3	P4	P5	P6
1	7	9	8	12	9	8
2	1	1	0	1	1	1
3	13	18	19	19	18	18
4	8	1	1	1	1	1
5	11	18	18	19	18	18
6	10	19	19	17	19	19
7	11	18	5	18	18	18
8	11	18	16	14	18	18
9	11	18	8	14	18	18
10	9	0	4	0	0	0
11	1	6	1	1	1	1
12	0	0	0	0	0	0
13	1	0	0	0	0	0
14	13	19	19	19	19	19
15	1	1	1	1	1	1
16	11	18	7	19	18	18
17	10	13	14	10	14	14
18	1	0	0	0	0	0
19	9	9	6	9	9	9
20	9	1	0	1	1	1
21	9	0	1	0	0	0
22	8	2	4	6	8	8
MED	9	7,5	4,5	7,5	8,5	8
M	7,5	8,6	6,9	8,2	8,7	8,6
DP	4,4	8,2	7,2	7,9	8,3	8,3
EPM	1,0	1,8	1,5	1,7	1,8	1,8

Friedman

5,15

p=0,40

GRÁFICO 4 Capacidade locomotora dos ratos submetidos à contusão medular leve medida pela escala BBB de avaliação funcional segundo o pesquisador

TABELA 5 ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CAPACIDADE LOCOMOTORA DOS RATOS SUBMETIDOS À CONTUSÃO MEDULAR MODERADA MEDIDA PELA ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL SEGUNDO O PESQUISADOR. COMPARAÇÃO INTERPESQUISADOR PELA PROVA DE FRIEDMAN E DISCRIMINAÇÃO PELO TESTE DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS MODIFICADO POR DUNN ($\alpha=0,05$)

LESÃO MEDULAR MODERADA	ESCALA BBB - PESQUISADOR					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
1	8	1	0	1	1	1
2	0	1	0	0	0	0
3	9	1	5	8	8	8
4	8	9	6	8	8	8
5	0	1	0	1	1	1
6	0	1	0	1	1	1
7	6	1	1	1	1	2
8	9	9	6	9	9	9
9	13	19	19	19	19	19
10	2	1	3	1	1	4
11	8	4	1	4	4	4
12	6	0	1	1	1	1
13	0	1	0	1	0	1
14	8	9	5	8	8	8
15	0	1	0	0	0	0
16	1	1	1	1	1	1
17	7	9	1	9	9	9
18	13	19	19	19	19	19
MED	6,5	1	1	1	1	3
M	5,4	4,8	3,7	5,1	5,0	5,3
DP	4,5	6,1	5,9	6,1	6,1	5,9
EPM	1,0	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Friedman	16,38					$p=0,006^*$
Dunn	Não discriminou, admitiu-se: $P6 > P2$					

GRÁFICO 5 Capacidade locomotora dos ratos submetidos à contusão medular moderada medida pela escala BBB de avaliação funcional segundo o pesquisador

TABELA 6 ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CAPACIDADE LOCOMOTORA DOS RATOS SUBMETIDOS À CONTUSÃO MEDULAR GRAVE MEDIDA PELA ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL SEGUNDO O PESQUISADOR. COMPARAÇÃO INTERPESQUISADOR PELA PROVA DE FRIEDMAN E DISCRIMINAÇÃO PELO TESTE DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS MODIFICADO POR DUNN ($\alpha= 0,05$)

LESÃO MEDULAR GRAVE	ESCALA BBB - PESQUISADOR					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
1	3	1	1	1	1	1
2	2	2	1	1	2	4
3	3	9	1	3	2	3
4	0	0	0	0	0	0
5	2	3	1	1	1	1
6	0	0	0	0	0	0
7	5	4	2	1	2	1
8	1	9	1	4	4	4
9	1	1	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	1
11	8	9	4	6	5	6
12	2	1	0	3	1	1
13	2	1	1	1	2	1
14	0	1	0	0	0	0
15	2	2	1	1	1	1
16	0	0	0	0	0	0
17	5	9	1	1	4	1
18	0	0	0	0	0	0
19	1	1	1	1	1	1
20	0	0	1	0	0	0
MED	1,5	1	1	1	1	1
M	1,9	2,7	0,9	1,3	1,4	1,4
DP	2,1	3,4	0,9	1,5	1,5	1,6
EPM	0,5	0,8	0,2	0,3	0,3	0,4

Friedman

21,63

$p \leq 0,0006^*$

Dunn

Não discriminou, admitiu-se: $P2 > P3$

GRÁFICO 6 Capacidade locomotora dos ratos submetidos à contusão medular grave medida pela escala BBB de avaliação funcional segundo o pesquisador

TABELA 7 ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CAPACIDADE LOCOMOTORA DOS RATOS SUBMETIDOS À CONTUSÃO MEDULAR MEDIDA PELA ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL SEGUNDO O PESQUISADOR. COMPARAÇÃO DAS AVALIAÇÕES SEGUNDO O NÍVEL DE CONTUSÃO MEDULAR; LEVE, MODERADA E GRAVE DE CADA PESQUISADOR, PELO TESTE KRUSKAL-WALLIS ($\alpha=0,05$)

INTENSIDADE DA LESÃO MEDULAR	ESCALA BBB - PESQUISADOR					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
LEVE						
MED	9	7,5	4,5	7,5	8,5	8
M	7,5	8,6	6,9	8,2	8,7	8,6
DP	4,4	8,2	7,2	7,9	8,3	8,3
EPM	0,94	1,8	1,5	1,7	1,8	1,8
N	22	22	22	22	22	22
MODERADA						
MED	6,5	1	1	1	1	3
M	5,4	4,8	3,7	5,1	5,0	5,3
DP	4,5	6,1	5,9	6,1	6,1	5,9
EPM	1,0	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
N	18	18	18	18	18	18
GRAVE						
MED	1,5	1	1	1	1	1
M	1,9	2,7	0,9	1,3	1,4	1,4
DP	2,1	3,4	0,91	1,5	1,5	1,6
EPM	0,46	0,75	0,20	0,34	0,32	0,36
N	20	20	20	20	20	20
Kruskal-Wallis						
H	14,31	3,47	7,11	7,19	5,28	7,93
p	0,0008*	0,18	0,03*	0,03*	0,07	0,02*
Dunn: Leve > Severo						
	L > G		L > G	L > G		L > G

TABELA 8 COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO POR POSTOS DE SPEARMAN (RHO) DA CAPACIDADE FUNCIONAL LOCOMOTORA PELA ESCALA BBB INTERPESQUISADOR (AOS PARES) SEGUNDO A INTENSIDADE DA LESÃO MEDULAR

ESCALA BBB		COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE SPEARMAN		
		rho (ρ)	t(n-2)	p
LEVE (N= 22)				
P1	P2	0,80	5,98	< 0,00*
P1	P3	0,82	6,44	< 0,00*
P1	P4	0,82	6,51	< 0,00*
P1	P5	0,82	6,38	< 0,00*
P1	P6	0,81	6,30	< 0,00*
P2	P3	0,87	8,21	< 0,00*
P2	P4	0,96	15,04	< 0,00*
P2	P5	0,99	39,12	< 0,00*
P2	P6	0,99	35,27	< 0,00*
P3	P4	0,86	7,38	< 0,00*
P3	P6	0,87	8,07	< 0,00*
P3	P5	0,88	8,24	< 0,00*
P4	P6	0,96	15,74	< 0,00*
P5	P6	1,00	106,20	< 0,00*
MODERADA (N= 18)				
P1	P2	0,69	3,83	0,001*
P1	P3	0,84	6,30	< 0,00*
P1	P4	0,86	6,82	< 0,00*
P1	P5	0,88	7,43	< 0,00*
P1	P6	0,86	6,59	< 0,00*
P2	P3	0,70	3,99	0,001*
P2	P4	0,84	6,33	< 0,00*
P2	P5	0,83	5,89	< 0,00*
P2	P6	0,83	5,94	< 0,00*
P3	P4	0,84	6,12	< 0,00*
P3	P5	0,85	6,53	< 0,00*
P3	P6	0,89	7,76	< 0,00*
P4	P6	0,97	15,62	< 0,00*
P5	P6	0,96	13,00	< 0,00*
GRAVE (N= 20)				
P1	P2	0,81	5,87	< 0,00*
P1	P3	0,74	4,62	< 0,00*
P1	P4	0,76	4,94	< 0,00*
P1	P5	0,84	6,59	< 0,00*
P1	P6	0,76	4,95	< 0,00*
P2	P3	0,70	4,17	< 0,00*
P2	P4	0,81	5,83	< 0,00*
P2	P5	0,89	8,44	< 0,00*
P2	P6	0,84	6,73	< 0,00*
P3	P4	0,62	3,33	0,004*
P3	P5	0,76	4,98	< 0,00*
P3	P6	0,72	4,39	< 0,00*
P4	P6	0,92	10,27	< 0,00*
P5	P6	0,91	9,26	< 0,00*

6. DISCUSSÃO

Desde a realização dos primeiros estudos experimentais em animais para avaliar a recuperação funcional após a lesão medular (Schmaus, 1890; Kirchgasser, 1897), tenta-se desenvolver modelos experimentais para a produção de lesões controladas, reprodutíveis e métodos precisos e eficientes para a avaliação da recuperação funcional em animais.

Allen (1911 e 1914) estabelece os primeiros modelos experimentais de contusão medular direta por queda de peso em cães. Mostra um método simples que ainda é utilizado atualmente, mas com modificações que dependem, no entanto, da realização de uma cirurgia de laminectomia para expor a medula. A laminectomia torna-se um problema nos procedimentos experimentais pela elevada morbidade, pelo risco de infecção, pela necessidade de antibioticoterapia pós-operatória e pelo aumento do risco de mutilações entre os ratos.

Ferraro (1927) produz um traumatismo na região dorsal de coelhos através de um golpe com uma barra metálica. Groat et al. (1945) atinge gatos na coluna por uma tábua. Kajiwara (1961) prende cilindros em coelhos e os joga de diversas alturas. Outros pesquisadores realizam contusões por esmagamento direto através da compressão digital (McVeight, 1923) e/ou por instrumentos manuais (Thompson, 1923). Tarlov et al. (1953) e Tarlov e Klinger (1954) aplicam uma compressão à medula através de balões expansíveis por incisões longitudinais da medula.

Mesmo com vários métodos de contusão, são apenas reproduzidas lesões completas que não possibilitam o controle da intensidade e, em alguns casos, nem mesmo do nível da lesão. Produzem-se contusões grosseiras e não reprodutíveis.

Há muito tempo, diversos pesquisadores procuram desenvolver métodos minimamente invasivos através da injeção de parafina no espaço extradural (Ayer, 1919) ou de cera óssea ao redor da medula (Craig, 1932) para eliminar a necessidade da realização de laminectomias para a exposição da medula.

Diferentes modelos animais são utilizados até aproximadamente a década de 80 do século XX. Predomina a utilização de animais de médio porte como coelhos (Schmaus, 1890; Kirchgasser, 1897; Ferraro, 1927; Kajiwarra, 1961; Fairholm e Turnbull, 1971); **gatos** (Ayer, 1919; Groat et al., 1945; Means et al, 1981); **cães** (Allen, 1911; Thompson, 1923; McVeigh, 1923; Amako, 1936; Tarlov et al., 1953; Tarlov e Klinger, 1954; Woodward e Freeman, 1956; Ducker e Hamit, 1969; De La Torre e Boggan, 1980; Koozekanani et al. 1976); **ovelhas** (Yeo et al 1975; Yeo et al., 1977) e até mesmo macacos (Albin, 1968; Ducker e Kindt, 1971).

A maioria dessas pesquisas procura determinar a fisiopatologia da lesão medular, principalmente dos efeitos da isquemia, e as alterações anatomopatológicas da medula, porém, a falta de padronização dos

---

---

mecanismos de contusão e a utilização de diferentes tipos de animais, raças, tamanhos e idades, prejudicam as avaliações da recuperação funcional e dificultam as comparações de resultados entre os pesquisadores.

Procura-se estabelecer modelos de contusão medular direta por queda de peso após laminectomia (Eidelberg et al., 1976; Dorhmann e Panjabi, 1976; Balentine, 1978; Bohlman et al., 1981; Khan e Griebel, 1983; Wrathal et al., 1985; Panjabi e Wrathall, 1988; Behrmann et al., 1992) e de avaliação da função locomotora (Rivlin e Tator, 1977) em ratos, produzindo lesões que devam simular um traumatismo na medula espinal, como o que ocorre em humanos, sendo quantificável e reproduzível.

O desenvolvimento de pesquisas com reprodutibilidade, precisão e baixo custo leva a aceitação e difusão dos modelos experimentais, porém os modelos experimentais atuais ainda apresentam problemas na produção de lesões medulares controladas e reproduzíveis. Novos modelos são continuamente propostos e testados (Fairholn e Turnbull 1971; Yeo et al., 1975). Anderson (1982) produz a contusão medular por um acionador pneumático. Iizuka et al., (1986) apresentam os resultados obtidos por compressão medular através de um pinçamento ("clip" vascular). Rivlin e Tator (1978) avaliam o efeito da compressão vascular na medula. Fujita e Yamamoto (1989) descrevem um mecanismo de lesão medular por tração gradual da medula lombossacra em cães. Oliveira (2005) realiza uma

---

---

redução de 30% do perímetro do canal medular através de uma fita envolvente.

Vários estudos experimentais são desenvolvidos para o aprimoramento de técnicas terapêuticas principalmente, para o teste de novos medicamentos (Harvey e Srebnik 1967; Means et al., 1981; Constantine e Young, 1994).

Em 1994, Constatini e Young utilizam o NYU Impactor, equipamento computadorizado para a produção de contusão medular através de impacto por queda de peso, que libera uma haste com 10g de peso de alturas pré-determinadas de 12,5, 25 e 50mm de altura. Basso et al. (1996b) utilizam o sistema de contusão desenvolvido pela Universidade Estadual de Ohio (Ohio State University System).

Em 1995, Basso et al. apresentam uma escala para a avaliação da recuperação funcional da capacidade locomotora em ratos após contusão medular. Afirmam que a escala é uma medida preditiva baseada em critérios observacionais específicos da movimentação do animal em campo aberto e que atribui uma pontuação seqüencial e acumulativa correspondente aos critérios (qualidades ou funções motoras) pré-estabelecidos satisfeitos. Esta escala utiliza critérios mais claros e operacionalizáveis que a escala de Tarlov e Klinger (1954).

Devido às variações não controláveis das lesões medulares produzidas nos ratos de experimentação conforme as características individuais dos animais, as variações nos procedimentos ou nos períodos de reabilitação; dificulta-se muito a detecção da melhora ao longo de um período de reabilitação após a lesão medular, a comprovação de diferenças entre grupos e a comparação de resultados interlaboratoriais.

O desenvolvimento de técnicas de contusão medular mais precisas e reprodutíveis ainda é uma necessidade.

Haghighi et al. (1996) desenvolvem um método de lesão medular não invasivo e controlável através do uso da radiofrequência; porém, o mesmo necessita de um equipamento caro e pouco difundido.

A comprovação da recuperação funcional significativa decorrente do melhor conhecimento da fisiopatologia da lesão medular e dos fatores de regulação (anabólicos e catabólicos), da engenharia de tecidos e das terapias celulares (Cristante et al. 2002) potencializadas pelo uso de fatores de crescimento tecidual, de meios físicos, de fármacos (Harvey; Srebnik 1967), de retroalimentação por eletromiografia (De Biase 2005) e conduzidos por biomateriais “inteligentes” ou biomiméticos torna imprescindível o melhor conhecimento dos métodos experimentais atuais e o desenvolvimento de novos modelos mais eficazes. Enquanto não se dispõem de métodos de avaliação direta, objetiva, precisa e eficaz, otimiz-

---

---

se os métodos disponíveis. A escala BBB é o método de avaliação da recuperação funcional mais utilizado pela sua simplicidade, sua facilidade de aplicação e sua praticidade (Molina; Barros Filho 2004).

Bresnahan et al. (1987) afirmam que tem sido um grande problema conseguir resultados padronizados na pesquisa do traumatismo raquimedular em animais de pequeno porte e que, para se observar a eficácia terapêutica de certos tratamentos, há a necessidade de estudos com um grande número de animais. Porém, trabalhos de grande porte acarretam altos custos e geram pressões das sociedades protetoras dos animais (Kuhn e Wrathall, 1998).

Basso et al., 1996^a e Basso et al., 1996b mostram que a experiência dos pesquisadores interfere nas avaliações e apresenta uma escala ordinal quantitativa ou semi-quantitativa, de aplicação, sensibilidade e reprodutibilidade superiores à da escala de Tarlov e Klinger (1954) porém, apresenta descontinuidades importantes e características diferentes ao longo da escala e controvérsias quanto a melhor metodologia estatística a ser utilizada (Scheff et al 2002). As pontuações obtidas na faixa superior ou inferior da escala apresentam características distintas e não possibilitam comparações precisas (Metz et al., 2000; Sheff et al., 2002; Ferguson et al., 2004).

O comportamento das medidas obtidas pela escala BBB, a determinação de sua sensibilidade e de sua reprodutibilidade são importantes para a escolha das estratégias e para o planejamento adequado das pesquisas.

Como não existe um “padrão ouro” de avaliação direta ou indireta para a determinação da eficácia das escalas na avaliação da recuperação funcional da capacidade locomotora em ratos após lesão medular, métodos de avaliação do comportamento sensorial e motor foram desenvolvidos (Webb; Muir 2005).

Uma abordagem racional e sistematizada do tratamento das lesões medulares em seres humanos necessita de um modelo experimental padronizado, reprodutível e eficientemente quantificável.

Um aspecto crítico da pesquisa que utiliza modelos experimentais de lesão medular em animais é a padronização da avaliação da recuperação locomotora.

Um dos empecilhos para o estabelecimento de uma lesão medular padronizada é a variedade de parâmetros a serem analisados em animais e a ausência de um modelo aceito universalmente; De La Torre e Boggan, (1980) observam que a medula espinal do rato possui vascularização arterial

---

---

semelhante ao do ser humano e utiliza a técnica do impacto afirmando que o rato é uma espécie válida para o estudo experimental.

Rodrigues (1999) escolhe os ratos Wistar, como modelo experimental, pela facilidade de padronização, uniformização da amostragem, disponibilidade em laboratórios brasileiros como o Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e pela necessidade de padronização pelo Laboratório de Estudos Raquimedulares e de Nervos - LETRAN do IOT-HC FMUSP. Demonstra a padronização da lesão medular de acordo com os parâmetros determinados pelo Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study – MASCIS.

A utilização de ratos da linhagem Wistar como modelo animal para lesão medular está de acordo com a padronização estabelecida pelo MASCIS e adotada pelo LETRAN e comprovado por Rodrigues (1999) mesmo havendo pesquisas como a de Vialle et al., (1999) que realiza estudo semelhante em ratos Long-Evans.

A laminectomia ao nível torácico pode ser criticável, visto que a maioria das lesões em humanos ocorre em região cervical (Fine et al., 1986); porém, ao se saber que aproximadamente metade dos indivíduos que sofrem um traumatismo medular apresentam lesão completa sem preservação da função sensitiva ou motora abaixo do nível da lesão, escolheu-se a realização da laminectomia e da contusão no nível de T1X-TX

---

para obtenção de ratos paraplégicos com capacidade locomotora suficiente para garantir sua alimentação e sua hidratação e para produzir maior variação da capacidade funcional residual. Seguiram-se as orientações e cuidados prescritos por Rodrigues (1999) e Galvão (2003).

Observou-se um alto índice de mortalidade dos ratos após a lesão medular, principalmente nos animais submetidos à lesão grave (50mm) por parada respiratória e, também, por autofagia.

Trabalhos experimentais como os de Panjabi e Wrathall (1988) e de Constantini e Young (1994) comprovam a eficiência do pentobarbital utilizado como anestésico não alterando os sinais vitais, garantindo assim sua utilização e não sendo esta uma das causas principais de morbidade.

Wrathall et al. (1985) relatam a mortalidade de 14 em 79 ratos (17%), sendo 21,4% por complicações anestésicas e 71,4% por alterações do trato urinário. Para evitar este fato, institui-se a dose de 25 mg/Kg de cefalotina (Keflin Neutro) subcutâneo.

Constatou-se que dos 60 ratos utilizados, um foi excluído por não apresentar alteração locomotora, um morreu devido a complicações após a anestesia, sete por infecção, nove por autofagia e onze por outras causas não identificadas, com morte logo após a lesão.

A resposta da elevação da pressão após a lesão da medula espinal é descrita e denominada como "reflexo de Cushing". Ocorre uma fase hipertensiva após a lesão e, logo após, uma fase hipotensiva relacionada à ausência de tônus vascular simpático (Rawe et al., 1978), podendo ser esta uma das causas de morte logo após a lesão.

O estudo de Basso et al. (1995) mostram que, pelo método de BBB, os animais que sofrem lesão medular grave pelo NYU- Impactor apresentam grande recuperação após o décimo quarto dia após contusão medular como já observado por Tator (1998) que afirma que a presença de apenas 10% dos aproximadamente 400.000 axônios da medula do rato no nível TvIII à T1, permitem uma boa recuperação funcional (Tator, 1998) porém demonstram que estes animais dificilmente ultrapassam escore 6 da escala BBB, impossibilitando assim a correta verificação de escores acima de 6.

Galvão (2003) apresenta uma estatística descritiva da capacidade locomotora dos ratos do grupo controle, conforme o período pós-operatório. Mostra que o maior desvio padrão está entre o 2º. (2,8), o 23º.(2,3) e o 30º. dia após a lesão (3,2), e que a variação entre a máxima e a mínima nota está no 2º., 23º. e 30º. dia após a lesão apresentando variação 7 para o 2º. PO, variação 7 para o 23º. e variação 9 para 30º. PO.

Tebet (2002) verifica uma melhora em todos os ratos entre o segundo e o sétimo dia após a lesão, obtendo escores entre 1 e 8 na escala BBB.

Baseando-se nos estudos apresentados por Basso (1995), Galvão (2003) e Tebet (2002) foi feita a escolha do 28º dia do pós-operatório para avaliar os ratos pela escala BBB, justamente por ser o período de maior variação entre a máxima e a mínima nota (9 pontos) e por ser o período em que se alcança escores acima de 6 nos ratos com lesões leves e moderadas, o que possibilita a análise da escala BBB em praticamente todos os níveis de zero a vinte e um.

Para a análise da escala de Basso, Beattie e Bresnahan (Basso et al., 1995) da avaliação da capacidade funcional locomotora, ou escala BBB, de animais submetidos à contusão medular através do equipamento de queda de massa (10 g) da Universidade de Nova Iorque, denominado NYU – Impactor, procurou-se validar os resultados do estudo, apresentar as propriedades do teste e definir os limites de sua aplicabilidade prática.

A avaliação da escala foi realizada por seis pesquisadores independentes, seguindo o estudo inicial de Basso et al., 1996 no qual os pesquisadores observaram individualmente as imagens registradas das filmagens da movimentação dos animais sem o conhecimento prévio à que grupo pertenciam e atribuíram suas notas.

Durante as análises da escala BBB, cinco dos seis examinadores relataram dificuldades na avaliação do escore 9, critério que determina, "Apoio plantar da pata com suporte de peso somente em fase de apoio (i.e.,

---

---

quando estático) ou passada dorsal ocasional, freqüente ou consistente com suporte de peso e nenhuma passada plantar". *A avaliação deste escore mostrou-se complexa por apresentar importante diferença na recuperação funcional determinada pelo apoio plantar da pata com suporte de peso na fase de apoio, quando comparada com a classificação determinada pela passada dorsal ocasional, freqüente ou consistente com suporte de peso e nenhuma passada plantar. As duas características foram avaliadas em um mesmo escore o que não representou o mesmo nível de recuperação funcional. Sugere-se que, para maior especificidade da escala, este escore seja subdividido aumentando sua sensibilidade. Koopmans et al., 2005 relata problema semelhante de classificação e sugere o uso combinado com o método " Cat- Walk" .*

Salienta-se que as avaliações com a escala BBB devem ser realizadas por dois examinadores treinados, munidos da planilha com a descrição detalhada dos atributos com a duração de 4 minutos. As anotações devem ser imediatas à análise dos animais e as diferenças encontradas entre examinadores devem ser reavaliadas e, se necessário, refeitas (Tebet, 2002).

Na pesquisa de Basso et al., (1995), dois examinadores que participam de todos os testes de campo aberto ficam posicionados transversalmente para observar os dois lados do rato. Os ratos são testados sozinhos por 4 min e ou em pares por 5 min. A experiência indicou que as

---

---

sessões de 4 min permitem um tempo suficiente para observar e registrar a pontuação da motricidade de cada rato com risco mínimo da perda de movimentos ou de detalhes chave. Os ratos foram avaliados individualmente durante os testes para a avaliação da confiabilidade e validação da escala. Durante o teste de campo aberto, os ratos foram estimulados a se locomover continuamente. Caso o animal falhasse ao responder aos estímulos, este era colocado no centro do campo aberto, o que normalmente o forçava a se movimentar para as laterais. Tomou-se cuidado especial para evitar tocar no rabo e/ou na parte traseira dos ratos durante o teste. Este estímulo pareceu afetar o desempenho motor.

Nos testes que avaliaram pares de ratos, os períodos de observação foram, às vezes, estendidos além de 5 min para a obtenção de avaliações mais precisas sobre a liberação dos dedos, o posicionamento das patas ou a coordenação dos membros frontais e traseiros. Em casos de desempenho locomotor limítrofe ou de diferenças entre os examinadores, as avaliações indicando maiores déficits foram anotadas. Todos os movimentos dos membros traseiros foram registrados exceto aqueles que foram identificados, obviamente, como resultado de um reflexo ou estimulados pelo toque de um examinador ou de outro animal. Por exemplo, os reflexos resultantes do estímulo perineal levam o rato a jogar-se para frente com a utilização dos membros frontais.

Verificou-se que a análise dos animais realizada aos pares no tempo de 5 minutos foi satisfatória para a observação do padrão locomotor assim como no estudo de Basso et al. (1995). Os ratos foram estimulados a se locomover por indução auditiva e/ou colocando-os no centro do campo.

Para melhor estimulação da movimentação do animal, sugeriu-se a modificação nas dimensões do campo utilizado. Estruturalmente o campo aberto na proporção retangular de 0,40m (largura) x 1,20m (comprimento) x 0,60m (altura) forçaria o animal a se locomover com maior frequência. Colocando-se os animais aos pares, um em cada ponta do campo retangular e na extremidade a ração para atraí-lo, apenas a mudança da posição da ração, ora para uma extremidade, ora para outra, produziria melhor estímulo.

A reprodutibilidade ou homogeneidade dos resultados foi avaliada pela comparação das médias das medidas entre os avaliadores e pelo nível de concordância (correlação). A concordância é uma medida de acerto entre avaliadores (métodos ou pessoas que realizam medições). As diferenças nas medições entre os avaliadores podem resultar de diferenças nos critérios da análise utilizados devido a erros de método, erros sistemáticos (não randômicos) e a erros aleatórios ou randômicos não controláveis.

A confiabilidade do método é satisfatória quando se comprova elevada homogeneidade de resultados, concordância entre múltiplos avaliadores e erros sistemáticos (erro de método) reduzidos.

A concordância entre os examinadores foi avaliada por testes para inferência sobre a diferença entre as médias das medidas entre os examinadores (interavaliador). As medidas obtidas pela escala BBB não foram consideradas intervalares, nem apresentaram distribuição normal impedindo a utilização dos testes paramétricos e dos testes de correlação convencionais, e foram consideradas ordinais de números inteiros.

A consistência dos resultados dos testes estatísticos utilizados para as comparações de médias das medidas da capacidade funcional locomotora pela escala BBB (interavaliador), entre os lados direito e esquerdo e entre os grupos de ratos submetidos a lesões de intensidade leve, moderada e grave, permitiu avaliar a sua sensibilidade.

Constataram-se diferenças na capacidade locomotora entre os lados direito e esquerdo nos ratos submetidos à contusão leve (Tabela 1) e a falta de pareamento efetivo das medidas dos ratos submetidos a contusão moderada (Tabela 2) e grave (Tabela 3).

Na tabela 1 e gráfico 1 apresentaram-se os resultados dos lados direito e esquerdo dos ratos com lesão medular leve. Nas comparações de

---

---

quatro pesquisadores comprovaram-se diferenças entre os lados e em todos os casos as correlações foram significantes, ou seja, houve pareamento efetivo. Nas comparações dos pesquisadores P5 e P6, a diferença entre os lados poderia comprovar-se com o aumento da amostra.

Demonstrou-se assim, que a capacidade locomotora dos lados direito e esquerdo dos ratos é independente, e nos ratos com lesão leve é diferente. Nos ratos com lesão leve, e portanto, com maior capacidade locomotora, a avaliação pela escala BBB mostrou-se sensível para a diferenciação entre os lados.

Na tabela 2 e gráfico 2 referente aos ratos com lesão moderada, e na tabela 3 e gráfico 3, referente aos com lesão grave, os valores das medidas individuais e das médias da capacidade funcional locomotora pela escala BBB foram inferiores e os desvios proporcionalmente maiores. Não se comprovaram as diferenças nem pareamento efetivo (correlação) entre os lados.

Com a constatação das diferenças entre as medidas da capacidade funcional locomotora entre os lados direito e esquerdo dos ratos com lesão leve, e de que nos ratos com lesão moderada e grave não houve pareamento efetivo (não houve correlação), comprova-se que as medidas de cada lado, direito e esquerdo, são individuais e independentes.

Nas tabelas 4, 5 e 6 por apresentar a capacidade locomotora dos lados direito e esquerdo dos ratos de forma independente, agruparam-se as medidas.

Na tabela 4 e gráfico 4, comprovaram-se as avaliações dos ratos com lesão medular leve entre os avaliadores (interavaliador), não havendo diferenças entre os avaliadores.

Na tabela 5 e gráfico 5, comprovaram-se as avaliações dos ratos com lesão medular grave entre os avaliadores. A prova de Friedman mostrou diferença entre os avaliadores; porém, a prova de comparações múltiplas modificado por Dunn não teve poder - eficiência suficiente para discriminar as diferenças entre os pares de avaliadores. Admitiu-se, no mínimo, a diferença entre aqueles que apresentaram maior diferença na soma dos postos ("rank"), ou seja, que a média das avaliações de P6 foi superior a de P2.

De forma análoga, na tabela 6 e gráfico 6, apresentaram-se as estatísticas descritivas relativas aos ratos com lesão medular grave e concluiu-se que a média das avaliações de P2 foram superiores à de P3.

Nestas comparações (Tabelas 5 e 6), as avaliações de P2 apresentaram os maiores desvios proporcionais em relação aos valores médios e os maiores erros padrões da média.

Na tabela 7, apresentaram-se os resultados das comparações entre as médias das capacidades funcionais pela BBB dos ratos com lesões medulares leve, moderada e grave para cada avaliador.

Quatro, dos seis avaliadores, conseguiram detectar as diferenças (Kruskal-Wallis) e discriminá-las. Os ratos com lesão medular leve apresentaram maior capacidade locomotora do que os com lesão grave.

Na tabela resumo, (Tabela 8), a seguir, apresentaram-se os resultados dos testes de correlação interavaliador e empregou-se o teste de correlação de Spearman (ρ) para dois pesquisadores. Todos os resultados foram, no mínimo, satisfatórios e comprovaram a concordância entre os pesquisadores.

Na tabela 8, observaram-se os resultados elevados do coeficiente rho de Spearman, entre 0,80 a 1.00. Comprovou-se uma reprodutibilidade boa, excelente em alguns casos, quando se avaliam ratos com maior capacidade locomotora, ou seja, quando se realizam os testes estatísticos na faixa de pontuação elevada da escala BBB como ocorre nas lesões leves.

Verificaram-se resultados de coeficientes de correlação de Spearman bons na avaliação dos ratos com lesões moderadas.

Os coeficientes de correlação rho de Spearman obtidos na avaliação dos ratos com lesões graves foram ainda menores, variando entre 0,62 e 0,89, metade abaixo de 0,80, considerados de concordância moderada.

Comprovou-se a redução da reprodutibilidade da escala BBB nas avaliações dos ratos com lesões moderadas e graves, ou seja, na faixa baixa de pontuação da escala BBB.

Confirmaram-se as diferenças de avaliação dos ratos com lesões moderadas e graves e com capacidade locomotora reduzida em relação às avaliações dos ratos com lesões leves e com maior capacidade locomotora.

Observou-se uma reprodutibilidade elevada (boa e excelente) e uma sensibilidade satisfatória da escala BBB para as avaliações dos ratos com lesões leves. A reprodutibilidade foi moderada, apenas satisfatória, e a sensibilidade da escala BBB nas avaliações de ratos com lesões moderadas e graves foi insatisfatória.

O planejamento das pesquisas deve procurar reduzir a viabilidade dos resultados e trabalhar na faixa mais elevada da escala BBB aumentando, sempre que possível, o número de ratos e sua homogeneidade, os cuidados durante a realização da laminectomia e da contusão reduzindo erros de métodos.

De acordo com os critérios adotados, estes resultados são aceitáveis, ainda satisfatórios; porém, em pesquisas mais conservadoras ou que exijam maior precisão e que utilizam critérios mais rígidos, os resultados obtidos pela escala BBB poderiam ser rejeitados.

Nas avaliações dos ratos com lesões leves obtiveram-se os melhores níveis de confiabilidade, de concordância nos teste de correlação (reprodutibilidade) e de maior consistência na diferenciação das médias das avaliações (sensibilidade).

Demonstrou-se que a escala BBB apresenta reprodutibilidade excelente e sensibilidade satisfatória para a avaliação da capacidade locomotora dos ratos com lesão medular leve, mesmo com tamanho de amostras reduzidas.

Nos casos de utilização de ratos com lesões moderadas e/ou com lesões graves, recomenda-se aumentar significativamente o tamanho da amostra, principalmente, para melhorar a sensibilidade. A reprodutibilidade, no entanto, é apenas satisfatória.

A lesão medular representa um sério problema funcional e socioeconômico. São poucas as instituições deste país com equipes multidisciplinares preparadas para dar suporte aos pacientes com lesão medular, e as existentes são insuficientes para atender a demanda e não refletem a realidade da maioria dos centros. Programas de reabilitação com intervenções precoces diminuem as alterações funcionais sistêmicas.

Protocolos de tratamentos eficazes, com orientações domiciliares simples e acessíveis a pacientes e familiares previnem e minimizam os danos funcionais, viabilizando a adoção de procedimentos ou de possíveis tratamentos para a reversão do quadro após a lesão. Infelizmente, as técnicas terapêuticas disponíveis apresentam resultados pouco satisfatórios. A pesquisa experimental ainda terá um longo caminho a percorrer. Os métodos de avaliação da recuperação funcional também terão que evoluir.

---

7. CONCLUSÕES

- Nos ratos com lesões leves a escala BBB apresenta sensibilidade satisfatória e elevada reprodutibilidade (boa e excelente).
- Nas lesões moderadas a escala BBB apresenta sensibilidade insatisfatória e reprodutibilidade satisfatória, porém moderada.
- Nas lesões graves a escala BBB apresenta sensibilidade insatisfatória e redução da reprodutibilidade.

ANEXO 1
ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL
" BASSO, D.M.; BEATTIE, M.S. E BRESNAHAN, J.C., 1995 "

Movimento do Membro Posterior						Posição do Tronco		Abdome	Movimento da Pata Dianteira				Pisada				C o o r d e n a ç ã o	Liberação dos Dedos		Posição Predominante da Pata				I n s t a b i l i d a d e	Cauda					
Quadril		Joelho		Tornozelo					Balanço		Apoio da Pata		Dorsal		Plantar					Contato Inicial		Elevação								
E	D	E	D	E	D	Lado	Apoio							E	D	E	D	E	D	E	D	E	D							
0	0	0	0	0	0	E	D			Arrastando					0	0	0	0	0	0*	0*	I	I	I	I		Para Cima (elevada)			
S	S	S	S	S	S			E	D					E	D	E	D	O	O	O	O	O	E	E	E	E				
E	E	E	E	E	E	Central				Paralelo				E	D	E	D	F	F	F'	F'	F	F**	F**	P	P	P	P		Para Baixo (abaixada)
										Alto								C	C	C	C	C	C	C	P	P	P	P		

Rato: _____ Data   /   /   200   Dias Pós-Operatório   Pontuação Esquerdo: _____ Direito: _____

Comentários:

Movimento		+	Pisada Dorsal > 4 passos da pata posterior	0	Nunca (0%)	I	Rotação Interna
0	Nenhum	*	Liberação < 50%	O	Ocasional (< 50%)	E	Rotação Externa
S	Suave (discreto)	**	Dedos Arrastando > 4 passos da pata posterior	F	Frequente (51-94%)	P	Paralelo
E	Extenso			C	Consistente (95-100%)		

ANEXO 2

QUADRO 1 ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO
FUNCIONAL DE 21 PONTOS DE BASSO
ET AL. (1995)⁶

PONTUAÇÃO	DEFINIÇÕES OPERACIONAIS DE CATEGORIAS E ATRIBUTOS
0	Nenhum movimento observável do membro posterior.
1	Movimento discreto (limitado) de uma ou das duas articulações, geralmente, do quadril e/ou do joelho.
2	Movimento extenso de uma articulação ou movimento extenso de uma articulação e discreta de uma outra.
3	Movimento extenso de duas articulações.
4	Movimento discreto de todas as três articulações do membro posterior.
5	Movimento discreto de duas articulações e movimento extenso da terceira.
6	Movimento extenso de duas articulações e movimento discreto da terceira.
7	Movimento extenso das três articulações do membro posterior
8	Pedalada sem suporte de peso <u>ou</u> apoio plantar da pata sem suporte de peso.
9	Apoio plantar da pata com suporte de peso somente em fase de apoio (i.e., quando estático) <u>ou</u> passada dorsal ocasional, freqüente ou consistente com suporte de peso e nenhuma passada plantar.
10	Passo plantar com suporte de peso ocasional e nenhuma coordenação dos membros anterior e posterior.

11	Passo plantar com suporte de peso freqüente à consistente e nenhuma coordenação dos membros anterior e posterior
12	Passo plantar com suporte de piso freqüente à consistente e coordenação ocasional dos membros anterior e posterior.
13	Passo plantar com suporte de peso freqüente à consistente e coordenação freqüente dos membros anterior e posterior.
14	Passo plantar com suporte de peso consistente, coordenação consistente dos membros anterior e posterior e posição predominante da pata rodada (interna ou externamente) durante a locomoção, no instante do contato inicial com a superfície (piso) bem como, antes de liberar os dedos no final da fase de apoio <u>ou</u> passada plantar freqüente, coordenação consistente dos membros anterior e posterior e passada dorsal ocasional.

(continuação)

PONTUAÇÃO	DEFINIÇÕES OPERACIONAIS DE CATEGORIAS E ATRIBUTOS
15	Passada plantar consistente e coordenação consistente dos membros anterior e posterior e nenhuma liberação dos dedos ou liberação ocasional durante o movimento do membro para frente, posição predominante da pata paralela ao corpo no instante do contato inicial.
16	Passada plantar consistente e coordenação dos membros anterior e posterior durante a marcha e a liberação dos dedos ocorre freqüentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante da pata é paralela ao corpo no instante do contato inicial e rodada no instante da liberação.
17	Passada plantar consistente e coordenação dos membros anterior e posterior durante a marcha e a liberação dos dedos ocorre freqüentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante da pata é paralela ao corpo nos instantes do contato inicial e da liberação dos dedos.
18	Passada plantar consistente e coordenação dos membros anterior e posterior durante a marcha e a liberação dos dedos ocorre consistentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante da pata é paralela ao corpo no instante do contato inicial e rodada na liberação dos dedos.
19	Passada plantar consistente e

	coordenação dos membros anterior e posterior durante a marcha e a liberação dos dedos ocorre consistentemente durante o movimento do membro para frente; a posição predominante da pata é paralela ao corpo nos instantes do contato e da liberação dos dedos e apresenta a cauda para baixo parte do tempo ou por todo o tempo.
20	Passada plantar consistente e coordenação dos membros anterior e posterior durante a marcha e a liberação dos dedos ocorre consistentemente durante o movimento do membro para frente; a posição predominante da pata é paralela ao corpo nos instantes do contato e da liberação dos dedos e apresenta a cauda consistentemente elevada e instabilidade do tronco.
21	Passada plantar consistente e marcha coordenada, liberação consistente dos dedos, a posição predominante da pata é paralela ao corpo durante toda a fase de apoio, estabilidade consistente do tronco, cauda consistentemente elevada.

DEFINIÇÕES	
- Discreta	Movimento parcial da articulação, inferior à metade da amplitude de movimento da articulação
- Extensa	Movimento parcial da articulação, superior à metade da amplitude de movimento da articulação
- Pedalada	Movimento rítmico do membro

	posterior no qual suas três articulações estão estendidas, em seguida completamente flexionadas e novamente estendidas, o animal geralmente inclina-se lateralmente, a superfície plantar da pata pode ou não tocar o solo, nenhum suporte de peso corpóreo é evidente por toda a pata posterior
- Sem suporte de peso	Nenhuma contração dos músculos extensores do membro posterior durante pisada plantar da pata ou nenhuma elevação da coxa
- Com suporte de peso	Contração dos músculos extensores do membro posterior durante a pisada plantar da pata ou elevação da coxa
- Passada plantar	A pata está em contato plantar com suporte de peso, em seguida ocorre o movimento do membro para a frente até ser restabelecido o contato plantar com suporte de peso
- Passada dorsal	O peso é suportado pela superfície dorsal da pata em qualquer ponto do ciclo do passo
- Coordenação dos membros anterior e posterior	Para todo passo do membro anterior ocorre um passo do membro posterior e os membros posteriores se alternam
- Ocasional	Menos do que ou igual à metade das vezes, $\leq 50\%$
- Frequente	Mais do que a metade, mas não sempre, 51- 94%
- Consistente	Quase sempre ou sempre, 95 – 100%
- Instabilidade do tronco	Lateralização do peso que causa oscilação de um lado a outro ou colapso parcial do tronco

---

9. REFERÊNCIAS

Albin MS, White RJ, Locke GS, Massopust Jr LC, Kretchmer HE. Localized spinal cord hypothermia: anesthetic effects and application to spinal cord injury. *Anesth. Analg.* 1967;46:8-16.

Albin MS, White RJ, Acosta RG, Yashon D. Study of functional Recovery produced by delayed localized cooling after spinal cord injury in primates. *J. Neurosurg.* 1968;29:113-20.

Albin MS, White RJ. Epidemiology, physiopathology, and experimental therapeutics of acute spinal cord injury. *Crit. Care Clin.* 1987;3:441.

Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column a preliminary report. *JAMA.* 1911;57:878-80.

Allen AR. Remarks on the histopathological changes in the spinal cord due to impact: an experimental study. *J. Nerv. Ment. Dis.* 1914;41:141-7.

Amako T. Surgical treatment of spinal cord injury by blunt forces: experimental study. *J. Jap. Surg. Soc.* 1936;37:1843-74 apud YEO JD 1976, p.1-11.

Anderson TE. A controlled pneumatic technique for experimental spinal cord contusion. *J. Neurosci. Methods.* 1982; 6:327-33.

Ayer JR. Cerebrospinal fluid in experimental spinal cord. *Arch Neurol. Psychiat.* 1919;2:158-64.

Balentine JD. Pathology of experimental spinal cord trauma I. Ultrastructure of axons and myelin. *Lab. Invest.* 1978;39:236-53.

Barros Filho TEP, Taricco MA, Oliveira RP, Greve JMA, Santos LCR, Napoli MMM. Estudo epidemiológico dos pacientes com traumatismo da coluna vertebral e déficit neurológico, internados no Instituto de ortopedia e Traumatologia do Hospital das clínicas da Faculdade de Medicina da USP. *Revista Hosp.Clin.Fac.Méd.S. Paulo.* 1990;123-26.

Barros Filho TEP. Campanha “Cuidado ao Mergulhar”. Campanha de prevenção das fraturas de coluna provocadas pro mergulho. *Folha de Ortopedia e Traumatologia.* 1999; Ano XI, n. 32.

Barros Filho TEP, Oliveira RP, Tsanaclis AM, Barros EMKP, Cristante AF, Palma RM, Santos CV, Marcon RM. Modelo experimental de transplante de células do sistema nervoso central fetal para lesão da medula espinhal em ratos. *Revista Hosp.Clin.Fac.Méd.S. Paulo.* 2002;57:

Barros Filho TEP, Barros EMKP, Cristante AF, Marcon RM. LETRA – Laboratório de estudos do traumatizado raquimedular e nervos. *Folha de Ortopedia e Traumatologia*. 2003;37:13-13.

Basso DM, Van Meter M, Beattie MS, Bresnahan JC. Differential apparing of rubroespinal and vestibuloespinal tracts after mild or moderate spinal cord contusion in rats. *Soc. Neurosci*. 1994;20:147.

Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J. Neurotrauma*. 1995;12:1-21.

Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU wegth-drop device versus transection. *Exp. Neurol*. 1996a;139:244-56.

Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC, Anderson DK, Faden JA, Gruner JA, Holford TR, Hsu CY, Noble LJ, Nockels R, Perot PI, Salzman SK, Youn W. MASCIS Evaluation of open field locomotor score: Effects of experience and teamwork on reliability. *J. Neurotrauma*. 1996b;13:343-50.

Behrmann DI, Bresnahan JC, Beattie MS, Shah BR. Spinal cord injury produced by consistent mechanical displacement of yhe cord in rats: behavioral and histologic analysis. *J. Neurotrauma* 1992;9:197-217.

Bignami G. Economical test methods for developmental neurobehavioral toxicity. *Env. Health Perspect.* 1996; 104:285-298.

Bohlmann HH, Bahniuk E, Gerg Field BS, Raskulinecz MS. Spinal cord monitorin of experimental incomplete spinal cord injury: a preliminary report. *Spine.* 1981; 6:428-36.

Breasted JH: *The Edwin Smith Surgical Papyrus Vol I and II.* Chicago, IL University of Chicago Press, 1930 apud Dohrmann GJ. Experimental spinal cord trauma: a historical review. *Arch. Neurol.* 1972;27:468-73.

Bresnahan,J.C., Beattie,M.S.;ToddIII. F.D.; Noye S,D.H. A behavioral and anatomical analysis of spinal cord injury produced by a feedback controlled impation device. *Exp. Neurol.*.,v. 95, p.548-70,1987.

Castro AV. *Ossificação heterotópica em pacientes com lesão medular traumática: associação com antígeno HLA [dissertação].* São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2003

Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo, Associação Paulista de Medicina, Sindicatos Médico de Estado de São Paulo. *A epidemia da violência.* São Paulo; 1998.

Constantini S, Young W. The effects of methylprednisolone and the ganglioside GMI on acute spinal cord injury in rats. *J. Neurosurg.* 1994;80: 97-111.

Craig WM. Pathology of experimental compression of the spinal cord. *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 1932;7:680-2 apud Dohrmann GJ 1972, p. 468-73.

Cristante AF, Tsanaclis AM, Santos CV, Barros EMKP, Marcon RM, Oliveira RP, Palma RM, Barros Filho TEP. Estudo do implante e viabilidade de células do sistema nervoso central fetal no tratamento da lesão de medula espinal em ratos. *Folha de Ortopedia e Traumatologia.* 2002; Ano XI, n.34.

De Biase MEM. *Avaliação da alteração da amplitude do potencial eletromiográfico do quadríceps pelo efeito da retroalimentação por eletromiografia de superfície em pacientes com traumatismo raquimedular* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2005.

De La Torre JC, Boggan JE. Neurophysiological recording in rat spinal cord trauma. *Exp. Neurol.* 1980;70:356-70.

De Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp. Neurol.* 1982;77:634-43.

De Medinaceli L. Use of sciatic function index and walking track assessment.

Microsurgery. 1990;11:191-2.

Dohrmann GJ. Experimental spinal cord trauma: a historical review. *Arch.*

Neurol. 1972;27:468-73.

Ducker TB, Hamit HF. Experimental treatments of acute spinal cord injury. *J.*

Neurosurg. 1969;30:603-7.

Ducker TB, Kindt GW. Pathological finding in acute experimental spinal cord

trauma. *J. Neurosurg*. 1971;35:700-8.

Eidelberg E. Cardiovascular response to experimental spinal cord

compression. *J. Neurosurg*. 1973;38:326-31.

Eidelberg E, Staten J, Watkins JC, McGraw D, McFadden C. A model of

spinal cord injury. *Surg. Neurol*. 1976;6:35-8.

Fairholm DJ, Turnbull IM. Microangiographic study of experimental spinal cord

injuries. *J. Neurosurg*. 1971;35:277-86.

Ferguson AR, Hook MA, Garcia G, Bresnahan JC, Beattie MS, Grau JW. A

simple post hoc transformation that improves the metric properties of the

---

BBB scale for rats with moderate to severe spinal cord injury. *J. Neurotrauma*. 2004;21:1601-13.

Ferraro A. Experimental medullary concussion of the spinal cord in rabbits . Histologic study of the early stages. *Arch. Neurol. Psychiat.* 1927;18:357-73
1927 apud Yeo JD 1976, p. 1-11.

Fine,P.R.; Devivo, M.J., Stovers, S.; Lazarus, P. B.; Kartus, P.L.; Rutt, R. D.;Stover, S.L. The state of the national sci database . *Paraplegia*, v.24, p.51-2, 1985.

Fujita Y, Yamamoto H. An experimental study on spinal cord traction effect. *Spine*. 1989;14:698-705.

Galvão PEC. *Avaliação funcional e histológica do efeito da oxigenoterapia hiprebárica em ratos com lesão medular contusa [dissertação]*. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2003.

Gazal-Carvalho C, Carlini-Cotrim B, Silva OA, Sauaia N. *Prevalência de alcoolemia em vítimas de causas externas admitidas em centro urbano de atenção ao trauma*. *Rev. Saúde Pública*. 2002;36:1-20.

Goldberger ME, Bregman BS, Vierck Jr. CJ, Brown M. Criteria for assessing recovery of function after spinal cord injury: behavioral methods. *Exp. Neurol.* 1990;107:113-17.

D'Andrea Greve JM. Reabilitação da lesão da medula espinal. In: Barros Filho TEP, Basile Jr. R. ed. *Coluna vertebral: diagnóstico e tratamento*. São Paulo, Sarvier, 1995. p.199-227.

D'Andrea Greve JM. Traumatismos raquimedulares nos acidentes de trânsito e uso de equipamentos de segurança. *Diag & Tratam.* 1997;2:10-13.

Groat RA, Rambach WA, Windle WF. Concussion of spinal cord: an experimental study and a critique of the use of the term. *Surg. Gynecol. Obst.* 1945;81:63-74.

Haghighi SS, Perez-Espejo MA, Rodriguez F, Clapper A. Radiofrequency as a lesioning model in experimental spinal cord injury. *Spinal Cord.* 1996;34:214-9.

Harvey JE, Srebnik HH. Locomotor activity and axon regeneration following spinal cord compression in rats treated with L-thyroxine. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1967;26:661-8.

Hiks S, D'Amato CJ. Motor-sensory cortex-corticospinal system and developing locomotion and placing in rats. *Am. J. Anat.* 1975;143:1-42.

Iizuka H, Yamamoto T, Iwazaki Y, Kono H, Kadoya S. Experimental spinal cord injury: quantation of axonal damage by automated image analysis. *J. Neurosurg.* 1986;64:304-8.

Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. *Impactos sociais e econômicos dos acidentes de trânsito nas aglomerações urbana brasileiras; Pesquisa de custos médico-hospitalares.* Brasília: Ipea:ANTP, 2004.

Jorge FF, Balbani APS, Barros TEP. Trauma raquimedular: aspectos epidemiológicos, impacto social e prevenção. *Acta Ortop. Bras.* 1995;3:1-4.

Kajiwara K. An experimental study on the spinal cord injuries. *Juntendo Med. J.* 1961;7:612-8.

Khan M, Griebel R. Acute spinal cord injury in the rat: comparasion of three experimental techniques. *Can. J. Neurol. Sci.* 1983;10:161-5.

Kirchgasser G. Expementelle unteruchugen uber ruckenmark serchutterung. *Deustsche Z. Nerveneh.* 1897;11:406-19 apud Dohrmann GJ 1972, p 468-73.

Koopmans GC, Deumens R, Honig WMM, Hamers FPT, Steinbusch HWM, Joosten EAJ. The assessment of locomotor function in spinal cord injured rats: The importance of objective analysis of coordination. *J. Neurotrauma*. 2005; 22:214-25.

Koozekanani SH, Vise WM, Hashemi RM, McGhee RB. Possible mechanisms for observed pathophysiological variability in experimental spinal cord injury by the method of Allen. *J. Neurosurg*. 1976;44:429-34.

Kuhn PL, Wrathall JR. A mouse model of graded contusive spinal cord injury. *J. Neurotrauma*. 1998;15:125-40.

Kunkel-Bagden E, Daí HN, Bregman BS. Methods to assess the development and recovery of locomotor function after spinal cord injury in rats. *Exp. Neurol*. 1993;119:153-4.

Lago Junior O, Bortoletto CV, Araujo AM, Donoso COM, Kume PK, Repka JCD. Functional and histological assessment of sciatic nerve repair using fibrin glue and suture Wistar rats. *Rev. Bras. Ortop*. 2005;1-8.

Lianza S, Casalis MEP, Greve JMD, Eichberg R. Lesão Medular . In: Lianza S. *Medicina de Reabilitação*. 3ª Edição. São Paulo: Guanabara-Koogan; 2001. 299-321.

Lu J, Waite P. Spine update – Advances in spinal cord regeneration. *Spine*.1999;24:926-30.

Marion WT. *Estudo da prevenção da perda da massa óssea em pacientes do sexo masculino com lesão medular completa traumática com a utilização do alendronato dissódico [dissertação]*. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2003

McVeigh JF. Experimental cord crushes with especial reference to the mechanical factors involved and subsequent changes in the areas of the cord affected. *Arch. Surg.* 1923;7:573-600.

Means ED, Anderson, DK, Waters TR, Kal L. Effect of methylprednisolone in compression trauma the feline spinal cord. *J. Neurosurg.* 1981;55:200-8.

Metz GAS, Merkler D, Dietz V, Schwab ME, Fouad K. Efficient testing of motor function in spinal cord injured rats. Available from: <http://www.neuroinvestigations.com/publications/Gmpaper3-17.doc>.2000.

Molina AEIS, Barros Filho TEP. Análise comparativa da avaliação funcional realizada na lesão medular em animais. *Acta Ortop. Bras.* 2004;2:35-46.

New York University Medical Center. *Impactor. NYU Spinal cord contusion system. Operation manual. Impactor software version 7.0*. New York, 1993. 41p.

Oliveira AR. *Efeito do tempo da descompressão medular no traumatismo raquimedular: estudo experimental em ratos [dissertação]*. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2005

Organização Mundial da Saúde. *Informe mundial sobre prevención de los traumatismos causados por el tránsito: resumen*. Ginebra: OMS;2004.

Panjabi MM, Wrathall JR. Biomechanical analysis of experimental spinal cord injury and functional loss. *Spine*. 1988;13:1365-70,.

Rawe SE, Lee WA, Perot PL. The histopathology of experimental spinal cord trauma: the effect of systemic blood pressure. *J. Neurosurg*. 1978;48:1002-7.

Redemaker GG. *Das Stehen*, Springer, Berlin. 1931 apud Metz GAS, Merkler D, Dietz V, Schwab ME, Fouad K. Efficient testing of motor function in spinal cord injured rats. Available from: <http://www.neuroinvestigations.com/publications/Gmpaper3-17.doc>.2000.

Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor experimental spinal cord injury in the rat. *J. Neurosurg*. 1977;47:577-81.

Rivlin AS, Tator CH. Regional spinal cord blood flow in rats after severe cord trauma. *J. Neurosurg*. 1978b;49:844-53.

Rodrigues NR. *Padronização da lesão na medula espinhal em ratos Wistar* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo; 1999.

Schmaus H. Beitrag zur pathologischen anatomie der Rückenmarkerschütterung. *Vichows Arch.* 1890;122:470-95 apud YEO JD. 1976;1-11.

Scheff SW, Saucier DA, Cain ME. A statistical method for analyzing rating scale data: The BBB locomotor score. *J. Neurotrauma.* 2002;19:1251-60.

Schulte W. Plasmatische infiltration der extra-und intracellularräume der grauen substanz (Plasmatische Infiltrationsnekrose) nach experimentellen trauma. *Acta Neuropathol.* 1967;8:1171-84.

Tarlov IM, Klinger H, Vitale S. Spinal cord compression studies: I. experimental techniques to produce acute and gradual compression. *Arch. Neurol. Psychiat.* 1953;70:813-9.

Tarlov IM, Klinger H. Spinal cord compression studies: II. Time limits for recovery after acute compression in dogs. *Arch. Neurol. Psychiat.* 1954;71:271-90.

Tarlov IM, Klinger H. Spinal cord compression studies: III. Time limits for recovery after acute compression in dogs. *Arch. Neurol. Psychiat.* 1954;71:588-97.

Tator CH, Koianagi I. Vascular mechanism in the pathophysiology of human spinal cord injury . *J Neurosurg.* 1997;86:483-92.

Tator CH. Biology of neurological recovery and functional restoration after spinal cord injury. *Neurosurg.*1998;42:696-708.

Tebet MA. *Efeito da metilprednisolona e do gangliosídoe GM-1 na lesão medular em ratos. Análise funcional e histológica [tese].* São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2002.

Thompson JE. Pathological changes oceurring in the spinal cord, following fracture dislocation of the vertebrae. *Ann. Surg.* 1923;78:260-93.

Vialle LRG, Fischer J, Nmcon JC, Vialle E, Luzzi R, Torres LFB. Estudo histológico da lesão medular experimental m ratos. *Rev. Bras. Ortop.* 1999;34:85-9.

Waiselfisz JJ. *Mapa da violência II.* Brasília: UNESCO,2002.

Webb AA, Muir GD. Sensorimotor behaviour following incomplete cervical spinal cord injury in the rat. *Behavioural Brain Research.* 2005,165:147-159.

Woodard JS, Freeman LW. Ischemia of the spinal cord. An experimental study. *J. Neurosurg.* 1956;13:63-72.

Wrathall JR, Pettegrew RK, Harvey F. Spinal cord contusion in the rat: Production of graded, reproducible, injury groups. *Exp. Neurol.* 1985;88:108-22.

Yeo JD, Payne W, Hinwood B, Kidman AD. The experimental contusion injury of the spinal cord in sheep. *Paraplegia.* 1975;12:275-96.

Yeo JD, Stabback S, McKenzie B. Central necrosis following contusion to the sheep's spinal cord. *Paraplegia.* 1977;14:276-85.

Young W, Flamm ES, Demopoulos HB, Tomasula JJ, Decrescito V. Effect of naloxene on posttraumatic ischemia in experimental spinal contusion. *J. Neurosurg.* 1981;55:209-19.

Young W, Flamm ES. Effect of high-dose corticosteroid therapy on blood flow, evoked potentials, and extracellular calcium in experimental spinal injury. *J. Neurosurg.* 1982;57: 667-73.

Young W, Decrescito V, Flamm ES, Hadani M, Rappaport H, Cornu P. Tissue Na, K, and Ca changes in regional cerebral ischemia: their measurement and interpretation. *Cent. Nerv. Syst. Trauma.* 1986;3:215-34.

Young W, Koreh I. Potassium and calcium changes in injured spinal cords.

Brain Res. 1986;365:42-53.

Young W, Rappaport ZH, Chalif DJ, Flamm ES. Regional brain sodium, potassium, and water changes in the rat middle cerebral artery occlusion model of ischemia. *Stroke.* 1987;18:751-9.

Young W. Recovery mechanisms in spinal cord injury: implications for regenerative therapy. In: Seil F. *Frontiers of Clinical Neurosciences: Neural.*

Z'Graggen WJ, Metz GAS, Kartje GL, Schwab ME. Functional recovery and enhanced cortico-fugal plasticity in the adult rat after unilateral pyramidal tract section and blockade of myelin-associated neurite growth inhibitor. *J. Neurosci.* 1998;4744-57.