RAPHAEL MARTUS MARCON

**Estudo experimental da ação da
metilprednisolona utilizada antes do
traumatismo raquimedular em ratos Wistar**

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

Área de concentração: Ortopedia e Traumatologia

Orientador: Dr. Reginaldo Perilo Oliveira

**SÃO PAULO
2006**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Marcon, Raphael Martus

Estudo experimental da ação da metilprednisolona utilizada antes do traumatismo raquimedular em ratos Wistar / Raphael Martus Marcon. -- São Paulo, 2006.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Ortopedia e Traumatologia.

Área de concentração: Ortopedia e Traumatologia.

Orientador: Reginaldo Perilo Oliveira.

Descritores: 1.Traumatismos da medula espinhal/complicações 2.Metilprednisolona
3.Tratamento preliminar 4.Ratos Wistar

USP/FM/SBD-181/06

À minha esposa Fátima e minhas filhas
Isadora e Raphaela, as quais são a razão final
de todo esforço.

À minha mãe Eunice, pelo alicerce
moral e exemplo de perseverança.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Tarcísio Eloy Pessoa de Barros Filho, Professor Titular do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, meu sincero agradecimento pelo inestimável apoio à minha formação pessoal e como ortopedista, pela paciência ao longo destes anos de convivência, pelas inúmeras e inestimáveis oportunidades oferecidas ao longo deste período e pela confiança em meu potencial.

Ao Professor Doutor Arnaldo Valdir Zumiotti, Professor Titular do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Doutor Reginaldo Perilo Oliveira, Chefe do Grupo de Coluna Cervical da Disciplina de Coluna Vertebral do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, exemplo a ser seguido, especial agradecimento a quem nos acolheu e permitiu que pudéssemos crescer profissionalmente.

Ao Doutor Mário Augusto Taricco, Professor do Departamento de Neurologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e Chefe do Grupo de Coluna da Divisão de Neurocirurgia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo brilhantismo e idealização deste trabalho.

Ao Professor Doutor Olavo Pires de Camargo, Professor Associado e Coordenador da Pós-Graduação do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela atenção com a pós-graduação.

Ao Doutor Alexandre Fogaça Cristante, médico assistente do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, meu amigo, pela convivência e parceria ao longo destes anos.

Ao Doutor Guilherme Collares e ao Doutor Almir Barbarini, pela inestimável colaboração na execução deste trabalho.

À Sra. Jane Ferreira e à Sra. Veroneide Folha, funcionárias do LETRAN – Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e de Nervos, pela ajuda com os cuidados e manutenção dos animais.

A todos os funcionários do Instituto de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo que direta ou indiretamente contribuíram à realização desta pesquisa.

Normalização adotada

Esta dissertação está de acordo com:

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

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 F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Figuras

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	8
3	MÉTODOS	43
3.1	Modelo experimental de lesão medular	44
3.2	Tratamento medicamentoso	54
3.3	Protocolo da capacidade locomotora pela escala BBB de avaliação funcional	55
3.4	Eutanásia	58
3.5	Exame necroscópico.....	58
3.6	Análise estatística.....	59
4	RESULTADOS.....	61
5	DISCUSSÃO	71
6	CONCLUSÕES	81
7	ANEXOS	83
8	REFERÊNCIAS.....	91

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Procedimentos para a realização da lesão medular através de equipamento computadorizado para impacto medular por queda de peso - NYU Impactor[®]. A – detalhe da laminectomia, com exposição da medula espinal; B – detalhe das garras de fixação nos processos espinhosos e C – vista geral do posicionamento do animal no dispositivo de impacto 49
- Figura 2 -** Equipamento computadorizado para impacto medular por queda de peso - NYU Impactor[®]. A – diagrama esquemático sem escala e B – vista geral, CPU, vídeo monitor, teclado, dispositivo de interfaceamento, “mouse” e dispositivo de impacto..... 51
- Figura 3 -** Determinação da capacidade locomotora após lesão pela escala BBB de avaliação funcional (Basso et al. 1995). A – rato posicionado na caixa forrada com campo azul para facilitar observação e B – rato em vista lateral, avaliação da movimentação do quadril, joelho e tornozelo da pata posterior direita e posição da cauda. 56
- Figura 4 -** Índices motores ao longo do tempo de seguimento, onde não se observa diferença estatisticamente significante entre os grupos 65
- Figura 5 -** Proporção de óbitos nos quatro grupos, onde o grupo B –T-4 apresentou proporção de óbitos significativamente maior do que a encontrada no grupo B – T0 69

RESUMO

Marcon RM. *Estudo experimental da ação da metilprednisolona utilizada antes do traumatismo raquimedular em ratos Wistar* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 104p.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da metilprednisolona empregada previamente ao traumatismo medular, tanto em relação aos possíveis efeitos benéficos quanto às possíveis complicações associadas. Foram utilizados 32 ratos Wistar, divididos em 4 grupos. Dois grupos receberam as drogas A (placebo) e B (metilprednisolona) imediatamente após a lesão. Outros 2 grupos receberam as mesmas drogas 4 horas antes da lesão. Todos foram avaliados por um período de 28 dias quanto à função locomotora e complicações associadas. Quanto aos índices motores, não houve diferença entre os grupos. Os ratos tratados com metilprednisolona quatro horas antes do trauma apresentaram um número de óbitos significativamente maior quando comparados aos ratos tratados com a mesma droga após o trauma.

Descritores: traumatismos da medula espinhal / complicações, metilprednisolona, tratamento preliminar, ratos Wistar.

SUMMARY

Marcon RM. *Experimental study with methylprednisolone pretreatment in spinal cord injury in Wistar rats* [dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 104p.

The objective of this work was to evaluate the effect of methylprednisolone previously used to spinal cord injury, in relation to the possible beneficial, and the possible associated complications. Thirty two Wistar rats had been used, divided in 4 groups. Two groups had received the drugs A (placebo) and B (methylprednisolone) immediately after the injury. The others 2 groups received the same drugs 4 hours before the injury. All had been evaluated to the locomotive function and complications associates by a period of 28 days. Concerning the motor indices, it did not show any difference between the groups. The rats treated with methylprednisolone four hours before the trauma presented a significantly higher number of deaths when compared with the rats treated with the same drug after the trauma.

Descriptors: spinal cord injuries / complications, methylprednisolone, pretreatment, Wistar rats.

1 INTRODUÇÃO

A lesão medular é incapacitante, irreversível e de alto custo econômico e social. A mesma apresenta efeito devastador na qualidade de vida da vítima, com alterações fisiopatológicas nos sistemas cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, urogenital, neurológico e músculo-esquelético. A extensão destas alterações é relacionada com a gravidade do dano neurológico. Tem como causa mais freqüente o traumatismo, mas também é produzida por tumores, infecção, lesão vascular ou mesmo iatrogenicamente.

O progresso dos procedimentos terapêuticos depende, no entanto, de um melhor conhecimento de fisiopatologia da lesão medular.

A lesão medular apresenta mecanismos primários ou secundários de dano à medula espinal, a lesão mecânica primária e a lesão secundária resultante de um ou mais processos bioquímicos e celulares desencadeados pela lesão primária (Bunge et al., 1993). O conceito de lesão secundária foi primeiro postulado por Allen em 1911, que propôs a existência de agentes nocivos presentes no material necrótico e hemorrágico que causam danos adicionais à medula espinal e esses agentes são fatores bioquímicos.

A lesão primária consiste da interrupção fisiológica e estrutural aguda dos axônios e é resultado de impacto sobre a substância da medula espinal com conseqüente rompimento dos axônios, de danos às células nervosas e da ruptura de

vasos sanguíneos. Na fase aguda, ocorrem a hemorragia e a necrose na substância cinzenta central na primeira hora após a lesão, seguida de edema e de hemorragia nas sete horas seguintes. Essa lesão é resultante da isquemia causada pela redução do fluxo sanguíneo para o segmento medular afetado. Esta redução pode ser causada por uma alteração do canal vertebral, pela hemorragia e pelo edema significativo da medula espinal ou pela redução da pressão sanguínea sistêmica. A isquemia cria uma cadeia de reações bioquímicas que resulta em morte celular. Em seguida, células inflamatórias migram para o local lesionado e ocorre, simultaneamente, a proliferação glial. A formação de tecido cicatricial e de cisto ocorre na fase crônica, no período de uma a quatro semanas, decorrente da proliferação de astrócitos e da hipertrofia, formando uma cicatriz glial (Kakulas, 1984).

Os estudos mais recentes sobre os processos fisiopatológicos após a lesão do sistema nervoso central proporcionam um suporte mais racional para as estratégias de tratamento e demonstram alguma melhora da função neurológica em pacientes com lesão medular. O melhor conhecimento dos processos fisiopatológicos primários e secundários abre campo de pesquisa experimental com modelos de lesão da medula espinal provocada em laboratórios (De La Torre, 1984; Kunkel-Bagden et al., 1992). A padronização da lesão medular permite a reprodutibilidade e a análise dos resultados (De La Torre e Boggan, 1980; Rodrigues, 1999).

A frustração diante de uma lesão medular grave já foi descrita nos papíros cirúrgicos (egípcios) de Edwin Smith, de 1700 a.C. que relatam as fraturas da coluna vertebral como sendo uma “enfermidade que não deve ser tratada” (Breasted, 1930; Hughes, 1988).

Nas últimas duas décadas, várias pesquisas foram realizadas na tentativa de obter-se um tratamento mais efetivo para a lesão medular espinal. Todas essas pesquisas envolvem basicamente quatro formas de abordagem do paciente com lesão medular aguda, a cirúrgica, a por meios físicos, a biológica e a farmacológica.

As técnicas operatórias são utilizadas desde os últimos 40 anos (Hansebout, 1982 apud Janssen e Hansebout, 1987), contudo os resultados dessas têm sido discutíveis e os dados disponíveis são amplamente questionados.

A tática operatória mais utilizada é a laminectomia descompressiva com ou sem artrodese. Contudo, na revisão dessas tentativas cirúrgicas Hansebout (1982) apud Janssen e Hansebout (1987) encontra que somente 1% a 1,8% dos pacientes com lesões medulares cervicais e torácicas completas tornam-se deambuladores após realização da laminectomia descompressiva. Outro procedimento utilizado é a mielotomia. Com referência a revisão dos resultados desse procedimento Hansebout (1982) apud Janssen e Hansebout (1987) mostra uma melhora do déficit neurológico em 50% dos casos e o retorno à deambulação em 17% dos pacientes, entretanto, essa técnica é acompanhada de uma alta taxa de mortalidade (42%) quando comparada com os procedimentos convencionais. O papel desempenhado pela cirurgia na lesão medular aguda limita-se, na maioria dos procedimentos, ao alinhamento vertebral, à descompressão neural e à estabilização da coluna vertebral impedindo um dano neurológico adicional ao paciente. Outras operações são: a anastomose direta do segmento lesado, o enxerto de medula espinal de cadáver e as pontes nervosas. Até o momento, as cirurgias reparadoras da medula e restauradoras da função neurológica têm se mostrado pouco eficazes ou mesmo inócuas.

Conceitua-se como terapia biológica a utilização de fatores que estimulam a regeneração neuronal. Com essa finalidade empregam-se fatores de crescimento tecidual, de células tronco, totipotentes, pluripotentes ou multipotentes, autólogas ou homólogas. São terapias que, devido ao curto prazo de seguimento e de avaliação, não apresentam dados concretos sobre os resultados, entretanto, apesar das controvérsias, esta é uma possibilidade futura de obter-se a cura.

Os meios físicos são empregados também com o intuito de minimizar os danos medulares secundários. Os principais meios pesquisados são a hipotermia e o oxigênio hiperbárico.

Vários estudos demonstram os efeitos benéficos locais com o resfriamento medular por perfusão ou irrigação com solução salina hipotérmica (Ducker e Hamit, 1969; Albin e White, 1987; Kelly Jr et al., 1970). Alguns autores relatam taxas de recuperação semelhantes em magnitude àqueles tratados com dexametasona em cães (Hansebout et al., 1975; Kuchner e Hansebout, 1976). Embora igualmente benéficos, a terapia com resfriamento não impede a perda de potássio como na terapia com esteróides e, de acordo com Albin e White (1987), é benéfica quando iniciada nas primeiras oito horas após o trauma, sendo que, após esse período de tempo, o benefício se torna menos aparente. Essa abordagem é baseada na suposição de que a temperatura baixa protege os tecidos do sistema nervoso central contra os efeitos da hipóxia e da isquemia. Entretanto, é uma técnica de difícil aplicação que apresenta alta taxa de mortalidade, tornando preocupante a sua aplicação clínica (Schwab e Bartholdi, 1996).

Já a oxigenoterapia hiperbárica é uma modalidade terapêutica fundamentada na obtenção de pressões parciais elevadas de oxigênio tecidual, ao respirar-se o oxigênio puro no interior de uma câmara hiperbárica, a uma pressão superior à da atmosfera (Yeo, 1976).

A farmacologia desempenha papel relevante no tratamento da lesão medular e é sem dúvida o método mais pesquisado. Através de ensaios clínicos e experimentais, contribuí efetivamente para o tratamento dos danos medulares secundários. Entre as drogas em teste, os bloqueadores dos canais de cálcio, a naloxona, os gangliosídeos, os lazaróides, o dimetil-sulfoxido e a alfa metilparatirosina são estudadas preferencialmente. Os corticóides e os gangliosídeos já estão protocolados para uso em humanos. Dentre os corticóides, os mais pesquisados são a dexametasona e a metilprednisolona. Essa última, em ensaios clínicos randomizados, prospectivos, duplo-cegos, tem comprovação clínica de sua eficácia (Bracken et al., 1992). Inicialmente, o tratamento com esteróides baseia-se na ação antiinflamatória e na efetividade em tratar o edema cerebral. Acredita-se que, além desta sua ação, a metilprednisolona atua aumentando o fluxo sanguíneo, estabilizando a membrana celular e inibindo a peroxidação lipídica, com conseqüente diminuição da formação de radicais livres. Está contra-indicada a administração em pacientes politraumatizados devido aos seus efeitos sistêmicos. Em última análise, a contribuição da farmacologia tem sido na prevenção do dano lesional secundário.

Em algumas situações, a lesão medular é prevista e é conseqüente a um determinado tratamento. Dentre estas situações, podemos citar a radioterapia para o tratamento de tumores, com lesões medulares decorrentes das lesões actínicas secundárias à radiação empregada.

Outra situação é a encontrada nos tratamentos cirúrgicos para tumores intra-espinais, sejam estes extramedulares intradurais (meningioma, neurofibroma etc.), intramedulares intradurais (gliomas, ependimoma etc.) ou cistos intra-espinais (cisto perineural, cisto de aracnóide, siringomielia etc.). Nestas situações o cirurgião, tanto no acesso para a lesão, quanto na própria retirada da mesma, pode provocar uma lesão medular.

Observa-se, na prática clínica, que muitos cirurgiões, baseados nos estudos prévios com a metilprednisolona como agente neuroprotetor, têm utilizado a mesma previamente a atos cirúrgicos com potencial risco para lesão medular associada.

Além de ser procedimento não isento de complicações, devidos aos efeitos sistêmicos da metilprednisolona, não se encontram na literatura estudos que dêem suporte ao mesmo.

Assim, este estudo tem como objetivo avaliar, em modelo experimental padronizado, os efeitos da metilprednisolona empregada previamente ao traumatismo medular, tanto em relação aos possíveis efeitos benéficos quanto às possíveis complicações associadas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Schmaus (1890) apud Yeo (1976) é o primeiro a realizar um estudo experimental em animais para avaliação da lesão da medula espinal, através da aplicação de um golpe em uma tábua presa nas costas de coelhos. Observa o aparecimento de áreas de degeneração e cavitação no interior da medula espinal.

Kirchgässer (1897) apud Dohrmann (1972) e Scagliosi (1898) apud Dormann (1972) estudam as alterações na medula espinal de coelhos submetidos a trauma na região dorsal e descrevem a degeneração da bainha de mielina e das células neuronais dos cornos anteriores da medula espinal, não havendo, entretanto, evidências de hemorragia intramedular ou fratura da coluna vertebral.

Allen (1911) é o primeiro pesquisador a criar um modelo experimental, reprodutível e quantificável de lesão da medula espinal, através da queda de peso direto sobre a dura-máter da medula espinal de cães. Esse modelo é conhecido como queda do peso. É capaz, assim, de produzir uma lesão dinâmica da medula espinal, quantificada por meio do produto do peso em gramas, pela altura em centímetros, e o resultado pelo cálculo é expresso em gramas-centímetros (g.cm).

Allen (1914) relata que um impacto produzido pela queda de 240g.cm produz lesão parcial da medula com recuperação melhor que aquele produzido pela queda de 400g.cm. Observa a presença de edema e hemorragia na substância cinzenta e branca da medula espinal nos primeiros 15 minutos, sendo que, após quatro horas do

trauma, há evidência de edema dos axônios na coluna lateral e posterior da substância branca da medula espinhal.

Salienta que a redução da pressão intramedular por mielotomia melhora a recuperação clínica dos animais deste estudo e sugere que o aumento da pressão intramedular causado pelo edema e hemorragia agrava a necrose isquêmica após a lesão traumática inicial.

McVeigh (1923) estuda as mudanças ocorridas em cães submetidos à lesão da medula espinal através de compressão digital no nível TVII-TVIII e medulas espinais obtidas de cadáveres frescos que também são submetidas à compressão entre os dedos. Observa edema na coluna lateral e anterior oito horas após a lesão que progride até o 2º dia. Hemorragia está presente na substância cinzenta e se estende acima e abaixo do nível da lesão e através da substância branca anterior e lateral. Acredita que as lesões experimentais produzidas em cães e em medulas espinais humanas obtidas de necropsia são comparáveis às lesões medulares que ocorrem nos homens em todos os aspectos, especialmente no que diz respeito aos fatores mecânicos que causam a lesão e às mudanças observadas nas alterações histológicas.

Holdsworth (1953) apud Holdsworth (1970) revoluciona o tratamento através da classificação das fraturas em estáveis e instáveis. Define as lesões completas como aquelas em que não há função neurológica nos níveis distais à lesão podendo ser reversíveis ou irreversíveis, não ocorrendo recuperação neurológica na persistência de déficit depois de finalizada a fase de choque medular.

Tarlov (1954) realiza estudo experimental em cães, produzindo compressão medular gradual, e estuda a perda e recuperação da função sensitiva e motora nestes

animais. Utiliza um balão que é introduzido dentro da região médio torácica, através de uma laminectomia de T12 e quando inflado produz a lesão medular compressiva extradural. Apresenta um método de avaliação da função locomotora em animais que sofreram lesão medular experimental e conclui que a recuperação funcional, após aumento gradual da compressão extradural, depende da duração do tempo de compressão selecionado para produzir a paralisia.

Woodward e Freeman (1956) estudam experimentalmente a isquemia da medula espinal em 27 cães adultos, através da secção dos vasos sanguíneos juntos com os pares de raízes nervosas de TVI a TXI, e os animais sacrificados entre uma e quatro semanas após a lesão. Encontram mudanças precoces na avaliação histológica. Na isquemia leve há a perda de neurônios no corno dorsal, seguido por redução da substância cinzenta posterior com separação passiva dos elementos neurais intersticiais e pela formação de cavitação. Em graus mais graves de isquemia, ocorre necrose através dos tratos longos e dos elementos neurais, e redução no número de neurônios, produzindo um quadro de mielomalácia com cavitação.

Ducker e Hamit (1969) avaliam tratamentos experimentais em cães submetidos à lesão experimental por queda de peso 25g de uma altura de 15cm. Comparam quatro grupos: grupo 1: controle sem tratamento específico; grupo 2: os animais que recebem tratamento com hipotermia local através da irrigação da ferida com solução salina circulando através de um tubo com água gelada a 0°C na taxa de 75 a 100 ml/min.; grupo 3: tratados com administração de dexametasona, aplicados por via intramuscular três horas após a lesão. A dose de dexametasona é de 0,5mg/kg/24h no dia do trauma e 0,24 mg/kg/24h no 1º dia de pós-operatório

administrada em doses divididas e doses 1,3mg/kg/24h de metilprednisolona nos sete dias subseqüentes; grupo 4: os animais recebem uma única dose de metilprednisolona de 8mg/kg intratecal administrada sob visão direta. A avaliação da recuperação neurológica é baseada na escala de função motora de Tarlov. Observam melhora estatisticamente significativa e melhor recuperação neurológica, nos grupos que recebem dexametasona intramuscular e hipotermia local.

Holdsworth (1970) publica artigo baseado na observação de mais de 1000 pacientes paraplégicos ou tetraplégicos traumáticos. Descreve a anatomia e os mecanismos de trauma, as características radiográficas e o diagnóstico da lesão neurológica. Mostra casos com fraturas estáveis, luxações e fraturas-luxações, rotacionais e por cisalhamento. Defende que a presença de sensibilidade sacral e de função motora distal à lesão são indicativos de uma lesão medular incompleta. Advoga, ainda, a redução aberta e a fixação interna das fraturas, com placas inseridas nos processos espinhosos, com o objetivo de restaurar o alinhamento da coluna e prover melhores condições de recuperação neurológica. Recomenda, ainda, cautela quanto à realização de laminectomia em pacientes com lesão medular, devido à falha em demonstrarem recuperação neurológica significativa e aumento do potencial desses pacientes de desenvolverem deformidades espinais tardias e piora do déficit neurológico.

Kelly Jr. et al. (1970) avaliam os efeitos da hipotermia local e os níveis de oxigênio tecidual em cães submetidos à lesão por impacto de queda de peso, concluindo que a hipotermia oferece uma proteção à medula espinal traumatizada pela diminuição da demanda metabólica.

Ducker et al. (1971) realizam estudo prospectivo, randomizado, com 32 macacos *Rhesus* pesando entre 4 a 8 kg, submetidos ao trauma por queda de peso de 10, 15, 20 e 25 g em forma de cilindro da altura de 20 cm, de forma que a resultante do impacto sobre a medula é de 200 g.cm, 300g.cm, 400 g.cm, 500 g.cm respectivamente. São divididos em quatro grupos de oito animais cada, sendo que cada grupo é randomizado novamente dentro de categorias agudas e subagudas, sendo os primeiros sacrificados seis horas após a lesão e os últimos cinco a seis dias após a lesão. Os achados patológicos na microscopia são graduados sem conhecimento da quantidade prévia de trauma. Nos animais categorizados de agudos, o edema, a diapedese, a hemorragia petequiral, a hemorragia em chama e o hematoma globular são graduados em leve, moderado e grave. Nos animais subagudos, o edema, a desmielinização, a necrose, a hemorragia, e a deformidade vascular também são similarmente graduados. Os animais subagudos também são submetidos a teste neurológico motor, sendo o exame sensitivo considerado não objetivo. Os níveis funcionais são graduados de zero a quatro, onde 0= capacidade de correr com pequeno ou com nenhum déficit motor, 1= a capacidade de ficar em pé, caminhar e correr embora com espasticidade, 2= bom movimento dos membros os quais permitem ao animal ficar em pé, mas não andar e 4 = paraplegia completa sem nenhum movimento voluntário. Observam que os vários graus de progressão do trauma medular desde uma pequena área de necrose central até uma extensa necrose central bem com necrose periférica são dependentes e diretamente relacionados à gravidade do trauma. Não concluem porque a substância cinzenta é mais vulnerável, mas que provavelmente a anatomia, o metabolismo celular, o suprimento arterial e a drenagem venosa contribuem para o efeito cumulativo da

fragilidade do centro da medula. Concluem que o desenvolvimento das mudanças patológicas não é paralelo às condições clínicas, pois enquanto pode haver melhora nos achados clínicos, as mudanças patológicas podem ser progressivas em gravidade por aproximadamente uma semana mesmo na presença de melhora clínica, que as mudanças são inicialmente mais proeminentes no centro da medula, mesmo sendo o trauma dirigido à sua superfície, e que a localização e a progressão da área medular lesada são dependentes da quantidade de trauma aplicado. Em traumas leves, onde o animal se recupera, as mudanças são somente centrais. Em traumas moderados, com paresia significativa, as mudanças também envolvem a substância branca adjacente. Em traumas graves, com resultante paraplegia, as mudanças envolvem toda a substância medular.

Fairholm e Turnbull (1971) estudam prospectivamente 34 coelhos, pesando entre 2 e 3 kg e cinco cães com modelo de contusão por queda de peso. Os animais são sacrificados em tempos variáveis desde 19 minutos até 14 dias após a lesão. Após o sacrifício, são infundidos com solução coloidal de bário e a microangiografia, feita sete a 14 dias após o trauma, define duas zonas de lesão na medula espinal. Na zona 1, localizada na porção pósterocentral da medula espinal, os capilares perdem progressivamente a capacidade de condução de sangue, e na zona 2, ao redor da zona 1, o padrão microvascular é normal. Concluem que a recuperação dos neurônios e axônios danificados depende da preservação da microcirculação.

Wagner Jr. et al. (1971) apresentam um estudo prospectivo com 27 macacos *Rhesus* adultos, utilizando o modelo de impacto por queda de peso de 20 g e de uma altura de 15 cm, gerando uma força de contusão de 300 g.cm ao nível de TX. Esses

animais (n=18) são divididos em cinco grupos e, os segmentos da medula sujeitos ao trauma são removidos em diferentes intervalos de tempo pós-contusão: 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora e 4 horas. Em nove animais, a laminectomia é realizada, mas a medula espinal não é traumatizada, servindo como grupo controle. Um adicional de quatro animais são traumatizados e mantidos vivos durante seis meses, durante os quais são realizados exames motores freqüentemente. Notam que, neste grupo, denominado de grupo crônico, todos os animais apresentam paralisia sensitiva e motora completa das extremidades inferiores. Dentro de 12 horas, movimentos isolados dos dedos são presentes, em torno de 24 horas, frágeis respostas de reação são obtidas aos estímulos dolorosos, entre sete e 10 dias, todos os animais são capazes de moverem-se facilmente em suas gaiolas e em seis meses, os animais são indistinguíveis dos não operados. Nas observações da microscopia em relação aos vasos sanguíneos, observa-se que em cinco minutos, a aparência da medula espinal não está grandemente alterada, estando os vasos com menos fibras musculares ao redor do canal central distendidos, mas intactos, e foram observados fluidos serosos, mas não formação de trombos. Em 15 minutos, rupturas isoladas de vasos mais finos, com extravasamento de eritrócitos para os espaços perivasculares, são observadas dentro da substância cinzenta central. Em 30 minutos, os eritrócitos e o fluido seroso são notados em discretas coleções nos espaços perivasculares e estendem-se dentro e ao redor do parênquima. Essas alterações concentram-se principalmente nas áreas do canal central, mas incluem também o corno dorsal. Entre uma e quatro horas, as hemorragias perivasculares, inicialmente discretas, começam a coalescer. Essas alterações não estão mais confinadas ao canal central e ao corno dorsal, mas são evidentes na substância branca. As alterações edematosas menos marcantes

observadas nas camadas mais internas da substância branca, em contraste com as mudanças hemorrágicas na substância cinzenta, explicam, em parte, a natureza transiente da paraplegia.

Kelly Jr. et al. (1972) publicam um estudo prospectivo em 40 cães adultos, sem raça definida, submetidos à lesão por impacto da medula espinal e divididos em quatro grupos: o grupo controle não recebe nenhuma terapia, excluídos os suportes necessários, o grupo 1, denominado de tratamento imediato, é exposto, uma hora após a lesão medular, a 100% de oxigênio à 2 ATA por quatro horas; o grupo 2, denominado de tratamento retardado, é submetido, após um período de quatro horas da lesão, às mesmas condições e tempo do grupo 1 e o grupo 3, denominado de tratamento seriado, recebe uma hora após a lesão, 100% de oxigênio à 2 ATA por quatro horas e esse tratamento é repetido em 24 e 48 horas. Encontram que no grupo não tratado, nove animais são incapazes de caminhar e desses, quatro ficam completamente paraplégicos. No grupo 1, sete cães apresentam boa recuperação e desses, quatro são considerados normais. No grupo 2, nove animais apresentam boa recuperação e um animal apresenta grande incapacidade e função urinária anormal. No grupo 3, a taxa de recuperação é idêntica ao grupo 2. Notam que a medula espinal traumatizada se torna muito hipóxica por um período de tempo de 30 minutos após lesão. Inalação com oxigênio a 100%, não afeta esses níveis, mas com oxigênio hiperbárico a 2 ATA é possível aumentar a PO_2 tecidual na medula espinal traumatizada.

Tator e Deecke (1973) estudam o valor da perfusão hipotérmica, normotérmica e da durotomia, em lesão experimental em macacos *Rhesus*. Observam que a

perfusão, hipotérmica ou normotérmica, melhora a recuperação neurológica mas, em compressões maiores, somente a perfusão normotérmica produz melhora significativa. Esses resultados indicam que não se pode afirmar que a perfusão exerça efeito benéfico, mas sugerem que a diálise de substâncias nocivas da medula espinal lesada tem um importante papel na recuperação neurológica.

De La Torre et al. (1975) estudam 32 cães submetidos à lesão experimental por queda de peso e avaliam o tratamento com drogas. Divide em quatro grupos de oito cães, que são submetidos a tratamento com solução salina, manitol, dexametasona e dimetil-sulfoxido. Encontram que a utilização de solução salina isotônica e de manitol são incapazes de reverter a paralisia. Cães que recebem dimetil-sulfoxido (6 de 8) ou dexametasona (2 de 8) têm recuperação parcial ou total da função.

Hansebout et al. (1975) estudam os efeitos da hipotermia e dos corticosteróides no tratamento de cães fêmeas adultas submetidas à lesão experimental da medula espinal pelo método de compressão com balão, por um período de tempo de uma hora. Os animais submetidos à experimentação são divididos em cinco grupos: somente laminectomia; laminectomia + aparato de troca de calor a 37°C; laminectomia + lesão; laminectomia + lesão + corticosteróide e laminectomia + lesão + resfriamento a 6°C por quatro horas. Observam, em sete semanas, que os grupos que recebem tratamento com qualquer corticosteróide ou com resfriamento, conseguem taxas de recuperação motora significativamente superiores aos do grupo não tratado, sendo que o grupo não tratado é incapaz de caminhar, enquanto ambos os grupos tratados são capazes. Os grupos que não sofrem

lesão necessitam de duas semanas para total recuperação motora, não havendo diferença significativa entre o grupo em que é realizada a laminectomia e o grupo que recebe o aparato de troca de calor a 37°C (normotérmico).

Yeo et al. (1975) estudando autópsias de pacientes que sofreram lesão medular, observam que, embora aparentemente intactos, os neurônios contundidos têm cessado sua função, que, através de métodos químicos ou físicos, pode ser parcialmente revertida. Procuram diferenciar a concussão, a contusão e a laceração em medulas recentemente lesadas em ovelhas, tentam reproduzir a lesão contusiva experimental em animais, a sequência dos eventos patológicos, e o uso de mielografia com isótopos para definir o grau de lesão da medula espinal. Observam uma tendência similar nos padrões de recuperação sensitiva e motora, sugerindo que a isquemia e a hipóxia poderiam contribuir significativamente na patogênese da paraplegia pós-traumática.

Dohrmann et al. (1976) descrevem um aparelho para produzir uma lesão experimental da medula espinal com monitoração do grau do trauma em relação à velocidade de deformação da medula espinal, ao impulso e à energia, podendo ser usado em diferentes tipos de animais, com maior acurácia para se poder correlacionar a quantidade de lesão, o grau de disfunção neurológica e a eficácia dos vários métodos de tratamento. Este aparelho consiste de um modelo de queda de peso com a haste contida dentro de um tubo de plástico transparente. A orientação vertical do impacto era assegurada através de um nível colocado no topo do tubo.

Dohrmann et al. (1976) realizam estudo experimental de lesão da medula espinal em 15 gatos, através de queda de peso no nível TV-TVI. Aplica-se um

trauma de 400g.cm, sendo dividido em cinco grupos, 5g x 80 cm; 10g x 40 cm; 20g x 20 cm; 40g x 10 cm e 80g x 5 cm. Comparam os parâmetros biomecânicos e o volume de lesão entre os cinco grupos, observando que o volume de lesão é diferente em todos grupos, embora todos tenham recebido a mesma lesão de 400g.cm. A quantidade de energia transferida para a medula é dependente de vários fatores como, massa, altura, velocidade e massa do impactor da medula. A energia absorvida pela medula é 100 vezes maior no grupo 4 que no grupo 1.

Kuchner e Hansebout (1976) avaliam cães com lesão experimental por compressão com balão extra-dural submetidos a tratamento isolado com dexametasona, hipotermia sem irrigação, ou associação de dexametasona e hipotermia sem irrigação. A hipotermia é realizada através da colocação de uma bolsa de *Silastic* local com conteúdo fluido resfriado entre $6^{\circ} \pm 3^{\circ}$, não havendo a possibilidade da irrigação contribuir para a recuperação funcional. Os resultados mostram que os grupos que recebem tratamentos isolados com dexametasona e hipotermia apresentam a capacidade de deambulação enquanto o grupo não tratado não pode caminhar. O grupo que recebe tratamento associado de hipotermia e dexametasona é o que apresenta melhor índice de recuperação motora final.

Rivlin e Tator (1977) desenvolvem um novo método de avaliação clínica da função motora em ratos, que consiste em colocar o rato em plano inclinado. O método permite o ajuste da inclinação em vários graus e a verificação do plano do ângulo mínimo que o animal pode manter-se na posição sem cair. Esse método é utilizado para quantificar a função motora em ratos normais (controle) e ratos sujeitos à mielectomia e demonstra consistente diferença entre os dois grupos.

Yeo et al. (1977) estudam os resultados das mudanças patológicas associadas com a necrose central pós-traumática da medula espinal em ovelhas submetidas à lesão experimental pelo modelo de queda de peso. Foram divididos em: grupo controle, isto é, sem tratamento algum a não ser os cuidados básicos, e animais tratados com metilprednisolona intratecal, alfa metil paratirosina e oxigênio hiperbárico. Encontram no grupo sem tratamento, intensa necrose da substância cinzenta central e microcistos e desmielinização ao redor e na substância branca com vários graus de fibrose, gliose, e extensa degeneração cística central. Apesar do intenso grau de degeneração, havia recuperação motora significativa, com todos animais desse grupo recuperando pelo menos os movimentos antigravitacionais. Nenhum animal do grupo controle ou dos grupos tratados obtém recuperação motora total. No grupo dos animais tratados com metilprednisolona intratecal, o grau de degeneração cística central e desmielinização parecia idêntico ao grupo não tratado. No grupo tratado com alfa metil paratirosina, há recuperação motora significativa e menor degeneração cística central e microcistos na substância branca. Nos animais tratados com oxigênio terapia hiperbárica, há melhora significativa da recuperação motora por um período de oito semanas depois da lesão e menor degeneração cística central e formação de microcistos nas colunas anterior e lateral. Na análise estatística, há melhora em todas as semanas com exceção da quinta semana. A possível aplicação clínica da alfa metil paratirosina é impedida, pela sua toxicidade renal, em pacientes com lesão medular.

Balentine (1978) estuda a lesão necrótica da medula espinal em ratos adultos, submetidos à lesão experimental pelo modelo de queda de peso através da análise da mudança patológica seqüencial das alterações dos vasos sanguíneos e da necrose

tecidual da medula espinal, em períodos de tempo que variam de três a cinco minutos após a lesão, 30 minutos, uma hora, duas horas, quatro horas, oito horas, e uma semana. Esse estudo confirma a evolução seqüencial do desenvolvimento de necrose primeiro na substância cinzenta e depois na substância branca. A observação dos vasos sanguíneos demonstra que a necrose é devida à ruptura dos vasos sanguíneos, tanto artérias quanto veias principais, lesadas imediatamente após o trauma.

Ducker et al. (1978) medem os níveis de oxigênio tecidual e fluxo sanguíneo na medula em cães paraplégicos decorrentes de trauma medular. Documentam que a lesão medular produz grande diminuição do fluxo sanguíneo. Sugerem que os esforços terapêuticos devem ter como objetivo melhorar a oxigenação e aumentar o fluxo sanguíneo para medula.

Rivlin e Tator (1978) estudam prospectivamente o fluxo sanguíneo regional em 12 ratos *Wistar*, pesando entre 350 e 400g, sendo o fluxo regional medido em cinco minutos, duas horas e 24 horas após a lesão. Utilizam a técnica radiográfica com C-antipirina para avaliação do fluxo sanguíneo. Concluem que lesões por compressão medular grave produzem grave isquemia pós-traumática na medula espinal, por pelo menos 24 horas. Descrevem um novo modelo de lesão medular através da utilização de cliques de aneurisma modificados para compressão, colocados ao redor da medula extra-duralmente.

Tator e Rowed (1979) salientam a importância da lesão medular secundária após o trauma inicial. Afirmam que, raramente, uma lesão medular causa transecção anatômica na medula, embora freqüentemente cause paralisia completa ou incompleta da função medular.

Descrivem que, inicialmente, pelo exame histológico da medula, são observados pontos hemorrágicos na substância cinzenta e edema na substância branca. Semanas após a lesão inicial, é observada a substituição do tecido medular necrótico por cavidades. Observam haver dois tipos de lesão vascular após o trauma medular. O primeiro é a lesão imediata de pequenos vasos medulares, especialmente vênulas da substância cinzenta, o que resulta em hemorragia poucos minutos após o trauma. O segundo tipo de lesão vascular é mais destrutivo com isquemia grave e infarto da substância branca e cinzenta.

Acreditam na hipótese de que o tratamento deve ser direcionado para a fase aguda, a fim de impedir o infarto secundário e melhorar a recuperação.

Citam os corticoesteróides como drogas a serem utilizadas para impedir a cascata secundária de lesões após o trauma medular agudo.

Lohse et al. (1980) realizam estudo experimental em 24 gatos que são submetidos a lesão medular na coluna torácica ao nível de T5, aplicando forças de 100 g.cm ou 260 g.cm. O fluxo sanguíneo na medula foi medido pelo método de clearance de hidrogênio antes e após a lesão.

Observam, após o trauma, aumento da pressão sanguínea (137%) e arritmia cardíaca em todos os grupos. Demonstram que, no grupo com trauma de 100 g.cm, não foi observada diferença significativa quanto ao fluxo sanguíneo, enquanto no grupo com trauma de 260 g.cm, houve aumento do fluxo sanguíneo nas seis horas posteriores ao trauma.

Concluem não existir isquemia da substância branca nas lesões medulares, assim, a paraplegia resultante deve ser transitória. Estes dados suportam o conceito de que a isquemia da substância branca na fase aguda de um trauma medular grave deve estar relacionada à lesão secundária e, subseqüentemente, à paraplegia permanente.

Means et al. (1981) comprovam, em estudo experimental de lesão medular aguda em gatos, que a metilprednisolona apresenta efeitos benéficos quanto à recuperação motora. Avaliam parâmetros morfométricos da medula lesada, porcentagem de área cavitária e porcentagem ocupada pela cavidade na medula, e comparam estes parâmetros com a avaliação da recuperação neurológica dos animais. Observam uma correlação negativa entre o tamanho da cavidade e o índice de recuperação motora.

De La Torre (1981), em artigo de revisão sobre as estratégias de pesquisa básica e aplicada sobre lesão medular, analisa os modelos experimentais, as técnicas de avaliação do trauma medular experimental, os estudos neurofisiológicos e morfológicos, o mecanismo vascular e o fluxo sanguíneo medular, as mudanças bioquímicas e metabólicas e o tratamento da lesão medular aguda e crônica. Na lesão crônica, destaca três possíveis caminhos de regeneração axonal no sistema nervoso central: 1- brotamento colateral, 2- plasticidade e 3- regeneração axonal. Refere que a regeneração pode ser conseguida através de transplante de tecido neural (células fetais) e o uso de fatores de crescimento. Cita a existência de evidências de sobrevivência e crescimento dessas células.

Young et al. (1981) estudam prospectivamente os efeitos do naloxene em 25 gatos adultos submetidos à lesão traumática da medula espinal em modelos de impacto por queda de peso. Estudam o fluxo sanguíneo da medula espinal através da depuração de hidrogênio, observando melhora do fluxo sanguíneo no grupo tratado com naloxene em comparação com o grupo controle sem tratamento e com grupo que recebe solução salina. Observam também a preservação da função sensitiva e o potencial evocado somato-sensitivo, registrados de eletrodos bipolares no espaço epidural, em 24 horas pós-lesão no grupo tratado com naloxene.

Anderson et al. (1982) produz estudo prospectivo em gatos adultos fêmeas, com lesão medular produzida e divididos em três grupos. O primeiro grupo não recebe tratamento, o segundo é tratado com altas doses de metilprednisolona (15mg/Kg/24h) e o terceiro, com megadose de metilprednisolona (60mg/Kg/24h). Avaliam a microvascularização no sítio da lesão por método indireto, através do uso de carbono coloidal. Observam que o grupo tratado com altas doses de metilprednisolona apresenta preservação substancial da perfusão microvascular quando comparado com o grupo não tratado.

Young e Flamm (1982) relata estudo prospectivo com 15 gatos adultos submetidos à lesão traumática pelo modelo de contusão de impacto por queda de peso de 400 gm.cm. Os animais foram divididos em três grupos: 1º grupo sem tratamento, 2º grupo recebe a dose de 15mg/Kg de succinato sódico de metilprednisolona 45 minutos após a lesão; e o 3º grupo que recebe a dose de 30mg/Kg de succinato sódico de metilprednisolona. Observam que no grupo tratado com altas doses de metilprednisolona (30mg/Kg) ocorre melhora do fluxo sanguíneo,

na primeira hora após lesão, medido pela depuração de hidrogênio. Há melhora da concentração de cálcio extracelular e do potencial evocado somato-sensitivo ativado pela estimulação do nervo ciático e registrados bipolarmente por eletrodos colocados no espaço epidural sobre o córtex somato-sensitivo. Esses dados sugerem que o tratamento com altas doses de corticosteróide causa dilatação dos vasos sanguíneos da medula espinal. O conseqüente aumento do fluxo sanguíneo pode explicar os efeitos benéficos das altas doses de corticosteróide na recuperação funcional.

Braughler e Hall (1983) publicam estudo de lesão medular em 87 gatos submetidos a laminectomia de L2 a L5. Aplicam uma carga compressiva de 400g.cm para produzir lesão medular. Alguns animais recebem uma dose única de succinato de metilprednisolona, que varia de 7,5 a 60 mg/kg, em bolo, 30min. após a lesão.

Relatam que a lesão produz uma rápida elevação do lactato, duas vezes maior, após cinco minutos, e três vezes maior, após duas horas, sendo que seu valor declina após quatro e oito horas da lesão. O piruvato diminui na primeira hora após a lesão, mas sua concentração aumenta entre duas e oito horas depois. Sugerem que o uso do corticóide pode melhorar o fluxo sanguíneo nas lesões medulares.

Ford (1983) modifica o método de lesão medular descrito por Allen (1911) e realiza lesão medular em 33 gatos. Avalia a recuperação funcional dos membros inferiores e observa os achados histológicos da medula lesada após 6 semanas do trauma medular. Comprova que as modificações realizadas no método de ALLEN são efetivas para causar lesão medular e que este método reduz as variáveis. Revela que a metodologia utilizada para avaliar a recuperação motora não satisfaz as necessidades de uma avaliação completa e detalhada.

Hall et al. (1984) estudam o fluxo sanguíneo medular em 25 gatos adultos submetidos à contusão medular padronizada ao nível de L3. Após a lesão, realizam estudo do fluxo sanguíneo em todos os gatos 10 minutos, 30 minutos, uma, duas, três e quatro horas após a lesão. Estes animais são divididos em quatro grupos, o primeiro sendo o grupo controle, o segundo recebendo 15mg/Kg de metilprednisolona, o terceiro recebendo 30mg/kg e o quarto recebendo 60mg/Kg de metilprednisolona. Demonstram que os gatos que recebem 30mg/Kg mantêm o fluxo sanguíneo dentro da normalidade, os que recebem 15mg/Kg apresentam benefícios menores e aqueles que recebem 60mg/Kg não têm nenhum benefício. Concluem que o corticóide diminui a isquemia medular pós-traumática, quando administrado na dose de 30mg/Kg, dentro das primeiras horas após o trauma, mas não reverte a isquemia, quando esta já ocorreu.

Anderson et al. (1985) descrevem uma série de eventos fisiopatológicos que ocorrem no tecido medular lesado, subseqüentes ao trauma raquimedular agudo, que acarretam destruição tecidual e paraplegia. Citam, como evento secundário ao trauma medular agudo, a necrose hemorrágica, isquemia, edema, inflamação, perda de cálcio no espaço extracelular e perda de potássio no espaço intracelular. Lembram a importância da peroxidação lipídica que pode lesar, direta e indiretamente, as células.

Afirmam que a metilprednisolona, em estudos experimentais de lesão medular em animais, tem sido efetiva na prevenção da ocorrência desta cascata de eventos secundários que leva à lesão medular atenuando a ação de radicais livres de oxigênio na peroxidação lipídica.

Bracken et al. (1985) publicam um estudo multicêntrico da eficácia do uso de altas doses de metilprednisolona (1000mg em bolo e diariamente por 10 dias) comparado com a dose padronizada (100mg em bolo e diariamente por 10 dias). Relatam não haver diferença significativa entre os grupos em relação a recuperação motora num prazo de seis semanas e seis meses após a lesão. Observam que houve maior índice de infecção no trato cirúrgico e maior mortalidade no grupo que recebeu altas doses, mas ressaltam que estes dados não foram estatisticamente significativos.

Gale et al. (1985) realizam um estudo da análise comportamental em ratos submetidos à lesão por contusão da medula espinal. Com base nessas análises, desenvolvem um protocolo para avaliação do déficit funcional. Esse protocolo é administrado por pessoas treinadas e consiste de uma contagem comportamental combinada de vários testes em que o componente principal da avaliação comportamental é a escala motora, que envolve uma avaliação passiva das patas traseiras (membros posteriores) dos animais e consiste de uma versão modificada da escala descrita por Tarlov. Os animais são observados em campo aberto, sendo cada membro traseiro observado individualmente e graduado em: 0- nenhum movimento das patas traseiras e nem suporte de peso; 1- movimento fracamente perceptível dos membros traseiros, mas sem suporte de peso; 2- movimentos freqüentes e/ou vigorosos nos membros traseiros mas sem suporte de peso; 3- suporte de peso nos membros traseiros, podendo trocar um ou dois passos; 4- caminhar com déficit leve; 5- caminhar normal.

Noble e Wrathall (1985) estudam as alterações morfométricas da medula espinal em 51 ratos *Sprague-Dawley* submetidos à lesão medular experimental pela

técnica de queda de peso de 10 gramas, da altura de 2,5; 5,0; 7,5; 10; 17,5 cm. Quatro semanas após a lesão, o volume, a extensão e as dimensões do tecido no epicentro da lesão (área de lesão, área da substância branca e área da substância cinzenta), são medidos e correlacionados com a altura da queda do peso e os resultados do déficit comportamental, motor e sensitivo. Concluem que a técnica de queda de peso pode ser usada em ratos para produzir lesões leves, moderadas e graves, sendo, portanto, uma técnica apropriada para prover estudos em modelos de ratos para estudar a lesão contusa da medula espinal.

Albin e White (1987) demonstram que o trauma da medula espinal, além da destruição mecânica, desencadeia hemorragia, diminuição da perfusão, hipóxia tecidual, edema e finalmente necrose dos elementos neurais.

Bresnahan et al. (1987) desenvolvem um aparelho de impacção com função eletromecânica. Afirmam que a lesão medular experimental reprodutível depende de uma resposta imediata das propriedades mecânicas do impacto. Documentam que o aparelho apresentado é sensível às características do tecido lesado e permite manipulação contínua da força de impacto ou do deslocamento tecidual. Descrevem os resultados anatômicos e comportamentais de um determinado índice de impacto e examinam a capacidade do aparelho em produzir uma lesão traumática consistente.

Janssen e Hansebout (1987), em revisão sistemática da literatura, analisam a patogênese da lesão da medula espinal e os novos tratamentos químicos e físicos que podem diminuir o dano secundário entre eles e encontram que a terapia com oxigênio hiperbárico tem demonstrado resultados positivos. A razão pela qual é explicada essa abordagem é que a diminuição da perfusão tecidual pode ser

compensada pelo aumento dos níveis de oxigênio no sangue. Concluem que, nos casos onde ocorre cessação completa da circulação na área medular lesada, esse tratamento pode não ser efetivo.

Noble e Wrathall (1987) descrevem um modelo de aparelho para provocar lesão experimental por contusão da medula espinal em ratos, utilizando a queda de peso. Utilizam pinças para fixar os processos espinhosos adjacentes e com essas modificações diminuem as variáveis que podem produzir lesões assimétricas, sendo a energia de impacto direcionada mais para a medula espinal, com diminuição do efeito de amortecedor da caixa torácica, da coluna vertebral e dos movimentos respiratórios, tornando-se um dos modelos mais utilizados atualmente.

Barros Filho et al. (1990) em estudo retrospectivo, analisam 428 casos de trauma raquimedular no período de 1982 a 1987, encontrando como etiologias mais freqüentes os ferimentos por arma de fogo (36,7%), acidentes em água rasa (7,7%), queda de objeto sobre o paciente (4,2%), e outras causas (2,3%). Chama a atenção o fato de que neste estudo, 28% dos pacientes são atendidos nas primeiras 6 horas, 33,3% são atendidos no hospital um dia após o acidente e 3,3% são atendidos no hospital com 15 dias ou mais do acidente.

Goldberger et al. (1990) propõem critérios para avaliação da recuperação da função depois da lesão da medula espinal, através de métodos comportamentais. Discutem a necessidade de reconhecimento das capacidades comportamentais específicas não conhecidas durante a recuperação neurológica e que, na maioria dos casos, não se distingue entre a recuperação das funções inicialmente perdidas e o uso de mecanismos de compensação. Acreditam e sugerem métodos pelos quais se possa

analisar a natureza particular do déficit comportamental e definir qual capacidade comportamental retorna e qual falha em se recuperar. A melhora da análise comportamental leva a hipóteses sobre os mecanismos de recuperação da função.

Geisler et al. (1991) realizam estudo prospectivo randomizado duplo-cego com gangliosídeo GM-1 em 37 pacientes com lesão medular. Desses, 34 completam o experimento. Iniciam o tratamento nas primeiras 72 horas após a lesão e passam a receber diariamente 100mg de GM-1 por um período de 18 a 32 dias. São avaliados pela escala de Frankel e pela American Spine Injury Association – ASIA. Observam, neste estudo, evidências de que o GM-1 aumenta a recuperação da função neurológica após 1 ano. Sugerem que um grande estudo deva ser conduzido antes de se considerar eficaz e seguro o tratamento da lesão medular com GM-1.

Tator e Fehlings (1991) procuram comprovar, através de estudos microangiográficos, a lesão isquêmica secundária através do uso da angiograma de carbono coloidal com o uso de vários modelos de lesão medular experimental, na tentativa de simular o trauma medular agudo tipo compressão: modelo de queda de peso, tração e o grampo de compressão extra-dural. Concluem que existem fortes evidências de que a isquemia pós-traumática é um importante mecanismo de lesão secundária e que esses efeitos vasculares podem ser tratados.

Behrmann et al. (1992) apresentam um aparelho para produzir contusão medular em ratos que são comparados com um outro grupo que foi submetido a secção anatômica da medula. Realizam análise histológica e comportamental da recuperação locomotora pela modificação da escala de Tarlov. Observam a marcha dos animais em campo aberto, em plano inclinado e em grade. Demonstram

haver recuperação funcional nos animais que sofreram contusão medular quando com parado com o grupo que foi submetido à secção.

Bracken et al. (1992), em estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego, multicêntrico, em pacientes com lesão medular aguda, observam que os pacientes que recebem metilprednisolona dentro de oito horas após a lesão, na dose de 30 mg/kg em bolo na primeira hora e 5,4 mg/kg/h por 23 horas, apresentam melhora da função neurológica nas primeiras seis semanas e no sexto mês. O grupo tratado com naloxene (5,4 mg/kg em bolo na primeira hora e 4,0 mg/kg/h por 23 horas), não apresenta recuperação significativamente maior. Os pacientes tratados após oito horas, recebendo metilprednisolona ou naloxene, apresentam menor recuperação da função motora quando comparados ao grupo placebo. Concluem que o tratamento com a dose utilizada de metilprednisolona está indicada para o trauma agudo da medula espinal, mas somente se iniciado dentro de oito horas da lesão.

Hall (1992) relata que um regime intensivo de metilprednisolona em altas doses dentro de oito horas após o trauma medular tem melhorado a recuperação funcional de pacientes e de animais de laboratório. Ressalta que a ação neuroprotetora da metilprednisolona envolve a capacidade de inibir os radicais livres de oxigênio induzidos pela peroxidação lipídica e discute a possibilidade de novas drogas ou a associação de drogas diminuir os efeitos colaterais do uso de altas doses de metilprednisolona.

Nockels e Young (1992), em artigo sobre estratégias farmacológicas no tratamento experimental da lesão medular espinal aguda e crônica, relatam que, na fase crônica, a mielina possui fatores de inibição da regeneração axonal. O bloqueio

destes fatores aumenta a regeneração da medula espinal, constituindo-se em nova possibilidade terapêutica.

Basso et al. (1993), em nota publicada na Sociedade de Neurociência, afirmam que existe recuperação incompleta da função motora em ratos. Sugerem que grandes lesões do SNC resultam em recuperação incompleta da coordenação com concomitante perda dos neurônios vestibuloespinais e proprioceptivos.

Bracken e Holford (1993) publicam artigo em que apresentam os resultados observados pela *National Acute Spinal Cord Injury Study* (NASCIS). Relatam que o NASCIS1 (1977) conduziu estudo randomizado e controlado das terapias que podem melhorar a lesão medular e o NASCIS2 comparou o uso de altas doses de metilprednisolona ou nalaxone ao placebo e reportou que pacientes que iniciaram tratamento dentro das primeiras oito horas tiveram melhora significativa da função motora com seis semanas, seis meses e um ano após a lesão.

Afirmam que a metilprednisolona, aplicada precocemente após lesão medular, melhorou a função motora de pacientes diagnosticados inicialmente com lesão completa e incompleta. Destacam que o tratamento tardio com metilprednisolona está associado à diminuição da recuperação neurológica.

Concluem que esta análise suporta o uso de metilprednisolona em altas doses para o tratamento das lesões medulares no trauma raquimedular.

Constantini e Young (1994) estudam os efeitos do tratamento com a metilprednisolona, gangliosídeo GM1 e da associação metilprednisolona e gangliosídeo GM1, em modelos experimentais de lesão medular por queda de peso

em ratos. O peso utilizado é de 10 g e alturas de 12,5 mm, 25 mm e 50 mm, ao nível de TX. A metilprednisolona administrada em dose única de 30mg/kg, cinco minutos após a lesão, teve efeito significativo em reduzir o volume da lesão e impedir a hiponatremia induzida pela lesão. O GM1 administrado isoladamente na dose de 10 a 30mg/kg teve pouco ou nenhum efeito em qualquer das variáveis medidas. A associação da metilprednisolona e GM1 bloqueia os efeitos da metilprednisolona. Concluem, portanto, que a GM1 antagoniza ambos efeitos central e periférico da metilprednisolona em ratos com lesão medular, recomendando que não seja usado concomitantemente para tratar lesão medular aguda em humanos até que essa interação seja mais bem conhecida.

Basso et al. (1995) verificam o comportamento depois da lesão medular contusa em ratos fazendo uma modificação da escala locomotora desenvolvida por Tarlov et al. (1953). Os dados obtidos indicam que a escala é válida e é uma medida preditiva da recuperação motora, é capaz de distinguir resultados comportamentais devido às diferentes lesões e de prever alterações anatômicas no centro da lesão. Os testes inter-ratos indicam que examinadores com experiência na sua aplicação conseguem aplicá-la consistentemente e obter resultados similares. A escala BBB oferece aos avaliadores uma medida mais discriminatória dos resultados comportamentais para avaliar o tratamento depois da lesão da medula espinal.

Basso et al. (1996) padronizam um aparelho, o *New York University*, desenhado para realizar lesão medular contusa em ratos. Citam o teste BBB como sendo mais sensível que os demais até então descritos para avaliar a recuperação da

função locomotora em ratos que sofreram lesão medular contusa. Demonstram que o sistema NYU Impactor[®] permite produzir uma contusão medular graduada, consistente e reprodutível 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 uma maior quantidade de tecido poupado está diretamente relacionado com melhor função locomotora final quando aplicada a escala BBB. Documentam aumento dos movimentos dos membros inferiores em duas semanas após lesão compressiva ou por transecção medular.

Concluem que a escala BBB é aplicável, após a utilização do sistema NYU Impactor[®], na análise da recuperação da função locomotora em ratos com lesão medular contusa.

Chen et al. (1996) investigam se a regeneração axonal em enxertos de células de Schwann é aumentada quando a metilprednisolona é administrada no momento da transecção medular e implantação de células de Schwann. Nos resultados deste estudo, evidenciam que a metilprednisolona melhora a regeneração axonal na medula com enxerto de células de Schwann.

Schwab e Bartholdi (1996) realizam estudo de revisão dos conhecimentos dos mecanismos envolvidos na degeneração e regeneração axonal após lesão da medula espinal, particularmente, em mamíferos e humanos. Concluem que as pesquisas endereçadas ao tratamento da lesão primária e secundária podem, no futuro, levar a uma alta porcentagem de lesões incompletas, possibilitando melhores condições de reabilitação. Portanto, a redução do dano secundário associado com a otimização do

uso das conexões remanescentes, aumento da plasticidade e regeneração à longa distância dos axônios lesados são os ideais a serem obtidos no futuro.

Bracken et al. (1997), em ensaio clínico randomizado duplo-cego, multicêntrico, em 499 pacientes com lesão medular aguda diagnosticada dentro das primeiras oito horas, e comparam a eficácia da metilprednisolona administrada por 24 e 48 horas, e do mesilato de tirilazade administrado por 48 horas. Concluem que pacientes com lesão medular aguda que recebem metilprednisolona nas primeiras três horas devem manter o tratamento por 24 horas, enquanto naqueles que iniciam o tratamento entre três e oito horas, a metilprednisolona deve ser mantida por 48 horas. Os pacientes que são tratados com mesilato de tirilazade, têm taxas equivalentes de recuperação motora às taxas daqueles que recebem metilprednisolona por 24 horas.

Bregman et al. (1997) realizam estudo experimental em ratos adultos submetidos a hemiseção medular nos níveis cervical e torácico, e transplantados com tecido medular espinal fetal e fatores neurotróficos injetados no sítio da lesão. Observam, neste estudo, um claro aumento das interações entre as células hospedeiras do sistema nervoso central e o tecido medular fetal transplantado. Os fatores neurotróficos podem exercer uma influência no tropismo dos neurônios maduros do sistema nervoso central, aumentando a extensão do crescimento axonal das células transplantadas e a densidade destas (número e ramificações das fibras), levando, em alguns aspectos, à melhora da função locomotora.

Gebrin et al. (1997) revisam as pesquisas existentes sobre drogas para tratamento da lesão medular aguda e descrevem as principais substâncias endógenas que participam do dano medular secundário e as drogas, em estudo, para combater

este efeito. Indicam a metilprednisolona como droga com efeitos positivos comprovados e citam as pesquisas promissoras com aminoesteróides. Encerram o artigo ressaltando a grande importância e contribuição dos estudos multicêntricos NASCIS I, II e III, desenvolvidos na América do Norte.

Bracken et al. (1998) realizam ensaio clínico randomizado, duplo-cego, com intuito de comparar a recuperação funcional e neurológica e as taxas de morbidade e mortalidade um ano após a lesão medular aguda, em pacientes que recebem metilprednisolona em 24 horas e 48 horas e mesilato de tirilazade 48 horas. Observam a recuperação neurológica similar nos três grupos de pacientes que recebem o tratamento dentro das primeiras três horas da lesão. Nos pacientes que recebem tratamento após três horas da lesão, o grupo que recebe metilprednisolona por 24 horas apresenta menor recuperação da função motora, mas, os que recebem metilprednisolona por 48 horas, apresentam maior recuperação da função motora em um ano. O grupo que recebe mesilato de tirilazade teve recuperação semelhante àqueles que recebem metilprednisolona por 24 horas. As taxas de mortalidade e morbidade são iguais nos três grupos. Concluem que, nos pacientes que iniciam o tratamento dentro das primeiras três horas, a manutenção do tratamento por 24 horas é apropriada. Nos pacientes que iniciam a terapia três a oito horas após a lesão o regime de tratamento deve ser mantido por 48 horas a menos que haja contra-indicações clínicas.

Ramón-Cueto et al. (1998) estudam o transplante de células olfatórias gliais, em ratos adultos submetidos à secção medular. Encontram que as células olfatórias, transplantadas através de pontes de células de Schwann, atravessam a fibrose glial e

migram longitudinalmente e lateralmente na distância máxima de 1,5cm através das substâncias branca e cinzenta. Crescimento à longa distância, de pelo menos 2,5cm, ocorre na porção rostral da medula espinal. Concluem que esta forma de estudo criará novas possibilidades para tratamento das lesões do sistema nervoso central que requeiram regeneração axonal.

Amar e Levy (1999) revisam a patogênese e estratégias farmacológicas para atenuar o dano secundário na lesão medular aguda. Através de observações em modelos experimentais e clínicos, acreditam que os conceitos de lesão primária e secundária estão bem estabelecidos e têm amplas implicações no tratamento da lesão medular aguda. Avaliam os efeitos de vários agentes farmacológicos, entre eles dos glicocorticóides, laseróides, gangliosídeos, antagonistas dos opióides, bloqueadores dos canais de cálcio, antagonistas dos receptores do glutamato, agentes antioxidantes, radicais livres e outros agentes farmacológicos em experimentos em modelos animais e humanos. Concluem que, dentro de um espaço de tempo limitado, esses agentes podem ser úteis e enfatizam que futuramente é provável que a terapia envolva a combinação de vários desses agentes.

Delamarter e Coyle (1999) relatam que o NASCIS III concluiu que a metilprednisolona melhora a recuperação neurológica após lesão medular aguda e recomendam que os pacientes que recebem metilprednisolona dentro de três horas da lesão inicial devem ser mantidos em regime de tratamento por 24 horas. Quando a terapia é iniciada entre três a oito horas após a lesão, deve ser mantida por 48 horas. Adotam, como conduta, o uso da metilprednisolona e a imediata redução e estabilização da lesão que causa compressão medular.

Jeffery e Blakemore (1999) afirmam que, até o momento, apenas a cirurgia descompressiva e o uso de metilprednisolona têm se mostrado eficaz no tratamento do trauma medular agudo.

Rodrigues (1999) padroniza um modelo de lesão de medula espinhal em ratos Wistar e utiliza equipamento computadorizado para impacto por queda de peso de acordo com parâmetros determinados pelo *Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study* – MASCIS. Verifica a existência de correlação estatisticamente significativa entre o volume de lesão e os parâmetros mecânicos. Conclui que o modelo é capaz de gerar lesões medulares padronizadas em ratos.

Vialle et al. (1999), em estudo experimental de lesão medular em ratos *Long-Evans*, utilizando o modelo de queda de peso com o NYU Impactor[®], avaliam a histologia da lesão da medula espinhal dos ratos sacrificados a cada seis horas até 48 horas após a lesão. Utilizam a coloração com hematoxilina – eosina. Observam, nos ratos sacrificados, em seis horas, uma redução volumétrica dos neurônios, em 24 horas pós-lesão, redução no número de neurônios e indícios de vacuolização e, em 48 horas, intensa degeneração neuronal e vacuolização.

Yoon et al. (1999) comprovam que, em lesão medular produzida pelo sistema NYU Impactor[®], uma dose única de 30mg/Kg de metilprednisolona, aplicada 10 minutos após o trauma medular, reduz significativamente o volume de lesão em 24 horas, quando comparado com o grupo controle. Afirmam que, no modelo de lesão medular produzido pelo sistema NYU Impactor[®], exista uma janela terapêutica muito curta.

Bracken (2000) apresenta uma revisão randomizada dos agentes farmacológicos para o tratamento da lesão medular aguda. Conclui, nesta revisão,

que altas doses de metilprednisolona são a única terapia farmacológica que mostra ter eficácia no tratamento da lesão medular aguda.

Debrovner (2000) publica artigo, em meio eletrônico, sobre o uso de células tronco, células primitivas capazes de formar muitos tipos diferentes de células do corpo, como chaves para a cura de doenças fatais ou crônicas. Define os diferentes tipos de células, sítio e momento da evolução nos quais são encontradas, suas características, processo de especialização e de crescimento tecidual e possíveis aplicações: células tronco, totipotentes, pluripotentes e multipotentes. Aborda aspectos éticos, morais e religiosos, riscos e controvérsias. Refere algumas recomendações do “American Association for the Advancement of Science” e do “Institute for Civil Liberty” quanto ao uso dessa tecnologia. Chama a atenção quanto a possíveis riscos de criação de expectativas miraculosas e dos dilemas morais.

Short et al. (2000) realizam revisão sistemática da literatura utilizando critérios de inclusão, exclusão e validade pré-definidos. Fica evidente, nesta revisão sistemática, não haver suporte para o uso de altas doses de metilprednisolona na lesão medular aguda a fim de melhorar a recuperação neurológica.

Blight e Zimber (2001) chamam atenção para o fato de não haver drogas específicas que ajam diretamente na lesão medular. Discutem a importância de drogas que possam evitar a cascata de efeitos secundários após o trauma medular e ressaltam a importância da metilprednisolona como droga de escolha.

Bracken (2001) utiliza o método de medicina baseada em evidências para verificar a eficácia do uso de metilprednisolona no trauma medular agudo. Baseado

em evidências, conclui que a metilprednisolona, quando utilizada até oito horas após lesão medular aguda, é uma terapia segura e efetiva, podendo resultar em importante recuperação funcional clínica de alguns pacientes. Sugere que novos estudos de outras drogas ou drogas de uso concomitante com a metilprednisolona devem ser estimulados.

Hall (2001) demonstra que a maioria das lesões medulares não são lesões completas e que parte da substância branca permanece íntegra. Salienta que a recuperação neurológica depende da preservação das estruturas que permaneceram íntegras após o trauma, principalmente axônios descendentes e ascendentes da substância branca e de sua mielinização normal. Discute que as estratégias farmacológicas enfocam o controle do processo de lesão secundária, primariamente a peroxidação lipídica e a manutenção do máximo de substância branca remanescente possível. Afirma que a metilprednisolona é a única droga que, em altas doses, melhora a função neurológica em animais.

Hurlbert (2001) revisa a literatura com métodos de medicina baseada em evidência para avaliar o uso de metilprednisolona na lesão medular aguda. Seus resultados mostram que a metilprednisolona não deve ser recomendada como um uso rotineiro na lesão medular aguda não penetrante. O uso prolongado pode ser de risco para o paciente e considera a metilprednisolona uma droga sob investigação.

Legos et al. (2001) estudam os efeitos da metilprednisolona (MP) e da solução salina nos resultados funcionais e de fluxo sanguíneo após lesão da medula. Mostram que a solução salina pode aumentar a liberação de MP e prevenir

imunossupressão, levando à melhora da função neurológica e elevando os índices de sobrevivência, após a lesão medular.

Taoka e Okajima (2001) salientam a importância dos eventos secundários ao trauma medular, como eventos vasculares progressivos e dano celular endotelial. Enfatizam que poucos agentes farmacológicos possuem ação no sistema nervoso central lesado e destacam a ação da MP e do GM-1, dizendo ser estas as únicas duas drogas que estão disponíveis para o uso clínico.

Cristante et al. (2002), em estudo prospectivo, experimental, com 20 ratos adultos submetidos à lesão hemimedular, transplantam células do sistema nervoso fetal no sítio da lesão em 15 destes ratos. Cinco animais permanecem como grupo controle sem transplante. Os ratos são sacrificados após 48 horas e submetidos a exame histológico. Encontram que, em 60% dos casos, as células fetais transplantadas permanecem viáveis e observam que a reação inflamatória é maior do que no grupo controle.

Merola et al. (2002) publicam estudo da resposta histológica da medula de ratos que foram submetidos à lesão medular contusa. Demonstram que, histologicamente, a metilprednisolona reduz o desenvolvimento de edema grave e preserva a arquitetura da medula adjacente ao local da lesão, mas, em contraste, a MP não altera o desenvolvimento de necrose medular ou a resposta astrocítica na zona de lesão.

Hsieh et al. (2005) estudam a aplicabilidade do pré-tratamento de lesões isquêmicas medulares em ratos Wistar, lesões estas comuns no tratamento cirúrgico de aneurismas de aorta. Utilizou para tanto a droga Ketorolac, um

potente inibidor não seletivo da COX2, a qual parece ter um importante papel nos danos neurológicos isquêmicos. Observou que a aplicação intratecal da mesma, na dose de 60 µg, parece atenuar o dano isquêmico da medula. A função motora mostrou-se melhor, com melhora nos achados histopatológicos associados. Sugere, assim, que a aplicação do Ketorolac pode ser útil quando utilizado previamente às cirurgias da aorta.

3 MÉTODOS

O protocolo foi avaliado e aprovado pela Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq – do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3.1 MODELO EXPERIMENTAL DE LESÃO MEDULAR

Animais de Experimentação

Avaliaram-se 33 ratos *Wistar* machos, com peso variando de 260 a 430g, oriundos do Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. No momento da recepção, todos os ratos foram avaliados quanto às condições gerais e à motricidade e identificados (marcação de listras pretas ou vermelhas na cauda e os números 0 ou 4 no dorso). Acondicionaram-se até 5 ratos de uma mesma ninhada por gaiola (40 x 60cm)¹. Mantiveram-se as gaiolas em ambiente climatizado, sob condições de higiene, alimentação e hidratação adequadas no Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e de Nervos – LETRAN - do

¹ Ratos Wistar não familiarizados tendem a ser agressivos e podem mutilar-se.

Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Realizou-se o manuseio contínuo dos animais antes da lesão para acostumá-los ao manejo dos experimentadores e para estimulá-los a movimentarem-se (condicionamento), facilitando a avaliação da capacidade motora após a lesão.

Adotaram-se os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

Critérios de inclusão:

- Ratos da raça *Wistar*
- Machos adultos jovens (19 a 22 semanas de vida inclusive);
- Peso entre 250 e 450 gramas, inclusive;
- Condição geral (pelagem e estado clínico) e motricidade normais;

Critérios de exclusão:

- Óbito imediatamente após lesão;
- Anomalias da medula na área lesada observada macroscopicamente;
- Autofagia ou mutilação entre os animais;
- Movimentação normal na primeira avaliação após lesão (21 pontos na escala BBB (Basso, Beattie e Bresnahan) de avaliação funcional).

É importante destacar que possíveis critérios de exclusão foram usados como forma de análise das complicações decorrentes do estudo. Dentre estes se destacam:

- Óbito tardio (não ocorrida imediatamente após a lesão);
- Perda de tecido na área lesada;
- Infecção profunda após lesão;
- Infecção refratária a antibioticoterapia após lesão;
- Infecção urinária após 10 dias de tratamento com antibiótico (presença de sangue na urina);
- Ausência de controle de micção;

Formação dos grupos experimentais

Os ratos foram separados aleatoriamente (por sorteio) e formaram quatro grupos:

- Grupo Droga A – T0 – ratos submetidos à lesão medular moderada através de um equipamento computadorizado para impacto medular por queda de peso – NYU Impactor[®] (“New York University Spinal Cord Contusion Sistem”), submetidos a tratamento com a droga A imediatamente após a lesão;
- Grupo Droga A – T-4 – ratos submetidos ao mesmo protocolo de lesão moderada com o NYU Impactor[®], os quais receberam 4 horas antes do trauma a droga A;

- Grupo Droga B – T0 – ratos submetidos ao mesmo protocolo de lesão moderada com o NYU Impactor[®], submetidos a tratamento com a droga B imediatamente após a lesão;
- Grupo Droga B – T-4 – ratos submetidos ao mesmo protocolo de lesão moderada com o NYU Impactor[®], os quais receberam 4 horas antes do trauma a droga B.

Dos 36 ratos incluídos inicialmente, ocorreram 3 exclusões. Os 3 foram a óbito imediatamente após a lesão, provavelmente decorrente de complicações anestésicas (critério de exclusão).

Os grupos Droga A – T0, Droga A – T-4, Droga B – T0 foram analisados com 8 ratos, enquanto que o grupo Droga B – T-4 ficou com 9 ratos (total 33 ratos).

Protocolo de Anestesia

Previamente à lesão, anestesiaram-se os ratos com 55 a 75mg/kg de Pentobarbital intraperitoneal. O efeito anestésico iniciou-se em 5 minutos e durou no mínimo 2 horas, tempo suficiente para a lesão. O plano anestésico profundo foi confirmado pela ausência dos reflexos da córnea e pela ausência de reação à compressão da cauda.

Laminectomy

A exposição da medula para contusão controlada foi realizada com o auxílio de um microscópio cirúrgico. Após tricotomia, realizou-se uma incisão na linha média dorsal para expor os arcos posteriores da coluna vertebral, de TVIII a TXII. Descolaram-se os músculos inseridos nos processos espinhosos e nas lâminas de TIX à TXI. Expuseram-se os processos articulares destas vértebras. A hemostasia, quando necessária, foi realizada com um coagulador bipolar. Removeram-se, com um micro sacabocados, o processo espinhoso e a lâmina da vértebra TX e a metade distal do processo espinhoso da TIX até expor a medula e permitir o posicionamento da ponta da haste (punção) do NYU Impactor[®] (New York University (1993)).

Respeitaram-se todos os demais cuidados relacionados por Rodrigues (1999) (Figura 1).

Figura 1 - Procedimentos para a realização da lesão medular através de equipamento computadorizado para impacto medular por queda de peso - NYU Impactor[®]. A – detalhe da laminectomia, com exposição da medula espinal; B – detalhe das garras de fixação nos processos espinhosos e C – vista geral do posicionamento do animal no dispositivo de impacto

Lesão Medular (contusão moderada controlada pelo NYU Impactor[®])

Adotou-se o modelo experimental de lesão medular do MASCIS (“Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study”) padronizado para ratos *Wistar* (Rodrigues, 1999).

Decidiu-se pela produção de lesões moderadas através do equipamento computadorizado para impacto por queda de peso NYU Impactor[®]. O teste de impacto consistiu na queda de uma haste de impacto de 10g de peso de uma altura pré-determinada de 25mm entre a ponta da haste (punção) e a superfície da medula espinal em queda livre, através de um tubo guia, monitorado por computador (velocidade da haste, deformação absoluta e relativa da medula, instante de contato efetivo e tempo de contato) de maneira a reduzir os fatores de imprecisão.

O equipamento foi construído de maneira a produzir um impacto direto de alto rendimento, reduzir atritos e a resistência do ar e a permitir uma contusão repetível (Figura 2).

Figura 2 - Equipamento computadorizado para impacto medular por queda de peso - NYU Impactor®. A – diagrama esquemático sem escala e B – vista geral, CPU, vídeo monitor, teclado, dispositivo de interfaceamento, “mouse” e dispositivo de impacto.

Os ratos foram posicionados no NYU Impactor[®] de maneira a permitir o contato pleno da ponta da haste (punção) na superfície exposta da medula (folga de 0,2 mm de cada lado), na altura de TX. Ajustaram-se as duas garras reguláveis, para a fixação da coluna vertebral, presas aos processos espinhosos das vértebras TVIII e TXI, respectivamente. As garras diminuíram as deformações do corpo do rato (baixa rigidez) e, conseqüentemente, o movimento da coluna, quando ocorre a queda do peso, reduzindo-se os fatores de erros. Assim, produziram-se lesões homogêneas e repetíveis.

A contusão medular moderada foi produzida pelo NYU Impactor[®] (haste com 10g de peso e a 25mm de altura) seguindo os procedimentos, cuidados, regulagens, controles, monitoração, limpeza e esterilização da haste constantes em seu manual e os recomendados por Constantini e Young (1994) e Rodrigues (1999).

O equipamento computadorizado para impacto medular por queda de peso monitorada NYU Impactor[®] (Figura 2) compõe-se de:

- Dispositivo de impacto (haste de 10g a 25mm de altura pré-determinada para contusão moderada, tubo guia e sistema de monitoração de posição, velocidade de queda, instante de contato, período de contato, deformação da coluna e deformação absoluta e relativa da medula);
- Dispositivos de interfaceamento (instrumentação);
- Microcomputador IBM-PC compatível;
- Vídeo monitor VGA;
- Placa de interface com saída paralela e temporizador.

Procedimento após lesão

Após a lesão, o rato foi colocado em uma superfície aquecida, não excedendo a temperatura de 38°C. Inspeccionou-se o sítio da lesão da contusão. Na presença de hemorragia, realizava-se a hemostasia. Em seguida, lavou-se o sítio da contusão com solução fisiológica de cloreto de sódio a temperatura ambiente. Realizou-se a aproximação dos planos teciduais musculares e fasciais e da pele com sutura de pontos simples com fio nylon monofilamentado 2.0.

Transferiram-se os ratos para câmaras com temperatura controlada de 25 a 28°C, durante 30 minutos, para controle de provável hipotermia pós-operatória.

Espremeu-se a bexiga dos ratos, para esvaziamento vesical.

Antibioticoterapia

Os ratos foram submetidos a antibioticoterapia para prevenir e/ou reduzir a infecção na ferida cirúrgica e nas vias urinárias. Administrou-se, subcutaneamente, 25mg/kg de Cefalotina (Keflin Neutro[®] - Ely Lilly) imediatamente após a lesão e uma vez ao dia durante os 7 dias seguintes. Naqueles que apresentassem infecção, estender-se-ia o tratamento até o 10^o dia e esta era considerada como uma complicação, sendo a mesma então utilizada para fins estatísticos.

Manutenção

Os ratos retornaram às mesmas gaiolas de origem (40 x 60cm), mantidos nos mesmos grupos de até 5 animais, nas mesmas condições ambientais (manejo, *ad libitum*, troca periódica da maravalha e limpeza da gaiola) até o final do experimento, quando foram submetidos à eutanásia.

Durante o período de avaliação pela escala BBB, os ratos foram observados quanto a mutilações, infecções ou outras alterações (critérios de exclusão e complicações).

3.2 TRATAMENTO MEDICAMENTOSO

Os grupos utilizados no estudo foram denominados Droga A e Droga B, de maneira que o mesmo fosse realizado de modo duplo-cego. Posteriormente à análise estatística dos dados, verificou-se que o grupo Droga A foi constituído de ratos que receberam Soro Fisiológico a 0,9% intraperitoneal e o grupo Droga B de ratos que receberam Metilprednisolona intraperitoneal. Sabia-se previamente que a Metilprednisolona apresentava-se na concentração de 30mg/ml. Conhecendo-se esta concentração, a aplicação das drogas foi realizada de modo que, quando administrada, a Metilprednisolona (grupo Droga B) fosse utilizada na dose de 30mg/Kg. Adicionalmente, parte dos ratos recebeu a droga quatro horas antes do

trauma (T-4) e outra parte imediatamente após o trauma (T0), como descrito anteriormente no item 3.1 - Formação dos grupos experimentais.

3.3 PROTOCOLO DA CAPACIDADE LOCOMOTORA PELA ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL

A recuperação da capacidade locomotora após lesão medular foi medida pela escala BBB (Basso, Beattie e Bresnahan) de avaliação funcional (Basso et al., 1995).

A escala BBB de avaliação funcional baseia-se em critérios observacionais específicos, definições simples e não ambíguas dos termos e permite uma rápida e precisa descrição do desempenho locomotor.

Esta escala foi adotada pelas instituições que integram o MASCIS e pelo LETRAN. Decidiu-se pela avaliação visual por time treinado (2 observadores), às cegas e pela menor avaliação.

Todos os ratos dos grupos Droga A T-0, Droga A T-4, Droga B T-0 e Droga B T-4 foram avaliados no 2º, 7º, 14º, 21º e 28º dias de pós-operatório.

A avaliação consistiu em colocar o rato no centro de uma caixa de observação de 80x80cm e borda com 17cm de altura forrada com um campo cirúrgico azul turquesa (escuro) para maior contraste durante o período de observação (ratos brancos, fundo azul escuro) (Figura 3).

Figura 3 - Determinação da capacidade locomotora após lesão pela escala BBB de avaliação funcional (Basso et al. 1995). A – rato posicionado na caixa forrada com campo azul para facilitar observação e B – rato em vista lateral, avaliação da movimentação do quadril, joelho e tornozelo da pata posterior direita e posição da cauda.

Avaliou-se a capacidade locomotora do rato. As observações sobre o movimento das articulações da pata posterior (quadril, joelho e tornozelo), a posição do tronco, do abdome, o deslocamento da pata (balanço) e o modo de contato da pata com o solo, a coordenação, os dedos, o contato e a liberação da pata com o solo, a instabilidade do tronco e a posição relativa da cauda, em relação ao lado direito e esquerdo, foram anotadas em formulário próprio.

O formulário permitiu o registro da identidade, do número de dias pós-operatório e dos comentários (Anexo I) e facilitou a descrição do movimento e a definição da pontuação. A escala BBB varia de 0 a 21 pontos para cada lado, esquerdo e direito.

A avaliação de cada rato foi realizada por dois observadores simultâneos, adequadamente treinados, neutros, sem conhecimento do grupo de origem do rato, de maneira a não interferir nos resultados.

Caso o rato, posicionado no centro da caixa, permanecesse imóvel por 15 a 20s, era estimulado a movimentar-se através de toques com um lápis.

A avaliação da capacidade locomotora do rato demorou de 4 a 5 minutos durante os quais anotaram-se, no respectivo formulário, as características do movimento executado.

Anotaram-se as características de consenso entre os observadores. Caso houvesse discordância, decidiu-se pela anotação da pior característica (menor pontuação).

Apresentam-se, em anexo, o modelo traduzido do formulário e as pontuações possíveis com as respectivas definições operacionais das categorias e atributos da escala BBB de avaliação funcional (Anexo I e II). Têm-se, nos anexos III e IV, as pontuações dos ratos em estudo, obtidas na escala BBB de avaliação funcional e as listas de complicações e achados relevantes de necropsia.

3.4 EUTANÁSIA

Ao final do período de experimentação todos os ratos foram submetidos à eutanásia conforme legislação em vigor e seguindo os preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA (1999).

Utilizou-se dose letal de pentobarbital (140mg/Kg) por via intraperitoneal.

3.5 EXAME NECROSCÓPICO

O exame necroscópico dos ratos foi realizado de modo a permitir a identificação macroscópica de possíveis alterações em relação ao padrão normal.

Na inspeção inicial, observou-se externamente a presença de possíveis lesões associadas à autofagia ou multilação.

Quanto à inspeção interna, iniciou-se a mesma com a retirada da coluna vertebral, realizando-se uma nova incisão dorsal extensa, onde se expôs a coluna e cortou-se com uma tesoura um segmento de TVIII a TXII.

Com um micro sacabocados, retiraram-se cuidadosamente todas as estruturas ósseas e de partes moles adjacentes à medula até expô-la completamente.

Realizou-se uma avaliação visual macroscópica da medula no local da contusão para se verificar qualquer anomalia (critério de exclusão).

A seguir, realizou-se incisão ventral, com toracotomia e laparotomia associadas. Os pulmões foram inspecionados para a identificação de possíveis alterações, como a presença de empiema ou condensação. No abdômen, focalizou-se a inspeção da bexiga, para a identificação de bexiga neurogênica flácida (com aumento importante do volume da mesma) ou de alterações sugestivas de infecção (hiperemia e hematúria). Os dados assim coletados foram listados para posterior análise estatística de complicações associadas.

Optou-se, neste estudo, pela não realização do exame anatomopatológico devido ao fato de que inúmeros estudos realizados previamente no LETRAN não mostraram diferenças significativas que justificassem o mesmo (Rodrigues, 1999).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis qualitativas foram representadas por frequência absoluta (n) e relativa (%) e as quantitativas por média, desvio padrão (d.p.), mediana, valores mínimo e máximo.

Os grupos foram comparados quanto às variáveis qualitativas pelo Teste do Qui-quadrado.

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para testar a presença de distribuição normal nos parâmetros quantitativos.

Quando comparados os quatro grupos quanto às variáveis quantitativas foi utilizada a técnica de Análise de Variância (ANOVA) com um fator fixo na presença de distribuição normal das variáveis e a Prova não paramétrica de Kruskal-Wallis caso contrário.

Quando comparados os dois grupos quanto às variáveis quantitativas foi utilizado o teste t de Student para amostras independentes na presença de distribuição normal das variáveis e a prova não paramétrica de Mann-Whitney caso contrário.

Foi adotado o nível de significância de 0,05 ($\alpha = 5\%$) e níveis descritivos (p) inferiores a esse valor foram considerados significantes e representados por *.

4 RESULTADOS

A amostra foi composta por 33 animais com média de idade de 20,5 semanas ($\pm 0,9$) e variação entre 19 e 22 semanas. Os animais apresentavam média de peso de 346,0g ($\pm 50,7$) e variação entre 260 e 442g.

Os 4 grupos foram comparados quanto ao peso, idade e às medidas pós-operatórias. As medidas descritivas desses parâmetros por grupo de estudo se encontram na tabela abaixo.

Variáveis	Droga A T0	Droga B T0	Droga A T-4	Droga B T-4
Peso (g)				
média ± dp	328,4 ± 33,6	367,8 ± 63,5	342,1 ± 51,5	345,9 ± 51,3
Mediana (n)	325,5 (8)	346,5 (8)	337 (8)	347 (9)
mínimo – máximo	272 – 375	304 – 442	260 – 424	280 – 430
ANOVA	p = 0,496			
Idade (semanas)				
média ± dp	20,2 ± 0,7	20,9 ± 1,0	20,6 ± 1,1	20,4 ± 1,0
Mediana (n)	20 (8)	20,5 (8)	20,5 (8)	20 (9)
mínimo – máximo	19 – 21	20 – 22	19 – 22	19 – 22
ANOVA	p = 0,605			

Índice Motor – PO2 E

Variáveis	Droga A T0	Droga B T0	Droga A T-4	Droga B T-4
média ± dp	1,25 ± 2,19	1,00 ± 2,83	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Mediana	0 (8)	0 (8)	0 (7)	0 (6)
mínimo – máximo	0 – 6	0 – 8	0 – 0	0 – 0
Prova de Kruskal-Wallis	p = 0,155			

Índice Motor – PO2 D

média ± dp	1,63 ± 2,56	1,00 ± 2,83	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Mediana	0 (8)	0 (8)	0 (7)	0 (6)
mínimo – máximo	0 – 7	0 – 8	0 – 0	0 – 0
Prova de Kruskal-Wallis	p = 0,155			

Índice Motor – PO7 E

média ± dp	7,00 ± 5,24	7,38 ± 4,50	6,50 ± 2,35	4,33 ± 3,45
Mediana	6,5 (8)	6,5 (8)	7 (6)	6 (6)
mínimo – máximo	0 – 18	3 – 18	2 – 9	0 – 7
Prova de Kruskal-Wallis	p = 0,610			

Índice Motor – PO7 D

média ± dp	6,13 ± 6,03	6,13 ± 5,19	6,33 ± 2,73	4,67 ± 2,88
Mediana	5 (8)	5,5 (8)	7 (6)	6 (6)
mínimo – máximo	0 – 18	1 – 18	1 – 9	1 – 7
Prova de Kruskal-Wallis	p = 0,657			

Índice Motor – PO14 E

média ± dp	8,50 ± 5,78	8,88 ± 4,52	9,33 ± 1,63	7,83 ± 1,60
Mediana (n)	7 (8)	7 (8)	9 (6)	7 (6)
mínimo – máximo	2 – 20	7 – 20	7 – 12	7 – 11
Prova de Kruskal-Wallis	p = 0,372			

Índice Motor – PO14 D				
média ± dp	8,63 ± 5,76	8,75 ± 4,56	9,17 ± 1,94	8,40 ± 1,52
Mediana	7,5 (8)	7 (8)	9,5 (6)	8 (5)
mínimo – máximo	2 – 20	7 – 20	7 – 12	7 – 11
Prova de Kruskal-Wallis	p = 0,575			
Variáveis	Droga A T0	Droga B T0	Droga A T-4	Droga B T-4
Índice Motor – PO21 E				
média ± dp	9,00 ± 5,45	11,50 ± 3,78	11,50 ± 3,02	8,75 ± 1,50
Mediana	7,5 (8)	10 (8)	12 (6)	9 (4)
mínimo – máximo	3 – 18	9 – 20	7 – 15	7 – 10
Prova de Kruskal-Wallis	p = 0,370			
Índice Motor – PO21 D				
média ± dp	9,13 ± 5,69	11,13 ± 3,76	11,67 ± 3,08	9,00 ± 1,41
Mediana	7,5 (8)	9,5 (8)	12,5 (6)	9,5 (4)
mínimo – máximo	3 – 19	9 – 20	7 – 15	7 – 10
Prova de Kruskal-Wallis	p = 0,430			
Índice Motor – PO28 E				
média ± dp	10,00 ± 6,35	13,50 ± 3,82	13,33 ± 2,25	10,00 ± 2,31
Mediana	11 (7)	12,5 (8)	14 (6)	10 (4)
mínimo – máximo	3 – 21	9 – 21	9 – 15	8 – 12
Prova de Kruskal-Wallis	p = 0,126			
Índice Motor – PO28 D				
média ± dp	10,43 ± 5,88	12,63 ± 3,78	13,83 ± 2,48	10,50 ± 2,38
Mediana	11 (7)	12 (8)	14,5 (6)	10,5 (4)
mínimo – máximo	3 – 21	9 – 21	9 – 16	8 – 13
Prova de Kruskal-Wallis	p = 0,148			

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos de estudos quanto às médias de peso ($p = 0,496$) e de idade ($p = 0,605$) dos animais.

Nos índices motores não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos de estudo em nenhuma das avaliações ($p > 0,05$ em todas as comparações) (figura 4).

Figura 4 - Índices motores ao longo do tempo de seguimento, onde não se observa diferença estatisticamente significativa entre os grupos

Os grupos de drogas A e B, independentemente do momento de aplicação da droga, foram comparados quanto ao peso, idade e às medidas pós-operatórias. As medidas descritivas desses parâmetros por grupo de estudo se encontram na tabela abaixo.

Variáveis	Droga A	Droga B
Peso (g)		
média $\pm$ dp	335,3 $\pm$ 42,6	356,2 $\pm$ 56,6
mediana (n)	329,5 (16)	347,0 (17)
mínimo – máximo	260 – 424	280 – 442
Teste t de Student	p = 0,242	
Idade (semanas)		
Variáveis	Droga A	Droga B
média $\pm$ dp	20,4 $\pm$ 0,9	20,7 $\pm$ 1,0
mediana (n)	20 (16)	20 (17)
mínimo – máximo	19 – 22	19 – 22
Teste t de Student	p = 0,530	
Índice Motor – PO2 E		
média $\pm$ dp	0,67 $\pm$ 1,68	0,57 $\pm$ 2,14
mediana (n)	0 (15)	0 (14)
mínimo – máximo	0 – 6	0 – 8
Prova de Mann-Whitney	p = 0,382	
Índice Motor – PO2 D		
média $\pm$ dp	0,87 $\pm$ 1,99	0,57 $\pm$ 2,14
mediana (n)	0 (15)	0 (14)
mínimo – máximo	0 – 7	0 – 8
Prova de Mann-Whitney	p = 0,382	
Índice Motor – PO7 E		
média $\pm$ dp	6,79 $\pm$ 4,12	6,07 $\pm$ 4,23
mediana (n)	7 (14)	6,5 (14)
Variáveis	Droga A	Droga B
mínimo – máximo	0 – 18	0 – 18
Prova de Mann-Whitney	p = 0,362	
Índice Motor – PO7 D		
média $\pm$ dp	6,21 $\pm$ 4,74	5,50 $\pm$ 4,27
mediana (n)	7 (14)	6 (14)
mínimo – máximo	0 – 18	1 – 18
Prova de Mann-Whitney	p = 0,315	

Índice Motor – PO14 E		
média ± dp	8,86 ± 4,38	8,43 ± 3,50
mediana (n)	9 (14)	7 (14)
mínimo – máximo	2 – 20	7 – 20
Prova de Mann-Whitney	p = 0,457	
Índice Motor – PO14 D		
média ± dp	8,86 ± 4,40	8,62 ± 3,60
mediana (n)	8,5 (14)	7 (13)
mínimo – máximo	2 – 20	7 – 20
Prova de Mann-Whitney	p = 0,635	
Índice Motor – PO21 E		
média ± dp	10,07 ± 4,60	10,58 ± 3,40
mediana (n)	10,5 (14)	9,5 (12)
mínimo – máximo	3 – 18	7 – 20
Prova de Mann-Whitney	p = 0,836	
Índice Motor – PO21 D		
média ± dp	10,21 ± 4,78	10,42 ± 3,26
mediana (n)	10,5 (14)	9,5 (12)
mínimo – máximo	3 – 19	7 – 20
Prova de Mann-Whitney	p = 0,917	
Índice Motor – PO28 E		
média ± dp	11,54 ± 5,03	12,33 ± 3,70
Variáveis	Droga A	Droga B
mediana (n)	13 (13)	12 (12)
mínimo – máximo	3 – 21	8 – 21
Prova de Mann-Whitney	p = 1,000	
Índice Motor – PO28 D		
média ± dp	12,00 ± 4,80	11,92 ± 3,42
mediana (n)	13 (13)	12 (12)
mínimo – máximo	3 – 21	8 – 21
Prova de Mann-Whitney	p = 0,585	

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos de estudos quanto às médias de peso ($p = 0,242$) e de idade ($p = 0,530$) dos animais.

Na comparação entre os 4 grupos quanto às intercorrências foi encontrada diferença estatisticamente significativa nos óbitos ($p = 0,047$), onde o grupo Droga B T0 apresentou proporção de óbitos significativamente menor do que a encontrada no grupo Droga B T-4 (0% e 55,6% respectivamente nos grupos Droga B T0 e Droga B T-4) (Figura 5).

Figura 5 - Proporção de óbitos nos quatro grupos, onde o grupo B –T-4 apresentou proporção de óbitos significativamente maior do que a encontrada no grupo B – T0

Nos demais parâmetros não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos de estudo ($p > 0,05$ em todas as comparações).

Para analisar a relação entre a ocorrência de intercorrências e o uso de droga independentemente do momento de aplicação os grupos Droga A T0 e Droga A T-4 foram reagrupados, bem como os grupos Droga B T0 e Droga B T-4.

Os grupos de drogas A e B, independente do momento de aplicação da droga, foram comparados quanto às intercorrências e as medidas descritivas desses parâmetros por grupo de estudo se encontram na tabela abaixo.

Variáveis	Droga A		Droga B	
Óbito – n (%)				
Não	13	81,3%	12	70,6%
Sim	3	18,8%	5	29,4%
Teste do Qui-quadrado	p = 0,475			
Complicações – ITU – n (%)				
Não	13	81,3%	14	82,4%
Sim	3	18,8%	3	17,6%
Teste do Qui-quadrado	p = 0,935			
Complicações – n (%)				
Não	12	75,0%	14	82,4%
Sim	4	25,0%	3	17,6%
Teste do Qui-quadrado	p = 0,606			
Complicações e/ou Óbito – n (%)				
Não	10	62,5%	10	58,8%
Sim	6	37,5%	7	41,2%
Teste do Qui-quadrado	p = 0,829			
Achados relevantes de Necropsia – n (%)				
Não	13	81,3%	14	82,4%
Sim	3	18,8%	3	17,6%
Teste do Qui-quadrado	p = 0,935			

Em nenhum dos parâmetros avaliados acima foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos de estudo ($p > 0,05$ em todas as comparações).

5 DISCUSSÃO

Desde as clássicas publicações de Allen (1911) e Allen (1914), vários modelos experimentais têm sido desenvolvidos para simular a lesão medular produzida por peso em queda livre sobre a medula de animais (Ford, 1983; Noble e Wrathall, 1985; Bresnahan et al., 1987; Noble e Wrathall, 1987 e Behrmann et al., 1992).

O modelo experimental através de queda de peso, em ratos Wistar, para a produção de lesão medular mediana foi o selecionado porque permite a padronização e a uniformização da amostra. A escolha de ratos *Wistar* deveu-se a maior disponibilidade e utilização em laboratórios brasileiros, sua disponibilidade pelo Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e, principalmente, devido à padronização realizada e adotada pelo Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e de Nervos – LETRAN do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – IOT-HC-FMUSP (Rodrigues, 1999).

A obtenção de uma lesão medular mediana sistematizada e homogeneizada, desejada, foi feita através de um equipamento de impacto controlado por microcomputador liberando uma haste com um peso de 10 gramas a uma altura de 25 mm (“New York University Impactor System” - NYU Impactor[®]) desenvolvido por Gruner (1992) e avaliado e utilizado inicialmente por Constantini e Young (1994) e Basso et al. (1996).

Outro método de contusão medular controlado possível de ser comparado seria o “Ohio State University Impactor System – OSU Impactor”. Basso et al. (1995) demonstram que ambos os sistemas são eficazes e equivalentes na produção da lesão medular. Os dois métodos apresentam desenvolvimento e evolução similares. Nesse experimento, o desenvolvimento, a progressão e a estabilização da capacidade funcional atingiram seu patamar definitivo no período de quatro semanas. Esta foi uma experiência pioneira e sua metodologia ficou consagrada referida em diversos outros estudos e aqui, também.

A avaliação dos ratos no 2º, 7º, 14º, 21º e 28º dia pós-operatório contempla todos os aspectos da seqüência de eventos ocorridos após o trauma raquimedular. Dessa maneira, pôde-se observar e comparar a progressão dos resultados até a sua estabilização (patamar definitivo).

O equipamento computadorizado NYU Impactor[®], disponível no LETRAN, assim como nos principais centros de pesquisa que integram o “Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study – MASCIS”, permite a comparação dos resultados interinstitucionais.

A regulagem, os cuidados e a operação seguiram o método preconizado por Rodrigues (1999) e os que constam no manual de operação do equipamento.

Um critério de inclusão rígido é necessário para se eliminarem fatores de interferência, que são: ratos de raça e sexo únicos, idade entre 19 a 22 semanas, peso variando de 250 e 450 gramas, e sem alteração de motricidade ou do estado geral avaliados pela pelagem. A homogeneização da amostra é essencial para se obter confiabilidade e reprodutibilidade.

A escolha do nível de lesão em TX e com intensidade média (25mm) é baseada ainda na técnica proposta por Rodrigues (1999). As justificativas para esta opção baseiam-se na obtenção de ratos paraplégicos após a contusão medular, porém com capacidade locomotora suficiente para garantir sua subsistência (alimentação e hidratação) e facilitar a avaliação da capacidade funcional residual. O sistema pode ser graduado com a queda da haste de altura de 12,5, 25 e 50mm. Escolhemos a altura de 25mm (intensidade média), porque a altura de 50mm causa lesão medular completa com mortalidade alta na primeira semana e os ratos lesados a 12,5mm apresentavam recuperação quase completa em 10 dias (Basso et al., 1996; Constantini e Young 1994; Rodrigues, 1999; Vialle et al., 1999).

A ferramenta de avaliação ideal da função locomotora deve ser de fácil utilização, sensível e ter a capacidade de rapidamente mostrar mudanças, mesmo em um limitado número de animais experimentais. Embora sabedores de que toda avaliação de resultado funcional apresenta aspectos discutíveis e controvertidos (Rivlin e Tator, 1977), resolveu-se adotar o critério mais aceito e difundido dentre os centros de pesquisa que utilizam modelos de experimentação em ratos, ou seja, a escala BBB.

A avaliação da recuperação da capacidade locomotora foi feita através da escala BBB desenvolvida por Basso et al. (1995) e amplamente utilizada.

A escala BBB é adotada pelos centros de pesquisa que integram o MASCIS e permitem, da mesma maneira que a utilização do NYU Impactor[®], a padronização dos métodos e a comparação dos resultados, além disso, a vantagem é a rápida e objetiva avaliação visual que permite a aferição por uma equipe de dois

examinadores simultâneos. De acordo com Basso et al. (1995), o pior resultado em caso de discordância é o adotado. Ainda a favor da escala BBB, que é uma evolução da desenvolvida por Tarlov e Klinger (1954) apud Basso et al. (1995), constata-se níveis superiores de reprodutibilidade e definições formais precisas que facilitam a observação com maior poder discriminatório.

Para a avaliação da recuperação locomotora dos membros posteriores procederam-se mensurações dos lados direito e esquerdo, dos grupos Droga A T-0, Droga A T-4, Droga B T-0 e Droga B T-4, no 2º, 7º, 14º, 21º e 28º dia pós-operatório. Compararam-se, assim, as diferenças entre os resultados motores dos diversos grupos, bem como a presença de intercorrências ao longo do estudo. Em uma segunda etapa, para analisar as diferenças entre os resultados motores bem como a relação entre a presença de intercorrências e o uso de droga, independentemente do momento de aplicação da mesma, os grupos Droga A T0 e Droga A T-4 foram reagrupados, bem como os grupos Droga B T0 e Droga B T-4. Assim, os dois grupos foram comparados quanto aos índices motores e às intercorrências e as medidas descritivas desses parâmetros.

Após a eutanásia, o exame necroscópico dos ratos foi realizado de modo a permitir a identificação macroscópica de possíveis alterações em relação ao padrão normal. Vários estudos realizados no LETRAN mostram que a metodologia atualmente disponível neste laboratório (coloração de hematoxilina-eosina) para o exame anatomopatológico de amostras do sítio de lesão medular não é suficientemente sensível para a visualização de diferenças significativas (Rodrigues, 1999). Assim, convencionou-se que este exame não seria realizado neste estudo.

A maioria das contusões medulares provocadas em animais experimentais, não é, de fato, uma lesão completa da medula, mantendo no mínimo uma borda de substância branca preservada (Basso et al., 1993). O potencial para recuperação depende do máximo possível da viabilidade dos axônios ascendentes e descendentes remanescentes na substância branca e de sua mielinização. As estratégias farmacológicas enfocam o controle do processo lesivo secundário da medula, primariamente a peroxidação lipídica, e a maior manutenção possível de elementos da substância branca viáveis (Hall, 2001).

Modelos experimentais e observações clínicas da lesão medular aguda suportam o conceito da lesão medular secundária, na qual uma lesão mecânica é sucedida por uma série de eventos deletérios que promovem dano tecidual progressivo e isquemia (Ducker et al., 1978; Tator e Rowed, 1979; Lohse et al., 1980). Assim, embora a lesão mecânica primária seja determinada pelas circunstâncias do trauma e é geralmente irreversível, existe uma cascata de eventos biológicos que resultam na lesão medular secundária, que pode ser amenizada pela ação terapêutica de drogas neuroprotetoras (Tator e Fehlings, 1991; Dumont et al., 2001).

Apesar de existirem várias substâncias utilizadas para a atenuação dos efeitos da lesão medular após um trauma agudo, escolhemos a metilprednisolona para realizarmos este estudo porque, farmacologicamente, a metilprednisolona tem mostrado benefícios clínicos com melhora da função neurológica, como comprovado por vários autores (Bracken et al., 1985; Bracken e Holford, 1993; Gebrin et al., 1997^a; Delamarter e Coyle, 1999; Jeffery e Blakemore, 1999; Bracken, 2000; Short et al., 2000; Legos et al., 2001; Bracken, 2001; Dumont et al., 2001; Hurlbert, 2001).

Muitos mecanismos relacionados ao efeito neuroprotetor da metilprednisolona são mencionados na literatura como a preservação do tecido medular (Means et al., 1981), o aumento da microcirculação e a diminuição da quantidade de ATP (Anderson et al., 1982), a diminuição do acúmulo de lactato e de piruvato (Braugher e Hall, 1983), a manutenção do fluxo sanguíneo medular dentro da normalidade (Hall et al., 1984), a capacidade de inibir os radicais livres de oxigênio induzidos pela peroxidação lipídica (Anderson et al., 1985; Hall, 1992), a diminuição do volume da lesão (Constantine e Young, 1994), a melhora da regeneração dos axônios (Chen et al., 1996), a redução da cascata de efeitos secundários após o trauma agudo (Blight e Zimber, 2001), a diminuição da isquemia medular, inibindo o aumento da permeabilidade vascular no local lesado na medula (Taoka et al., 2001) e a redução do edema grave, preservando a arquitetura da medula adjacente (Merola et al., 2002).

Em publicação, Yoon et al. (1999) afirmam que o modelo de lesão medular, provocada pelo sistema NYU Impactor[®], apresenta uma janela terapêutica muito curta e que os melhores resultados do uso da metilprednisolona se dão com dose de 30mg/kg, aplicada nos primeiros 30 minutos após a lesão. Baseados neste estudo, a dose de escolha para a utilização da metilprednisolona foi de 30mg/kg quatro horas antes da lesão contusa medular e imediatamente após a lesão, como já descrito. A utilização da metilprednisolona antes do trauma não é descrita e os poucos estudos com drogas antes do trauma raquimedular são normalmente realizados para lesões isquêmicas, comumente encontradas nos tratamentos dos aneurismas de aorta (Hsieh et al., 2005). Convencionou-se, neste estudo utilizar-se a metilprednisolona quatro horas antes do trauma por este ser tempo mais que suficiente para um pico sérico da mesma.

Contrariando estudos anteriores, não houve diferença estatisticamente significativa nas avaliações motoras entre os grupos estudados, em todas as análises. Mesmo quando os grupos foram reagrupados independentes do tempo de aplicação das drogas, não houve diferença estatisticamente significativa entre estes. Vale lembrar que a escala BBB utilizada contempla somente a avaliação motora dos ratos e muitos dos estudos, principalmente os grandes ensaios clínicos “National Acute Spinal Cord Injury Studies” (NASCIS 1, NASCIS-2 e NASCIS-3) (Bracken et al., 1985, 1992, 1998), avaliam não só a recuperação motora mas também a recuperação sensitiva e alterações na função vesical.

Quanto às complicações, quando se comparou a utilização da metilprednisolona em relação ao placebo, independente do tempo de aplicação da mesma, não se observou diferença estatisticamente significativa. Mas, ao se comparar a utilização da metilprednisolona quatro horas antes do trauma e a utilizada imediatamente após o trauma, observa-se que a primeira apresentou complicação (óbitos) significativamente maior. Uma possível explicação seria que os ratos submetidos à aplicação da droga quatro horas antes do trauma estariam expostos ao um nível maior de estresse, com liberação de catecolaminas, as quais poderiam potencializar possíveis efeitos prejudiciais da metilprednisolona, levando a um maior número de óbitos.

Entre as alternativas hoje disponíveis para o tratamento da lesão medular, destacam-se as que atuam reduzindo o dano neural, aqui incluídos todos os aspectos de prevenção do dano medular secundário. As principais opções são a operatória e a farmacológica, que têm sido aplicadas nos tratamentos clínicos atuais. A farmacologia tem empregado preferencialmente a metilprednisolona por seus efeitos

neuroprotetores. Citam-se a inibição da lesão oxidativa da célula pela formação de radicais livres, a inibição da peroxidação lipídica, a diminuição da liberação de aminoácidos excitatórios, a diminuição do influxo de cálcio intracelular e o aumento do fluxo sanguíneo para a medula lesada (Anderson et al., 1982). O protocolo do “National Acute Spinal Cord Injury Studies” (NASCIS-2 e NASCIS-3), amplamente utilizado, resulta em melhora da função neurológica na lesão medular aguda. Os gangliosídeos (GM-1) têm demonstrado um efeito neurotrófico, mas parecem inibir os efeitos neuroprotetores da metilprednisolona e seu mecanismo de ação ainda não está bem elucidado, estando esta droga em caráter experimental (Geisler et al., 1991; Constantini e Young, 1994). Percebe-se que, na prática clínica, o emprego dos fármacos se restringe a uma ação coadjuvante na lesão medular aguda, necessitando de maiores evidências quanto ao mecanismo de ação e eficácia.

As técnicas cirúrgicas têm tido um grande avanço. O uso de materiais de implante aperfeiçoados tem propiciado a realização de cirurgias de reconstrução com fixação de colunas instáveis. A prevenção de danos adicionais e facilitação da reabilitação precoce é vantagem consagrada. Entretanto, isoladamente, ela não conduz à melhora do estado neurológico, necessitando de terapias complementares.

As duas linhas de pesquisa dirigidas para a regeneração do dano medular são a modificação do ambiente do sítio de lesão e a ativação da capacidade neuronal intrínseca. A primeira se faz através do implante de pontes acelulares semeadas com células de tecido fetal, células gliais e neutralização das moléculas de inibição do crescimento neuronal. O segundo ramo de pesquisa diz respeito à utilização de genes estimuladores da regeneração neuronal intrínseca (*GAP-43*, *Bcl-2*, *c-Jun*), ou através do implante de fatores neurotróficos (*NGF*, *BDNF*, *NT-3*, *NT-4*, fatores de

crescimento derivados das plaquetas e fatores de crescimento dos fibroblastos). Sabemos que a regeneração ocorre mais facilmente no sistema nervoso periférico do que no sistema nervoso central e esta diferença está em parte relacionada a proteínas associadas à mielina. A neutralização dessas proteínas por anticorpos monoclonais (IN-1) pode levar à regeneração em ratos adultos (Bregman et al., 1997).

Muitos estudos encontram-se em andamento em relação à regeneração do sistema nervoso central, com o uso de fatores neurotróficos, do enxerto de nervos periféricos associados ou não a fatores neurotróficos (Bregman et al., 1997), de anticorpos bloqueadores dos fatores inibitórios da regeneração, do enxerto de células do sistema nervoso central (Ramón-Cueto et al., 1998), e de células tronco (Nockels e Young, 1992; Schwab e Bartholdi, 1996; Amar e Levy, 1999 e Cristante et al., 2002).

Estes novos recursos terapêuticos proporcionam, pela primeira vez, uma perspectiva de cura, ainda que controversa pelas suas implicações éticas (Debrovner, 2000). Devido aos pequenos resultados práticos do uso de medicamentos e ainda do longo caminho a ser percorrido com estes novos estudos sobre a regeneração neuronal, não há presunção da terapia única.

A contribuição dessa pesquisa experimental foi a demonstração de, apesar de prática clínica corrente, não haver diferença motora ao se tratar previamente a lesão medular com metilprednisolona em ratos. Além disso, a demonstração de que tal prática pode potencializar possíveis efeitos deletérios dessa droga restringe ainda mais a utilização da mesma antes do trauma raquimedular. Ficam suspensas questões relacionadas ao mecanismo de ação da metilprednisolona quando utilizada previamente ao trauma, principalmente no que se refere às complicações.

6 CONCLUSÕES

1. Quanto aos índices motores, não foi observado efeito benéfico com o uso da metilprednisolona previamente ao traumatismo medular.
2. Quanto às complicações, os ratos tratados com metilprednisolona quatro horas antes do trauma apresentaram um número de óbitos significativamente maior quando comparados aos ratos tratados com a mesma droga imediatamente após o trauma.

ANEXO I

ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL “BASSO, D.M.; BEATTIE, M.S. E BRESNAHAN, J.C., 1995”

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

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			Sem Suporte de Peso	Com Suporte de Peso	E	D	E	D		E	D	E	D	E	D					
0	0	0	0	0	0	E	D	Arrastando	E	D	E	D	E	D	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	O	O	E	E	E	E		Para Baixo (abaixada)
E	E	E	E	E	E	Central									F	F	F ⁺	F ⁺	F	F**	F**	P	P	P	P		
														C	C	C	C	C	C	C							

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 II

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

ANEXO III

CAPACIDADE LOCOMOTORA PELA
ESCALA BBB DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL

GRUPO DROGA A – T0										
Nº	DIAS PÓS-OPERATÓRIO									
	2		7		14		21		28	
	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D
1	0	0	3	3	3	3	3	3	7	7
2	0	0	0	0	2	2	3	3	3	6
3	0	0	6	3	6	6	6	6	3	3
4	6	7	18	18	20	20	18	19	21	21
5	1	3	7	8	12	12	14	14	12	12
6	0	0	6	0	7	7	7	7	Óbito	
7	3	3	9	10	11	11	13	13	13	13
8	0	0	7	7	7	8	8	8	11	11
E: Esquerdo					D: Direito					

GRUPO DROGA A – T-4										
Nº	DIAS PÓS-OPERATÓRIO									
	2		7		14		21		28	
	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D
1	Óbito									
2	0	0	7	7	9	9	9	9	14	15
3	0	0	7	1	10	10	15	15	15	15
4	0	0	Óbito							
5	0	0	2	7	9	10	12	13	13	14
6	0	0	9	9	12	12	14	14	14	14
7	0	0	7	7	9	7	12	12	15	16
8	0	0	7	7	7	7	7	7	9	9
E: Esquerdo					D: Direito					

GRUPO DROGA B – T0										
Nº	DIAS PÓS-OPERATÓRIO									
	2		7		14		21		28	
	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D
1	0	0	6	6	7	7	9	9	10	10
2	0	0	3	3	7	7	9	9	12	12
3	0	0	5	1	7	7	9	10	9	10
4	0	0	6	5	7	7	9	9	12	12
5	0	0	7	3	8	7	12	9	13	9
6	0	0	7	6	8	8	13	12	16	13
7	8	8	18	18	20	20	20	20	21	21
8	0	0	7	7	7	7	11	11	15	14
E: Esquerdo					D: Direito					

GRUPO DROGA B – T-4										
Nº	DIAS PÓS-OPERATÓRIO									
	2		7		14		21		28	
	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D
1	Óbito									
2	Óbito									
3	0	0	5	7	7	8	Óbito			
4	0	0	7	6	7	8	7	9	8	9
5	Óbito									
6	0	0	0	1	7	7	10	10	12	13
7	0	0	7	6	8	8	10	10	12	12
8	0	0	7	7	11	11	8	7	8	8
9	0	0	0	1	7	#	Óbito			
E: Esquerdo					D: Direito					

Lesão no membro inferior direito comprometendo a análise

ANEXO IV
COMPLICAÇÕES E
ACHADOS RELEVANTES DE NECROPSIA

COMPLICAÇÕES:
Droga A T0: ratos 3 e 6 com infecção urinária (ITU) na segunda semana (8º dia)
Droga B T0: rato 5 com ITU na segunda semana
Droga A T-4h: rato 2 com bexiga neurogênica (arreflexia) permanente; rato 8 com ITU a partir da segunda semana
Droga B T-4h: ratos 4 e 9 com ITU a partir da segunda semana; rato 9 com celulite no membro inferior direito (MID) no 6º dia, autofagia 14º dia e óbito no 16º dia

ACHADOS RELEVANTES DE NECRÓPSIA:
Droga A T0: ratos 3 e 6 com bexiga neurogênica volumosa, suspeita de ITU no rato 6
Droga B T0: sem dados relevantes
Droga A T-4h: rato 8 bexiga neurogênica volumosa
Droga B T-4h: rato 3 bexiga neurogênica volumosa, ITU e condensação pulmonar à direita; ratos 4 e 9 bexiga neurogênica volumosa; rato 9 sinais de autofagia em MID e bexiga neurogênica volumosa

8 REFERÊNCIAS

Albin MS, White RJ. Epidemiology, physiopathology, and experimental therapeutics of acute spinal cord injury. *Crit Care Clin*. 1987;3:441-52.

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

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

Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery*. 1999;44(5):1027-40.

Anderson DK, Means ED, Waters TR, Green ES. Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. *J Neurosurg*. 1982;56:106-13.

Anderson DK, Saunders RD, Demediuk P, Dugan LL, Braughler JM, Hall ED, Means ED, Horrocks LA. Lipid hydrolysis and peroxidation in injured spinal cord: partial protection with methylprednisolone or vitamin E and selenium. *Cent Nerv Syst Trauma*. 1985;2:257-67.

Balentine JD. Pathology of experimental spinal cord trauma: I. The necrotic lesion as a function of vascular injury. *Lab Invest*. 1978;39:236-53.

Barros Filho TEP, Taricco MA, Oliveira RP, D'andrea 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. *Rev Hosp Fac Med S P*. 1990;45:123-126.

Basso DM, Bresnahan JC, Beattie MS. Incomplete recovery after spinal cord contusion is associated with a nearly complete loss of vestibulospinal system (VSS) and long descending propriospinal neurons (LDPN) in rats. *Soc Neurosci*. 1993;19:541.

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 weight-drop device versus transection. *Exp Neurol*. 1996;139:244-56.

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

Blight AR, Zimmer MP. Acute spinal cord injury: pharmacotherapy and drug development perspectives. *Curr Opin Investig Drugs*. 2001;2:801-8.

Bracken MB, Shepard MJ, Hellenbrand KG, Collins WF, Leo LS, Freeman DF, Wagner FC, Flamm ES, Eisenberg HM, Goodman JH, Perot PL Jr, Green BA,

Grossman RG, Meagher JN, Young W, Fischer B, Clifton GL, Hunt WE, Rifkinson N. Methylprednisolone and neurological function 1 year after spinal cord injury—Results of the national acute spinal cord injury study. *J Neurosurg.* 1985;63:704-13.

Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Baskin DS, Eisenberg HM, Flamm E, Leo-Summers L, Maroon JC, Marshall LF, Perot PL, Piepmeier J, Sonntag VKH, Wagner FC Jr, Wilberger LL, Winn HR, Young W. Methylprednisolone or naloxone treatment after acute spinal cord injury: 1- year follow-up data. Results of the second National Spinal Cord Injury Study. *J Neurosurg.* 1992;76:23-31.

Bracken MB, Holford TR. Effects of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NASCIS 2. *J Neurosurg.* 1993;79:500-7.

Bracken MB, Sheopard MJ, Holford TR, Leo-Summers L, Aldrich EF, Fazl M, Fehlings M, Herr DL, Hitchon PW, Marshall LF, Njockels RP, Pascale V, Perot PL, Piepmeier J, Sonntag VKH, Wagner F, Wilberger JE, Winn HR, Young W. Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or tirilazad mesylate for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the third national acute spinal cord injury randomized controlled trial. *JAMA.* 1997;277:P. 1597-604.

Bracken MB, Sheopard MJ, Holford TR, Leo-Summers L, Aldrich EF, Fazl M, Fehlings MG, Herr DL, Hitchonj PW, Marshall LF, Nockels RP, Pascale V, Perot PL, Piepmeier J, Sonntag VKH, Wagner F, Wilberger JE, Winn HR, Young W. Methylprednisolone or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord

injury: 1-year follow-up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury randomized controlled trial. *J Neurosurg.* 1998;89:699-706.

Bracken MB. Pharmacological interventions for acute spinal cord injury. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;2:CD001046.

Bracken MB. Methylprednisolone and acute spinal cord injury: an update of the randomized evidence. *Spine.* 2001;26:47-54.

Braughler JM, Hall ED. Lactate and pyruvate metabolism in injured cat spinal cord before and after a single large intravenous dose of methylprednisolone. *J Neurosurg.* 1983;59:256-61.

Breasted JH. *The Edwin Smith Surgical Papyrus.* Chicago: University of Chicago Press; 1930. v.1-2 apud Dohrmann GJ, 1972. p.468-73.

Bregman BS, McAtee M, Dai HN, Kuhn PL. Neurotrophic factors increase axonal growth after spinal cord injury and transplantation in the adult rat. *Exp Neurol.* 1997;148:475-94.

Bresnahan JC, Beattie MS, Todd III FD, Noyes DH. A behavioral and anatomical analysis of spinal cord injury produced by a feedback-controlled impaction device. *Exp Neurol.* 1987;95:548-70.

Bunge RP, Puckett WR, Becerra JL, Marcillo A, Quencer RM. Observations on the pathology of human spinal cord injury: a review and classification of 22 new cases

with details in from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. *Adv Neurol.* 1993;59:75-89.

Chen A, Xu XM, Kleitman N, Bunge MB. Methilprednisolone administration improves axonal regeneration into Schwann cell grafts in transected adult rat thoracic spinal cord. *Exp Neurol.* 1996;138:261-76.

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. COBEA. Legislação e ética, 1999 [online]. Disponível em: <http://www.meusite.com.br/COBEA/etica.htm>.

Constantini S, Young W. The effects of methylprednisolone and the ganglioside GM1 on acute spinal cord injury in rats. *J Neurosurg.* 1994;80:97-111.

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 Ortop Traumatol.* 2002;11(34).

Debrovner CH. Stem cells, the miraculous cells rooted in controversy [online]. New York: Society for Ethical Culture; 2000. Available from: http://www.nysec.org/addresses/stem_cells.html.

Delamarter RB, Coyle J. Acute management of spinal cord injury. *J Am Acad Orthop Surg.* 1999;7:166-75.

De La Torre JC, Johnson CM, Goode DJ, Mullan S. Pharmacologic treatment and evaluation of permanent experimental spinal cord trauma. *Neurology*. 1975;25:508-14.

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

De La Torre JC. Spinal cord injury. Review of basic and applied research. *Spine*. 1981;6:315-35.

De La Torre JC. Spinal cord injuries models. *Prog Neurobiol*. 1984;15:289-344.

Dohrmann GJ. Experimental spinal cord trauma: a historical review. *Arch Neurol*. 1972;27:468-73.

Dohrmann GJ, Panjabi MM, Wagner FC. An apparatus for quantitating experimental spinal cord trauma. *Surg Neurol*. 1976; 315-8.

Dohrmann GJ, Panjabi MM, Dr. TECH. "Standardized" spinal cord trauma: biomechanical parameters and lesion volume. *Surg Neurol*. 1976;6:263-7.

Ducker TB, Hamit HF. Experimental treatments of acute spinal cord injury. *J Neurosurg*. 1969;30:603-7.

Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG. Pathological findings in acute experimental cord trauma.. *J Neurosurg*. 1971;35:700-8.

Ducker TB, Salzman M, Perot PL, Ballantine D. Experimental spinal cord trauma. I. Correlation of blood flow, tissue oxygen and neurologic status in the dog. *Surg Neurol.* 1978;10:60-3.

Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, Dumont AS. Acute spinal cord injury, part II: contemporary pharmacotherapy. *Clin Neuropharmacol.* 2001;24:265-79.

Fairholm DJ, Turnbull IM. Microangiographic study of experimental spinal cord injuries. *J Neurosurg.* 1971;35:277-86.

Ford RWJ. A reproducible spinal cord injury model in the cat. *J Neurosurg.* 1983;59:268-75.

Gale K, Kerasidis H, Wrathall JR. Spinal cord contusion in the rat: behavioral analysis of functional neurologic impairment. *Exp Neurol.* 1985;88:123-34.

Gebrin AS, Cunha AS, Da-Silva CF, Barros Filho TEP. Intervenções farmacológicas no trauma raquimedular: uma nova terapêutica. *Acta Ortop Bras.* 1997a;5(3):123-36.

Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Recovery of motor function after spinal-cord injury: a randomized, placebo controlled trial with GM-1 ganglioside. *N Engl J Med.* 1991;324:1829-38.

Goldberger ME, Bregman BS, Vierck CJ Jr., Brown M. Criteria for assessing recovery of function after spinal cord injury: behavioral methods. *Exp Neurol.* 1990;107:113-7.

Hall ED, Wolf DL, Braughler JM. Effects of a single large dose of methylprednisolone sodium succinate on experimental post traumatic spinal cord ischemia: dose response and time-action analysis. *J Neurosurg.* 1984; 61:124-30.

Hall ED. The neuroprotective pharmacology of methylprednisolone. *J Neurosurg.* 1992;76:13-22.

Hall ED. Pharmacological treatment of acute spinal cord injury: how do build on past success? *J Spinal Cord Med.* 2001;24:142-6.

Hansebout RR, Kuchner EF, Romero-Sierra C. Effects of local hypothermia and of steroids upon recovery from experimental spinal cord compression injury. *Surg Neurol.* 1975;4:531-6.

Hsieh Y-C, Liang W-Y, Tsai S-K, Wong C-S. Intrathecal ketorolac pretreatment reduced spinal cord ischemic injury in rats. *Anesth Analg.* 2005;100(4):1134-9.

Holdsworth F. Fractures, dislocations and fracture-dislocations of the spine: a review paper. *J Bone Joint Surg. (Am)* 1970;52:1534.

Hughes JT. The Edwin Smith Surgical Papyrus: an analysis of the first case reports of spinal cord injuries. *Paraplegia.* 1988;26:71-82.

Hurlbert RJ. The role steroids in acute spinal cord injury: an evidence-based analysis. *Spine.* 2001;26:39-46.

Janssen L, Hansebout RR. Pathogenesis of spinal cord injury and newer treatments. *Spine*. 1987;14:23-32.

Jeffery ND, Blakemore WF. Spinal cord injury in small animals 2. Current and future options for therapy. *Vet Rec*. 1999;144:407-13.

Kakulas BA. Pathology of spinal injuries. *Cent Nerv Sys Trauma*. 1985;1:117-29.

Kelly DL Jr, Lassiter KRL, Calogero JÁ, Alexander E Jr. Effects of local hypothermia and tissue oxygen studies in experimental paraplegia. *J Neurosurg*. 1970;33:554-63.

Kelly DL Jr, Lassiter RL, Vongsivut A, Smith JM. Effects of hyperbaric oxygenation and tissue oxygen studies in experimental paraplegia. *J Neurosurg*. 1972;36:425-9.

Kuchner EF, Hansebout RR. Combined steroid and hypothermia treatment of experimental spinal cord injury. *Surg Neurol*. 1976;6:371-6.

Kunkel-Bagden E, Dai HI, Bregman BS. Recovery of function after spinal cord hemisection in newborn and adult rats: differential effects on reflexes and locomotor function. *Exp Neurol*. 1992;116:40-51.

Legos JJ, Gritman KR, Tuma RF, Young W.F. Coadministration of methylprednisolone with hypertonic saline solution improves overall neurologic function and survival rates in a chronic model of spinal cord injury. *Neurosurgery*. 2001;49:1427-33.

Lohse DC, Senter HJ, Kauer IS. Spinal cord blood flow in experimental transient paraplegia. *J Neurosurg.* 1980;52:335-45.

McVeigh JF. Experimental cord crushes with special reference to the mechanical factors involved and subsequent changes in the areas of the cords 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.

Merola A, O'Brien MF, Castro BA, Smith DA, Eule JM, Lowe TG, Dwyer AP, Haher TR, Espat NJ. Histologic characterization of acute spinal cord injury treated with intravenous methylprednisolone. *J Orthop Trauma.* 2002;16:155-61.

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

Noble LJ, Wrathall JR. Spinal cord contusion in the rat: morphometric analyses of alterations in the spinal cord. *Exp Neurol.* 1985;95:530-3.

Noble LJ, Wrathall JR. An inexpensive apparatus for producing graded spinal cord injury in the rat. *Exp Neurol.* 1987;95:530-3.

Nockels R, Young W. Pharmacologic strategies in the treatment of experimental spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 1992;9(Suppl 1):S221- S7.

- Ramón-Cueto A, Plant GW, Bunge MB. Long-distance axonal regeneration in the transected adult rat spinal cord is promoted by olfactory ensheathing glia transplants. *J Neurosci*. 1998;18(10):3803-815.
- Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assesment 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*. 1978;49:844-53.
- Rodrigues NR. *Padronização da lesão medular espinal em ratos Wistar* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1999.
- Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev*. 1996;76:319-70.
- Short D, El Masry WS, Jones PW. High dose methylprednisolone in the management of acute spinal cord injury: a systematic review from a clinical perspective. *Spinal Cord* . 2000;38:273-86.
- Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, Johnno M. Methylprednisolone reduces spinal cord injury in rats without affecting tumor necrosis factor-alpha production. *J Neurotrauma*. 2001;18:533-43.
- Tarlov IM, Klinger H, Vitale S. Spinal cord compression studies. I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. *Arch Neurol Psychiatr*. 1953;70:813-9.

Tator CH, Deecke L. Value of normothermic perfusion, hypothermic perfusion, and durotomy in the treatment of experimental acute spinal cord trauma. *J Neurosurg.* 1973;39:52-64.

Tator CH, Rowed IW. Current concepts in the immediate management of acute spinal cord injuries. *Can Med Assoc J.* 1979;121:1453-64.

Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg.* 1991;75:15-26.

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

Wagner FC Jr, Dohrmann GJ, Bucy PC. Histopathology of transitory traumatic paraplegia in the monkey. *J Neurosurg.* 1971;35:272-6.

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

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.

Yoon DH, Kim YS, Young W. Therapeutic time window for methylprednisolone in spinal cord injured rat. *Yonsei Med J.* 1999;40:313-20.

Young W, Flamm ES, Demopoulos HB, Tomasula JJ, DeCrescito V. Effect of naloxene on posttraumatic ischemia in experimental spinal contusion. *J Neurosurg.* 1991;55:209-19.

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