

Pedro Henrique da Rosa Corrêa, Luiz Valmor Cruz Portela

Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

INTRODUÇÃO

O traumatismo crânio encefálico (TCE) é uma lesão intracraniana causada por um agente externo como uma pancada, sacudida ou penetração por um objeto estranho no crânio. Existem diferentes tipos de classificação de acordo com a severidade, mecanismo e abrangência. O TCE é uma das principais causas de morte e invalidez no mundo, levando a danos agudos e crônicos, sendo um risco para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer. No Brasil, em 2013 a incidência foi de 500 casos para cada 100.000 habitantes tornando o Brasil um dos líderes mundiais de casos de TCE. Os mecanismos do TCE ainda não estão completamente elucidados, o que dificulta a recuperação dos pacientes e a busca de novos tratamentos terapêuticos. O objetivo deste trabalho é avaliar o dano motor causado pelo TCE em um modelo animal de impacto cortical controlado (CCI, controlled cortical impact, sigla em inglês).

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais: Foram usados 30 camundongos adultos machos Swiss, entre 3 e 4 meses de idade, separados em dois grupos experimentais, sham (15 animais) e CCI (15 animais).

•Indução do CCI: os animais foram anestesiados com isoflurano 3% e submetidos a uma cirurgia estereotáxica. Foi realizada uma craniotomia (4 mm de diâmetro) e realizado o CCI com as seguintes especificações: diâmetro do tip: 3mm; velocidade de impacto: 5,7 m/s; profundidade: 1,5 mm; tempo de permanência do tip: 100ms. Após o impacto, a craniotomia é fechada com uma lamínula de vidro côncava e resina, a pele é suturada e os animais são mantidos em suas caixas sobre um colchão térmico a 37 ± 1 °C até a recuperação da anestesia.

Testes comportamentais

- Teste do cilindro: Avalia a preferência do animal na utilização das patas dianteiras quando ele a parede do cilindro. São avaliados 20 toques.
- Teste da pisada: Avalia o formato e a distância entre as pegadas. O animal é posto para caminhar em cima de um papel com as patas dianteiras pintadas.
- Barra horizontal: Avalia a força das patas dianteiras e a capacidade de animal em se locomover sob uma barra. O animal é suspenso pelas patas dianteiras em uma barra horizontal (50 cm de altura) e é avaliado o tempo que ele permanece na barra.
- Rotarod: Avalia da atividade locomotora. Antes do teste o animal é pré-treinado durante 3 dias para que ele aprenda a se locomover no aparato. O tempo máximo do teste por sessão é de 180 segundos. Velocidade = 24rpm

Foi realizado uma histoquímica com coloração de violeta de cresil para visualização histológica da lesão.

O número de aprovação deste projeto no CEUA 26376.

Diagrama do desenho experimental:

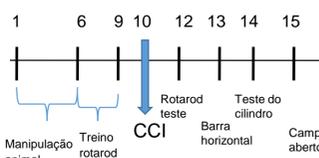


Figura 1. Cronograma do experimento demonstrando os dias dos treinos, CCI e dos testes.

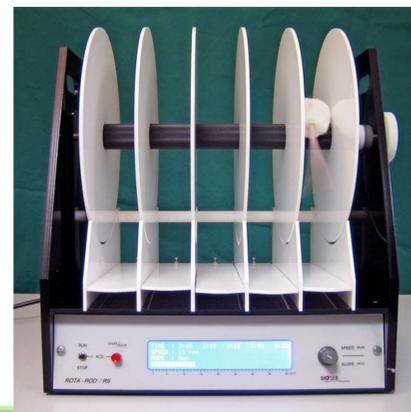


Figura 2. Exemplo de rotarod para camundongos com 5 lugares.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rotarod Treino

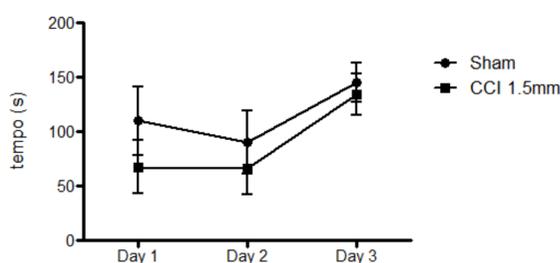


Figura 3. ANOVA de duas vias mostrando a progressão dos animais a cada dia de treino.

Barra Horizontal

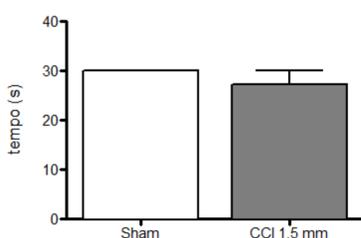


Figura 4. Não houve diferença no tempo de permanência na barra entre os camundongos do grupo sham em relação aos camundongos do grupo CCI. Teste t ($p=0.4063$)

Teste do Cilindro

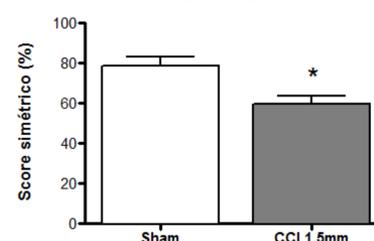


Figura 4. Avaliação do score simétrico entre os grupos CCI e Sham. Os animais do grupo CCI foram estatisticamente menos simétricos em relação aos animais do grupo Sham. Teste t ($*=p=0.0078$)

Rotarod Teste

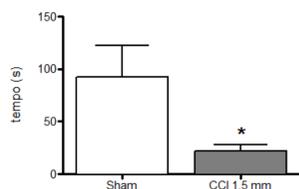


Figura 5. Teste do rotarod feito para avaliar a motricidade dos grupos por meio do tempo que eles permanecem no aparato. Os animais do grupo CCI permaneceram significativamente menos tempo no aparato em comparação aos animais do grupo Sham. Teste t ($*=p=0.0204$)

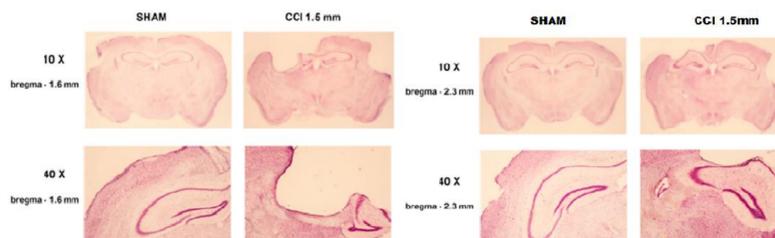


Figura 6. Histoquímica realizada com violeta de cresil para visualização da lesão em dois pontos do cérebro.

Campo Aberto

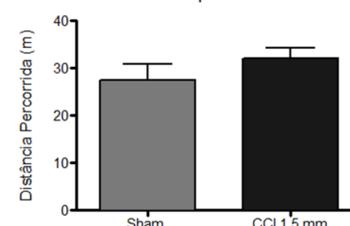


Figura 7. Campo aberto avaliando a locomoção espontânea e distância total percorrida pelos camundongos de ambos os grupos. Teste t ($p=0.2586$)

Não houve diferença estatística na distância percorrida entre os dois grupos no teste do campo aberto, o que significa que os animais não tiveram um prejuízo na locomoção espontânea, entretanto houve uma redução significativa no tempo de permanência dos animais no rotarod do grupo CCI em relação ao grupo Sham ($p = 0,02$) o que implica em dificuldades de coordenação motora causada pela injúria. Foi visto também uma diminuição significativa na simetria do grupo CCI em relação ao grupo Sham ($p=0,008$) no teste do cilindro o que confirma a lesão cortical. Nos testes da pisada e barra horizontal não foi verificado nenhuma diferença significativa. Com nossos dados comportamentais foi possível presumir que o córtex motor dos animais foi afetado, levando a problemas motores primários, porém um estudo posterior com uma avaliação tardia se faz necessário para avaliar danos secundários e se o nosso modelo causa danos transientes ou persistentes.