

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
THYARA CAROLINE WEIZENMANN

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DECANOATO DE NANDROLONA EM LESÃO MEDULAR  
EXPERIMENTAL EM RATOS

CURITIBA  
2019

THYARA CAROLINE WEIZENMANN

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DECANOATO DE NANDROLONA EM LESÃO  
MEDULAR EXPERIMENTAL EM RATOS

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. José Fernando Ibáñez

CURITIBA

2019

W436a Weizenmann, Thyara Caroline  
Avaliação do efeito do decanoato de nandrolona em lesão medular experimental em ratos / Thyara Caroline Weizenmann. - Curitiba, 2019.  
49 p.: il.,

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.  
Orientador: José Fernando Ibáñez.

1. Rato - fisiologia. 2. Esteroides anabólicos. 3. Traumatismo da coluna vertebral. 4. Medula espinhal - doenças. I. Ibáñez, José Fernando (Orientador). II. Título. III. Universidade federal do Paraná.

CDU 599.323:616.7



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRARIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS  
VETERINÁRIAS - 40001016023P3

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS VETERINÁRIAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **THYARA CAROLINE WEIZENMANN** intitulada: **AVALIAÇÃO DO EFEITO DO DECANOATO DE NANDROLONA EM LESÃO MEDULAR EXPERIMENTAL EM RATOS**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua Aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 26 de Março de 2019.

  
JOSE FERNANDO IBANEZ

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

  
JOSE ADEMAR VILLANOVA JUNIOR

Avaliador Externo (PUC/PR)

  
PETERSON TRICHES DORNBUSCH

Avaliador Interno (UFPR)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a cada dia, uma página de vida nova.

A minha família, por sempre acreditar em mim. Pelo amor e apoio incondicional.

Ao meu orientador José Fernando Ibáñez por me orientar e por sempre me lembrar que o céu é azul e a vida é bela, mesmo em meio a tempestades.

A minha coorientadora Aline Viott por todo esforço com as análises histológicas, por dedicar seu tempo de vida comigo.

Aos professores Ademar José Villanova, Juan Carlos Moreno e Petterson Triches Dornbusch, por todas as contribuições para a melhoria do projeto.

Ao professor Luis Cláudio Fernandes, pelo apoio e por ceder o Laboratório de Fisiologia para a realização do experimento.

A doutoranda Stephanie Rubbiane Carvalhal por todos os ensinamentos e dedicação.

Ao mestrando Flávio Augusto Vieira Freitag por fazer parte da equipe, por ser o melhor anestesista que já se viu!

Aos residentes Lucas Lubasinski e Neíse Tortato, pela parceria nesses dois anos, por me ajudarem na caminhada!

As acadêmicas Altina Bruna Barbosa, Fernanda Wendt, Gabriela Gnoatto, Letícia Fernanda Laube, e Polyana Oliveira, por serem a melhor equipe acadêmica que alguém poderia ter.

As residentes Marina Berón e Karin Pase Dito Montagnini, por não medirem esforços, e por toda ajuda prestada.

Ao colega Leonardo Gruchouskei pela ajuda com os cortes histológicos.

As colegas do Biotério Central, Iselen Ivanoski, Gilmara Miranda e Luana Mazepa, pela força e incentivo.

A colega Gislaine Klemba, por me auxiliar em todos os momentos.

As amigas Bárbara Barbi e Gabriela Titon, por compartilhar os momentos, a rotina, a vida! Por todo o café, e toda cerveja. Por toda prosa e toda poesia.

A UFPR, pela oportunidade de me tornar quem sou. É imensa a gratidão e orgulho que tenho de fazer parte desta Instituição.

A CAPES, pelo apoio financeiro com a bolsa de pesquisa - Código 001.

*“A mente que se abre a uma nova ideia  
jamais voltará ao seu tamanho original”.*

*Albert Einstein*

## RESUMO

O trauma medular agudo é causa comum de disfunção neurológica em animais que compromete as funções motora, sensitiva e autonômica, podendo resultar em incapacidade permanente. O decanoato de nandrolona (DN) é um esteroide amplamente estudado por seu efeito anabólico predominante e baixo potencial androgênico. É descrito como estimulador de crescimento e promotor de resistência celular em diversos tecidos, inclusive o neurológico. Objetivos: Avaliar o efeito do DN em ratos submetidos ao trauma medular agudo. Materiais e métodos: Foram utilizados 32 ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar), adultos jovens, com peso entre 240 e 260 gramas, divididos em três grupos: grupo submetido à lesão medular aguda e tratamento (GNAN) (n = 13); grupo controle submetido à lesão medular sem tratamento (GCON) (n = 13); o terceiro grupo submetido à laminectomia sem lesão medular (GLAM) (n = 6), para controle de alterações decorrentes do procedimento. Para a produção da lesão medular utilizou-se um aparato de metal com liberação de peso de 20g de 25 cm de altura. Após exposição do canal medular uma haste de metal com diâmetro de 2mm era posicionada em contato com a medula, e ao liberar o peso, a haste era atingida e promovia a lesão medular. Após produção da lesão, administrouse DN na dose de 2 mg/Kg, via intramuscular após o procedimento cirúrgico. Os animais foram avaliados quanto à recuperação da função motora em cinco momentos: 24 h, 48 h, 72 h, 7 e 14 dias pós-lesão medular. No 14º dia realizou-se eutanásia e coleta dos fragmentos da medula espinhal e bexiga urinária para avaliação histológica. Resultados e Discussão: Os animais submetidos à lesão medular apresentaram paraplegia, não pontuando na escala BBB. A partir do sétimo dia pós-lesão observou-se melhora locomotora gradativa nos grupos com variações na escala. Após lesão medular, todos os animais manifestaram retenção urinária. O retorno da função ocorreu em média no quinto dia pós-lesão, não havendo diferença significativa entre os grupos. A bexiga urinária foi avaliada qualitativamente quanto a presença de infiltrado inflamatório e hemorragia. Os critérios histológicos avaliados nos segmentos medulares foram hemorragia, cromatólise, necrose neuronal, astrocitose e astrogliose, células de Gitter, leuco e poliomiomalácia. A avaliação locomotora dos animais submetidos à lesão medular aguda revelou variações quanto a intensidade da lesão nos animais do GNAN e GCON. O tempo foi fator determinante na evolução clínica dos animais, sem evidências da influência do DN. As avaliações histológicas medulares apresentaram variações quanto à intensidade da lesão, com tendência de menor intensidade nos segmentos cranial e epicentro da lesão dos animais submetidos ao tratamento com DN, porém não constatou-se evidências estatísticas significativas. As avaliações histopatológicas da bexiga urinária demonstraram a existência de resposta inflamatória caracterizada cistite linfocitocitária e neutrofílica, nos animais do GNAN e GCON, sem interferência do DN quanto à presença da alteração. Conclusões: O método de lesão medular utilizado reproduziu de maneira heterogênea, incapacidade funcional, sensorial e motora grave em ratos. O DN na posologia avaliada não influenciou de forma significativa no retorno da função locomotora e na intensidade das alterações medulares histopatológicas.

**Palavras-chave:** Traumatismos da coluna vertebral. Fármacos neuroprotetores. Esteroides.

## ABSTRACT

Spinal cord injury is a common cause of neurological dysfunction in animals that compromises motor, sensory and autonomic functions and may result in permanent disability. Nandrolone decanoate (DN) is a steroid widely studied for its predominant anabolic effect and low androgenic potential. It is described as a growth promoter and promoter of cell resistance in several tissues, including the neurological. Objectives: To evaluate the effect of DN in rats submitted to spinal cord injury. Materials and methods: Thirty-two rats (*Rattus norvegicus*, Wistar line), young adults, weighing between 240 and 260 grams, were divided into three groups: group submitted to acute spinal cord injury and treatment (GNAN) (n = 13); control group submitted to untreated spinal cord injury (GCON) (n = 13); the third group submitted to laminectomy without spinal cord injury (GLAM) (n = 6), to control procedural alterations. For the production of the spinal cord injury, a 20 g 25 cm high metal release device was used. After exposure of the medullary canal a metal rod with a diameter of 2 mm was placed in contact with the bone marrow, and when releasing the weight, the stem was reached and promoted the spinal cord injury. After injury, 2 mg / kg of DN was administered intramuscularly after the surgical procedure. The animals were evaluated for motor function recovery in five moments: 24 h, 48 h, 72 h, 7 and 14 days after spinal cord injury. On the 14th day, euthanasia and collection of the fragments of the spinal cord and urinary bladder were performed for histological evaluation. Results and Discussion: The animals submitted to the spinal cord injury presented paraplegia, not scoring on the BBB scale. From the seventh postoperative day, there was gradual locomotive improvement in the groups with variations in the scale. After spinal cord injury, all animals showed urinary retention. The return of the function occurred on average on the fifth post-injury day, with no significant difference between the groups. The urinary bladder was evaluated qualitatively for the presence of inflammatory infiltrate and hemorrhage. The histological criteria evaluated in the spinal segments were hemorrhage, chromatolysis, neuronal necrosis, astrocytosis and astrogliosis, Gitter cells, leuco and poliomyelomalacia. The locomotor evaluation of the animals submitted to the acute medullary lesion revealed variations in the lesion intensity in the GNAN and GCON animals. The time was a determining factor in the clinical evolution of the animals, without evidence of the influence of DN. The medullary histological evaluations presented variations regarding the intensity of the lesion, with a tendency of less intensity in the cranial segments and epicenter of the lesion of the animals submitted to the treatment with DN, but no significant statistical evidences were verified. Histopathological evaluations of the urinary bladder demonstrated the presence of an inflammatory response characterized by lymphohistiocytic and neutrophilic cystitis, in the animals of GNAN and GCON, without interference of DN in the presence of the alteration. Conclusions: The spinal cord injury method used heterogeneously reproduced functional, sensory and motor incapacity in rats. The DN in the dosage evaluated did not significantly influence the return of the locomotor function and the intensity of histopathological changes in the spinal cord.

**Key words:** Spinal injuries. Neuroprotective drugs. Steroids.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Equipamento impactador utilizado para produção de lesão medular contusiva experimental em ratos.....	18
FIGURA 2. Aspecto histológico de corte transversal de segmento medular de animal submetido à laminectomia sem lesão medular .....	28
FIGURA 3. Aspecto histológico de corte transversal do epicentro da lesão de animal submetido à lesão medular e tratado com decanoato de nandrolona.....	28
FIGURA 4. Aspecto histológico de corte transversal de vesícula urinária de rato submetido à lesão medular e tratado com decanoato de nandrolona.....	29

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. Boxplot da distribuição dos dados quanto à avaliação locomotora .....	22
GRÁFICO 2. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de cromatólise .....	24
GRÁFICO 3. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de espongirose .....	24
GRÁFICO 4. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de necrose neuronal .....	25
GRÁFICO 5. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de astrocitose e astrogliose .....	25
GRÁFICO 6. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de células de Gitter .....	26
GRÁFICO 7. Boxplot da distribuição dos dados quanto a intensidade de leucomielomalácia .....	26
GRÁFICO 8. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de poliomiomalácia .....	27

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Representação dos dados estatísticos obtidos a partir da análise estatística da escala BBB, nos cinco momentos de avaliação locomotora..... 22

TABELA 2. Representação do nível de significância (valor de p) entre os grupos. 27

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>OBJETIVOS</b> .....	12
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
<i>Lesão medular aguda</i> .....	13
<i>Fisiopatologia do trauma medular</i> .....	13
<i>Esteroides anabolizantes</i> .....	14
<i>Estudos experimentais de lesão medular</i> .....	15
<i>Modelo experimental</i> .....	16
<i>Método de avaliação locomotora</i> .....	16
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	17
<i>Animais</i> .....	17
<i>Grupos</i> .....	17
<i>Procedimento cirúrgico</i> .....	17
<i>Procedimentos pós-operatórios</i> .....	18
<i>Avaliação motora</i> .....	19
<i>Eutanásia</i> .....	19
<i>Preparo das amostras biológicas</i> .....	19
<i>Análises estatísticas</i> .....	20
<b>RESULTADOS</b> .....	21
<i>Mortalidade no estudo</i> .....	21
<i>Avaliação locomotora</i> .....	21
<i>Avaliação do retorno da micção espontânea</i> .....	22
<i>Avaliação histológica da medula espinhal</i> .....	23
<i>Avaliação histológica da bexiga urinária</i> .....	29
<b>DISCUSSÃO</b> .....	30
<b>CONCLUSÕES</b> .....	34
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	35
<b>ANEXOS</b> .....	43
<i>Avaliação funcional da escala Basso, Beatie and Bresnahan (BBB)</i> .....	43
<i>Certificado Comissão de ética do Setor de Ciências Agrárias</i> .....	45
<i>Certificado Comissão de Ética do Setor de Ciências Biológicas</i> .....	46
<i>Certificado Curso de Bioterismo do Einstein</i> .....	47
<i>Certificado Simpósio de Neurologia</i> .....	48
<i>Certificado Curso Teórico sobre Manipulação Experimental Animal</i> .....	49

## INTRODUÇÃO

Lesões à coluna vertebral e medula espinhal compõem desordens neurológicas que comprometem funções motoras, sensitivas e autonômicas, implicando em situações que podem levar a perda permanente da função neurológica (AHUJA *et al.*, 2017; JUTZELER *et al.*, 2018). Opções atuais de tratamento para lesão medular aguda incluem intervenções cirúrgicas para estabilização e descompressão medular, e cuidados de reabilitação. O objetivo do tratamento é permitir a recuperação neurológica em casos que a magnitude da lesão primária esteja abaixo do limiar que a torne irreversível (KRUCOFF *et al.*, 2016).

Os danos à medula espinhal variam consideravelmente dependendo da gravidade, velocidade e duração da injúria (AHUJA *et al.*, 2017). Trauma medular agudo resulta em déficits neurológicos primariamente por interrupção direta das vias neuronais, e por alterações secundárias que resultam em redução sanguínea local, isquemia e morte neuronal (LU *et al.*, 2000; CALISKAN *et al.*, 2016; AHUJA *et al.*, 2017).

O processo de recuperação neurológica depende da plasticidade sináptica nos circuitos preexistentes, por reorganização das vias descendentes e da formação de vias neurais colaterais compensatórias (FAKHOURY, 2015; BAKLAUSHEV, 2019). Pesquisadores descrevem a necessidade de estudos para melhor caracterizar os mecanismos de regeneração axonal e recuperação funcional após lesão medular aguda (ROSENZWEIG *et al.*, 2010; BAKLAUSHEV, 2019).

Esteroides anabólicos androgênicos são derivados sintéticos do hormônio masculino testosterona, sendo o decanoato de nandrolona (DN) um dos principais representantes (GAO *et al.*, 2005). Estudos evidenciam a influência do DN na expressão gênica e no desenvolvimento de inúmeros tecidos, incluindo o neurológico (QIN *et al.*, 2010). Experimentos com ratos e coelhos submetidos à lesão neural periférica demonstram melhor recuperação motora e sensorial dos animais submetidos ao tratamento com DN (VITA *et al.*, 1983; GHIZONI *et al.*, 2013). Diante dos potenciais benefícios do DN, objetivou-se estudar seu efeito em lesão medular aguda experimental em ratos.

**OBJETIVOS**

Avaliar histologicamente as bexigas urinárias e medulas espinhais de ratos Wistar submetidos à lesão medular aguda e tratados com decanoato de nandrolona

Avaliar a locomoção de ratos Wistar submetidos à lesão medular aguda com e sem tratamento com decanoato de nandrolona

## REVISÃO DE LITERATURA

### *Lesão medular aguda*

A lesão medular aguda desencadeia a sequência de eventos vasculares, bioquímicos e inflamatórios que resultam no desenvolvimento de lesões teciduais secundárias, levando à destruição progressiva do tecido neurológico com consequências frequentemente irreversíveis às funções motora e sensorial do paciente (VANGANSEWINKEL *et al.*, 2019). A compreensão dos transtornos fisiopatológicos que ocorrem após lesão medular aguda, é fundamental para a adoção de medidas adequadas para interromper a destruição progressiva do tecido nervoso, proporcionando a possibilidade de recuperação funcional (AHUJA & FEHLINGS, 2016; BAKLAUSHEV *et al.*, 2019).

### *Fisiopatologia do trauma medular*

A lesão medular apresenta mecanismos de injúrias primárias e secundárias decorrentes de danos mecânicos como interrupção anatômica, compressão, concussão e isquemia (ARIAS & MARINHO, 2015; FLETCHER *et al.*, 2015). Após a lesão medular ocorre a deflagração de eventos destrutivos que expandem a zona de lesão do tecido neuronal, resultando em deterioração funcional e comprometimento da integridade estrutural da medula espinhal (ANWAR *et al.*, 2016). As disfunções metabólicas severas, caracterizadas por intensa despolarização das membranas celulares e liberação de glutamato, resultam em diminuição da regeneração axonal e morte de neurônios em locais adjacentes ao epicentro da injúria (MAO *et al.*, 2015; ULNDREAJ, 2016; DIAS *et al.*, 2018).

O epicentro da lesão se expande progressivamente e áreas hemorrágicas são substituídas por formações cavitárias, envoltas por astrócitos retivos e células inflamatórias que formam superfícies cicatriciais gliais inibitórias, e atuam como barreira mecânica (REN *et al.*, 2017; DIAS *et al.*, 2018). Os inibidores de crescimento e glicoproteínas ativam proteínas quinase, resultando em colapso no crescimento axonal, e potente inibição da regeneração neuronal (CREGG *et al.*, 2014; SHEN, 2014; LI *et al.*, 2016; VANGANSEWINKEL *et al.*, 2019).

Estratégias destinadas a melhorar os resultados clínicos e a recuperação neurológica após lesão medular aguda são intensamente debatidas no meio científico. Propostas terapêuticas objetivam evitar a propagação das lesões secundárias e o

remodelamento tecidual, e propiciar a neuroregeneração. Apesar das pesquisas em modelos animais demonstrarem efeitos positivos, a tradução dos resultados experimentais para a prática clínica ainda é desafiadora (KABU *et al.*, 2015; MOEENDARBARY *et al.*, 2017; VANGANSEWINKEL *et al.*, 2019).

### *Esteroides anabolizantes*

O sistema nervoso central é tecido alvo dos esteroides sexuais, os quais agem por mecanismos genômicos, que modulam a síntese e liberação de neuropeptídeos e neurotransmissores; e não genômicos, que influenciam a excitabilidade elétrica, sinapses e as características morfológicas dos neurônios (McEWEN & MILNER, 2017). Estudos apontam a importância crítica desses hormônios inclusive durante o desenvolvimento embrionário, os quais influenciam na diferenciação neuronal e na ocorrência de sinapses (ZHOU *et al.*, 2013; FAN *et al.*, 2015). A eficácia neuroprotetora foi descrita com hormônios sexuais femininos, progesterona e estrógeno, bem como com o hormônio masculino, testosterona (SINGER *et al.*, 1999; BATES *et al.*, 2005).

O DN é um esteróide anabólico androgênico, derivado sintético do hormônio masculino testosterona (GAO *et al.*, 2005), amplamente pesquisado por possuir efeito anabólico predominante e baixo potencial androgênico (KUHN, 2002). É relatado em diversas pesquisas experimentais como agente estimulador de crescimento e promotor de resistência celular, e tem sido utilizado na regeneração de diversos tecidos, inclusive o neurológico (IBÑEZ *et al.*, 2003; PEREZ *et al.*, 2005; AHMAD *et al.*, 2013; MARQUES, 2016; GHIZONI *et al.*, 2013).

A influência positiva dos estrógenos na neuroproteção está relacionada à ativação de proteínas tirosina-cinase, inibição de enzimas proteolíticas, como a Caspase-3, e liberação do citocromo C mitocondrial, ocorrendo estabilização das membranas, redução do processo de peroxidação lipídica (LUDWIG *et al.*, 2017), apoptose e diminuição da extensão da lesão (SRIBNICK *et al.*, 2010; SAMANTARAY *et al.*, 2016). O estradiol, metabólito primário da testosterona, promove ainda aumento na concentração de substâncias que auxiliam no crescimento axonal, como fator neurotrófico circulante (IGF) e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (ROOF & HALL, 2000). Esses estudos demonstram o potencial dos estrógenos como promissores no tratamento de lesões medulares, e por isso a importância da investigação do decanoato de nandrolona no trauma medular agudo.

### *Estudos experimentais de lesão medular*

Allen, em 1911, foi o primeiro a padronizar modelo experimental reprodutível e qualificável de lesão medular, por queda de esfera metálica com peso pré-estabelecido sobre a medula espinhal em cães. A lesão é quantificada por produto do peso em gramas, pela altura em centímetros, e o resultado é expresso em gramas-centímetros (g.cm). O pesquisador observou que a queda de 240g.cm produz lesão parcial da medula com recuperação melhor que aquele produzido pela queda de 400g.cm. Constatou a presença de hemorragia e edema na substância branca e cinzenta da medula, e sugeriu que o aumento da pressão intramedular decorrente do edema e hemorragia agrava a lesão após o trauma inicial.

Tarlov *et al.* (1953) produziu a técnica da compressão medular em cães, e estudou a perda e recuperação da função sensitiva e motora nos animais. O pesquisador concluiu que a recuperação funcional, após compressão medular, depende do tempo de compressão para produzir a paralisia.

Ducker *et al.* (1971) realizou estudo experimental com macacos submetidos ao trauma medular por queda de peso de 10, 15, 20 e 25g em forma de cilindro de altura de 20 cm, com a resultante do impacto sobre a medula de 200g.cm, 300g.cm, 400g.cm e 500g.cm respectivamente. O pesquisador avaliou os achados microscópicos após sete dias da lesão medular e observou que a progressão do trauma medular é dependente e diretamente relacionada à gravidade da lesão.

Basso *et al.*, (1996) padronizou o aparelho *NYU (New York University)*, projetado para realizar lesão medular contusa em ratos, e demonstrou que o sistema permite produzir contusão graduada, consistente e reprodutível em todos os ratos. O teste NYU de impacto consiste na queda de peso de uma haste de 10g e altura de 25cm entre a ponta da haste e a superfície da medula espinhal em queda livre. O modelo impactador é o mais utilizado em pesquisas com lesão medular contusiva, e acredita-se que esta técnica é a que mais se aproxima do que realmente ocorre em seres humanos (BASSO *et al.*, 1996; VIALLE *et al.*, 1999; TORRES *et al.*, 2010a).

Apesar do avanço em pesquisas com lesão medular, poucos instrumentos estão disponíveis para a reprodução da lesão medular experimental. A deficiência de equipamentos se deve principalmente, aos custos elevados e dificuldade de adaptação de materiais aos vários tamanhos de modelos animais (CUNNINGHAM *et al.*, 2005). Devido à inacessibilidade a tais equipamentos nos centros de pesquisa, buscam-se mecanismos impactadores alternativos, como o modelo estudado por

Ducker *et al.*, (1971), reproduzido na Universidade Federal do Paraná, validado como modelo em estudos experimentais de trauma medular em ratos (TANHOFFER, 2004; CARVALHAL, 2017), e utilizado neste estudo para a produção da lesão medular experimental.

#### *Modelo experimental*

Os modelos experimentais têm sido utilizados visando acumular experiências, e conseqüentemente melhorar e aprimorar os conhecimentos sobre fisiopatologia da lesão medular (BASSO, 1995; CRISTANTE *et al.*, 2009). Modelos animais diferem em muitos aspectos quanto às lesões ocorridas em humanos, mas são fontes importantes de informação (RODRIGUES *et al.*, 2010). Pesquisadores concordam que o rato é o melhor modelo experimental para análises prévias e a única forma de comparar resultados é a partir de lesões padronizadas e em grande número de espécimes (CARVALHO *et al.*, 2007).

#### *Método de avaliação locomotora*

Nos estudos experimentais de trauma medular é importante a padronização na avaliação locomotora dos animais, a fim de determinar os efeitos da intervenção terapêutica no estudo (BASSO *et al.*, 1995; KJELL & OLSON, 2016). Em modelos experimentais, o método de avaliação ideal seria o de fácil utilização, sensível a detalhes e capaz de avaliar rapidamente a função locomotora em grande número de animais (MOLINA *et al.*, 2004).

O método de pontuação de Basso, Bresnahan e Beattie (BBB) (1995) é o modelo de avaliação locomotora mais aceito e utilizado em pesquisas de lesão medular em ratos, pois quantifica de maneira satisfatória a recuperação da função motora sem desvios motivados pela metodologia de observação (BARROS & MOLINA, 2008).

O método BBB é definido como uma escala que representa a categorização detalhada e organizada da recuperação motora dos membros pélvicos de ratos submetidos à lesão medular. A escala varia entre 0 e 21 pontos, em que 0 representa paralisia total do membro e 21, atividade locomotora normal, com consistente coordenação na caminhada, paralelismo entre os membros durante apoio e elevação dos dedos, estabilidade consistente do tronco e cauda levemente elevada durante a locomoção (BASSO *et al.*, 1995).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Animais*

Foram utilizados 32 ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar) machos, adultos jovens, com peso entre 240 e 260 gramas, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal do Paraná (UFPR). O experimento foi realizado seguindo normas e princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade Federal do Paraná do setor de Ciências Agrárias (Protocolo 080/2017 - Anexo) e Ciências Biológicas (Protocolo 1172 - Anexo).

Os animais utilizados no experimento foram alocados na Ala de Experimentação do Biotério durante os 14 dias, mantidos em gaiolas coletivas com 3 a 4 animais em cada, com água e ração *ad libitum*. O Biotério dispõe de salas equipadas com aparelhos de ar condicionado, exaustores e timer para controle da luminosidade (12h luz – 12h escuro). A temperatura foi mantida em 22°C, umidade de 45% a 55% e ventilação controlada (de 10 a 15 trocas de ar por hora).

### *Grupos*

Os animais foram identificados aleatoriamente, e distribuídos em três grupos: Grupo submetido à lesão medular aguda e tratamento com decanoato de nandrolona (GNAN, n=13); grupo controle submetido à lesão medular sem tratamento (GCON, n=13); e o terceiro grupo submetido à laminectomia sem lesão medular (GLAM, n=6), para controle de alterações decorrentes do procedimento.

### *Procedimento anestésico*

A medicação pré-anestésica consistiu na administração de 2 mg/kg de midazolam e 3 mg/kg de morfina. A manutenção anestésica foi realizada com isoflurano em circuito anestésico com oxigênio 100%. No monitoramento anestésico avaliou-se a frequência cardíaca e respiratória, e temperatura corporal.

### *Procedimento cirúrgico*

Após tricotomia e bloqueio local com lidocaína 2% na linha de incisão, realizou-se o posicionamento do animal e antisepsia do campo operatório com clorexidine degermante 2% e álcool 70%. Realizou-se incisão cirúrgica de 2 cm na linha média dorsal, para exposição da coluna vertebral de T8 a T12. O tecido subcutâneo foi divulsionado e os músculos inseridos nos processos espinhosos e nas lâminas de T10

e T11 foram afastados. Removeu-se o processo espinhoso e a lâmina T10, e a metade distal do processo espinhoso de T9. Realizou-se laminectomia para exposição da duramáter permitindo acomodação da haste de metal do impactador. O impactador consiste em dispositivo de metal que libera o peso de 20g de 25cm de altura, com diâmetro da cabeça da haste de 2mm (Figura 1).

Após centralizar o animal no impactador, a haste era posicionada no segmento medular exposto e o peso liberado. Realizava-se inspeção da lesão medular e hemostasia na constatação de hemorragia. O animal era colocado novamente em superfície aquecida, e realizava-se as suturas de musculatura e pele em padrão simples interrompido com nylon 4-0.

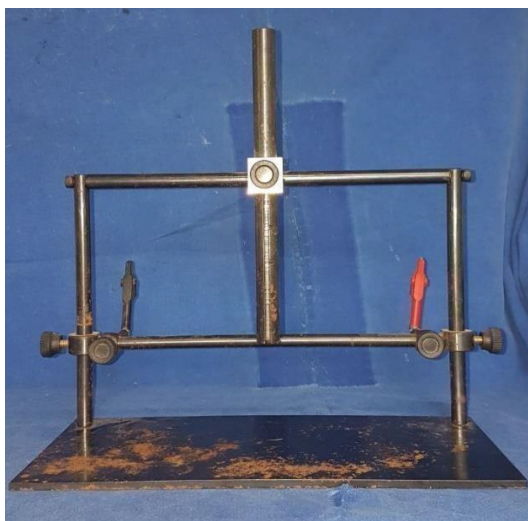


FIGURA 1. Equipamento impactador utilizado para produção de lesão medular contusiva experimental em ratos.

#### *Procedimentos pós-operatórios*

Os animais foram monitorados e mantidos em superfície aquecida até recuperarem a temperatura mínima de 36°C. Após recuperação, eram alocados nas caixas e monitorados quanto à função urinária. Realizou-se compressão vesical a cada 6 horas até recuperação completa da função.

Como protocolo analgésico instituiu-se morfina 5 mg/kg/BID por via intramuscular por três dias. Como agente antibiótico profilático optou-se por enrofloxacin 10 mg/kg/SID via intramuscular por cinco dias. O tratamento foi instituído em todos os animais do estudo, a fim de evitar viés nas avaliações. Os animais pertencentes ao grupo experimental receberam 2 mg/kg de decanoato de nandrolona, por via intramuscular imediatamente pós-lesão, aplicação única.

### *Avaliação motora*

A avaliação motora foi realizada após 24h, 48h, 72 horas, 7 e 14 dias pós-lesão, seguindo a escala de avaliação motora BBB (BASSO *et al.*, 1995). A perda total de motricidade em membros pélvicos 24 horas após o procedimento foi critério de inclusão no estudo. Os animais foram avaliados e filmados em campo de 0.8m x 1.5m por 5 minutos.

As avaliações locomotoras foram realizadas por pesquisador cego ao estudo, com domínio prévio dos atributos da ficha de pontuação. O examinador possuía a planilha de escala BBB onde descrevia os resultados. As pontuações dos animais foram comparadas e avaliadas estatisticamente.

### *Eutanásia*

No 14º dia pós-lesão medular, realizou-se o procedimento de eutanásia. Os animais foram anestesiados com sevoflurano, em sistema de câmara fechada com gaze embebida, permitindo perda da consciência rápida e suave. Após constatação de plano anestésico profundo, com avaliação do teste corneal negativo, realizava-se a decapitação.

### *Preparo das amostras biológicas*

Após a eutanásia, realizou-se necrópsia com coleta de amostras da medula espinhal e bexiga urinária. A medula foi dissecada e, em seguida, ressecada a partir do nível intervertebral C5 até o nível L1 e aderida em papel filtro com identificações topográficas do local da lesão, e das áreas craniais e caudais. Após identificação, as medulas e fragmentos da vesícula urinária foram acondicionadas individualmente em recipientes contendo formol tamponado 10% com proporção de 20:1.

Os segmentos medulares foram coletados no epicentro, e 3 mm cranial e 3mm caudal a lesão. Os fragmentos foram desidratados com álcool, diafanizados em xilol, submetidos à inclusão com formação dos blocos de parafina, seccionados com micrótomo a espessura de 4 µm, fixados em lâminas de vidro e corados por método de hematoxilina-eosina.

### *Análises estatísticas*

Os dados obtidos no estudo da recuperação locomotora e retorno da micção espontânea foram avaliados estatisticamente com o software R 3.5.0 e o pacote nparLD. Os testes estatísticos utilizados foram não-paramétricos, com intervalo de confiança nos dados de 95% ( $p=0,05$ ). O grupo GLAM não apresentou alterações medulares e vesicais, sendo desnecessária a sua inclusão na análise estatística pela ausência de variabilidade (parâmetro constante). Os grupos GNAN e GCON foram avaliados e comparados entre si.

Para análise da variável retorno da micção espontânea foi utilizado teste U de Mann-Whitney. Para avaliação da evolução temporal da pontuação na escala BBB, utilizou-se teste ANOVA – não paramétrico (BRUNNER *et al.*, 2002). A variável de alteração histológica vesical foi comparada entre os grupos utilizando-se o teste exato de Fischer. Análises das avaliações histológicas da medula foram realizadas de forma quantitativa para os parâmetros pré-estabelecidos. As variáveis foram tratadas como dados ordinais (classificação em cruces) e na comparação dos grupos, utilizou-se o teste de U de Mann-Whitney.

## RESULTADOS

### *Mortalidade no estudo*

Evidenciou-se óbito de quatro animais, dois do GNAN e dois do GCON 24 horas pós lesão, representando taxa de mortalidade de 15,39%. A causa de óbito dos animais durante o procedimento possivelmente foi por edema pulmonar neurogênico devido à congestão pulmonar visibilizada na necrópsia. Os outros dois animais que foram a óbito no pós-operatório tardio, não apresentaram alterações macroscópicas na necropsia, e a causa do óbito não foi esclarecida. Os animais foram excluídos do estudo.

### *Avaliação locomotora*

A avaliação locomotora consistiu na observação dos animais em cinco momentos distintos (24 h, 48 h, 72 h, 7 e 14 dias). Foram excluídos quatro animais do estudo, dois animais do GNAN e dois do GCON, por não apresentarem escore zero na escala BBB na primeira avaliação locomotora pós lesão medular, conforme descrito como critério de inclusão dos animais neste estudo. Desta forma, permaneceram no estudo 24 animais, nove animais nos grupos GNAN e GCON, e seis animais no GLAM.

Os animais do GLAM obtiveram 21 pontos na escala BBB nas cinco avaliações locomotoras. Em relação aos animais submetidos ao procedimento de lesão medular, nas três primeiras observações, todos os animais pontuaram zero na escala BBB. A partir da quarta avaliação, no sétimo dia pós-procedimento cirúrgico, os animais apresentaram escores variados na escala.

O início da recuperação parcial da motricidade dos animais submetidos ao procedimento ocorreu em média aos sete dias pós-lesão, representado por 66,67% (n = 6) dos indivíduos de ambos os grupos, com pontuações variadas na escala. No 14º dia, apenas 22% dos animais (n = 2) do grupo experimental e 11,11% (n = 1) do grupo controle não recuperaram a função locomotora, pontuando zero na escala BBB. A mediana das pontuações nas avaliações locomotoras e as mínimas e máximas na escala BBB, bem como intervalo de confiança, estão detalhadas na Tabela 1. A melhora nos resultados da escala BBB foi progressiva ao longo do tempo conforme demonstrado no Gráfico 1.

TABELA 1. Representação das medianas e pontuações mínimas e máximas, obtidas a partir da análise estatística da escala BBB, nos cinco momentos de avaliação locomotora nos grupos GNAN e GCON.

		MEDIANA	MIN-MAX
GNAN	BBB 24 hs	0	0 – 0
	BBB 48 hs	0	0 – 0
	BBB 72 hs	0	0 – 0
	BBB 7 dias	3	0 – 13
	BBB 14 dias	7	0 – 20
GCON	BBB 24 hs	0	0 – 0
	BBB 48 hs	0	0 – 0
	BBB 72 hs	0	0 – 0
	BBB 7 dias	1	0 – 15
	BBB 14 dias	7	0 – 20

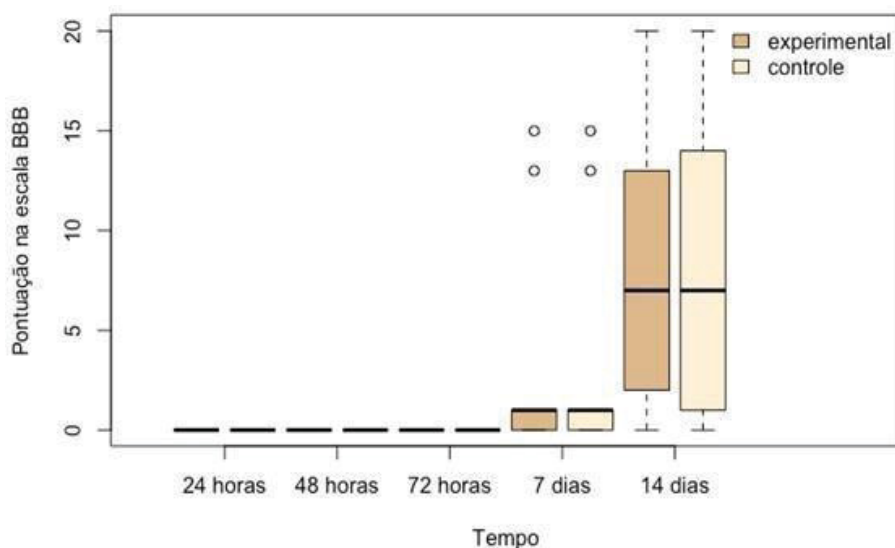


GRÁFICO 1. Boxplot da distribuição dos dados quanto à avaliação locomotora. Nos três primeiros momentos, todos os animais pontuaram 0 na escala BBB. Aos 7 e 14 dias, animais de ambos os grupos apresentaram pontuações variadas na escala .

#### *Avaliação do retorno da micção espontânea*

Após lesão medular aguda, todos os animais submetidos ao procedimento de lesão medular (n = 18) manifestaram retenção urinária. A compressão vesical ocorreu a cada seis horas até retorno da função. Observou-se hematúria macroscópica a partir de 48h pós-lesão em 67% dos animais, com resolução em até 72 horas. O retorno da

função ocorreu em média no quinto dia pós-lesão, com mínimo no segundo dia em ambos os grupos e máximo em nove dias para o GNAN e dez dias para o GCON, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos.

#### *Avaliação histológica da medula espinhal*

Cortes histológicos medulares foram analisados em microscópio óptico por patologista cego à alocação dos animais nos grupos. As alterações histológicas foram avaliadas quanto a critérios de lesão medular estabelecidos previamente na literatura como hemorragia, cromatólise, espongiose, necrose neuronal, astrocitose e astrogliose, células de Gitter, leucomielomalácia e poliomiomalácia, em três segmentos medulares distintos: cranial, no epicentro e caudal a lesão. Atribuiu-se escores segundo a intensidade da lesão em ausente (0), leve (+) com menos de 30% da área acometida; moderado (++) de 30 a 70% da área acometida; e acentuada (+++) com mais de 70% da área acometida (BLACK *et al.*, 1986; FINKELSTEIN *et al.*, 1990).

A avaliação histológica medular revelou ausência de hematoma ou quaisquer alterações hemorrágicas em todos os segmentos avaliados. Constatou-se lesão axonal com cromatólise central, espongiose e necrose neuronal (Gráficos 2, 3 e 4). Observou-se menor intensidade destas alterações nos segmentos cranial e epicentro da lesão do GNAN.

Astrocitose e astrogliose foi observada em todos os animais submetidos ao procedimento de lesão medular com graus de apresentação variáveis. Observou-se menor intensidade nos segmentos cranial e epicentro da lesão nos animais do GNAN (Gráfico 5).

Constatou-se perda da arquitetura normal no epicentro da lesão, com presença de áreas de necrose nas substâncias branca e cinzenta, com proliferação de células de Gitter e câmaras de digestão frequentes em todos os animais, em ambos os grupos. Constatou-se menor intensidade destas células nos segmentos cranial e epicentro da lesão do GNAN (Gráfico 6). Observou-se ainda menor intensidade de leuco e poliomiomalácia no segmento cranial dos animais do GNAN; além de menor intensidade de poliomiomalácia no epicentro da lesão dos animais deste grupo.

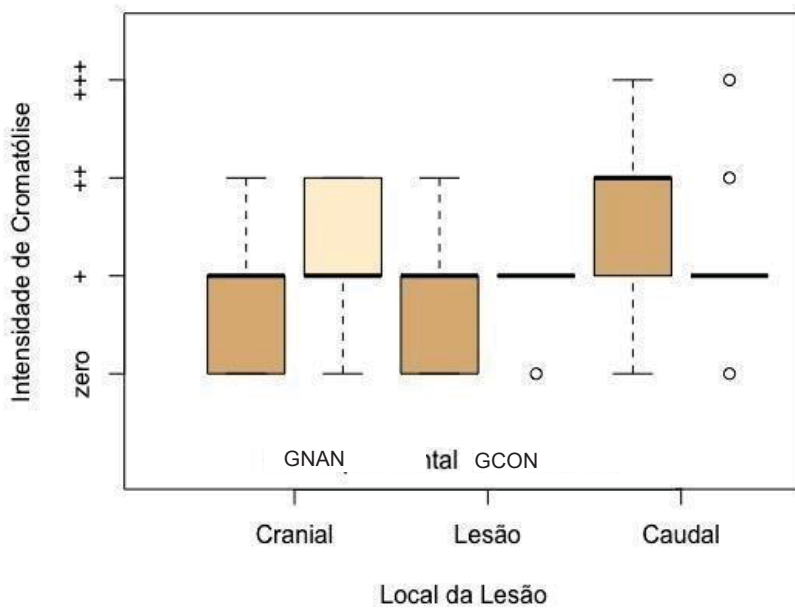


GRÁFICO 2. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de cromatólise nos segmentos medulares do GNAN e GCON.

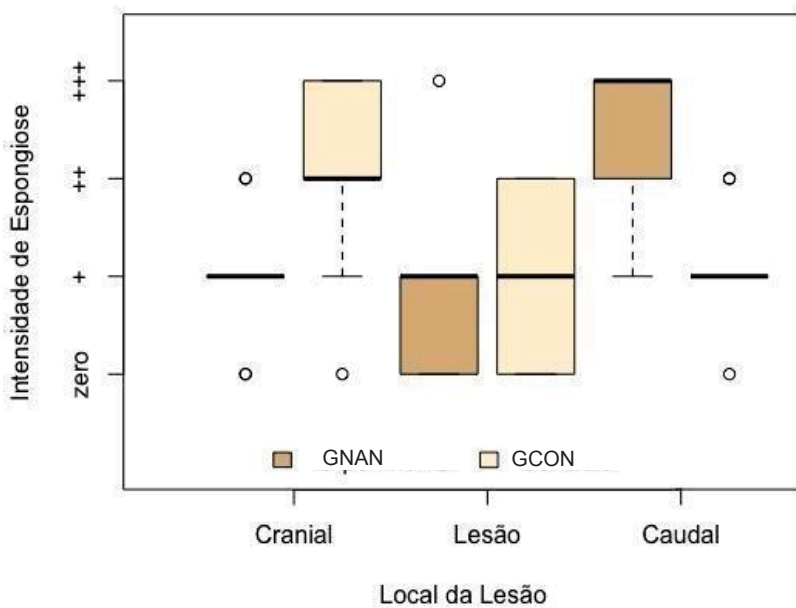


GRÁFICO 3. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de espongiose nos segmentos medulares do GNAN e GCON.

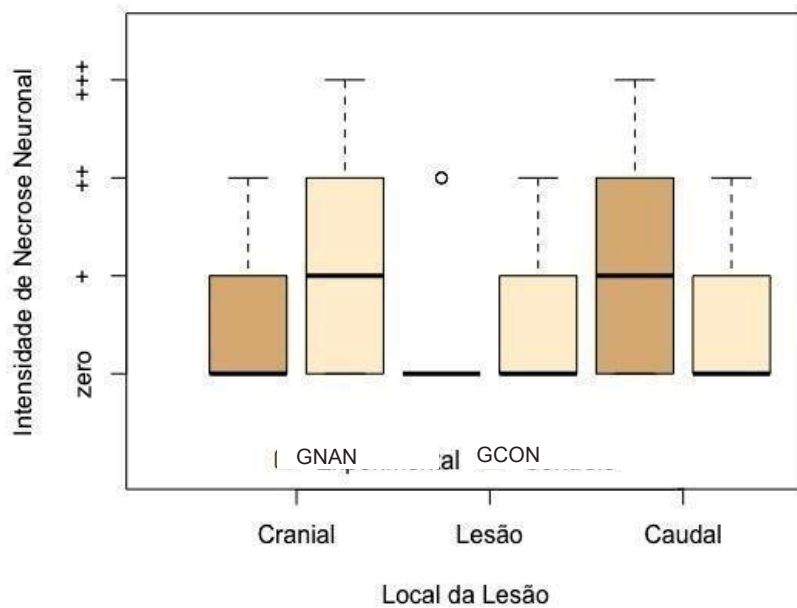


GRÁFICO 4. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de necrose neuronal nos segmentos medulares do GNAN e GCON.

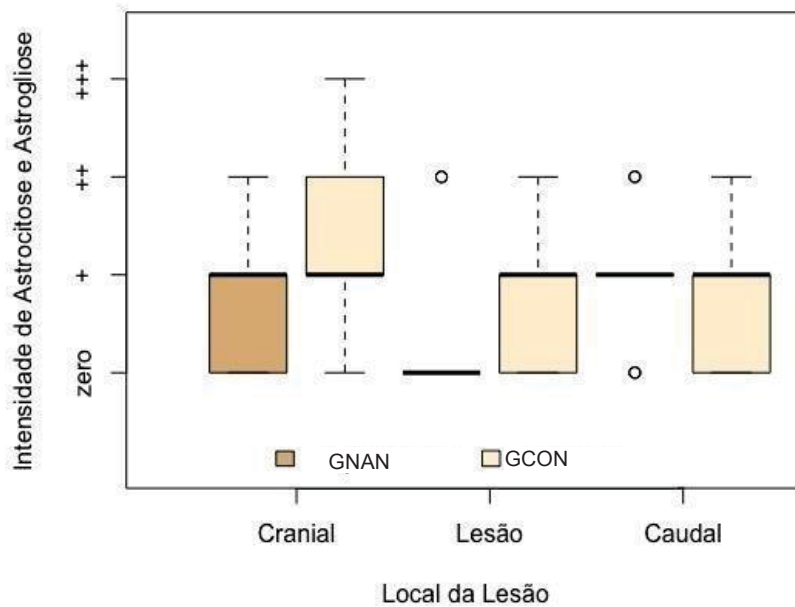


GRÁFICO 5. . Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de astrocitose e astrogliose nos segmentos medulares do GNAN e GCON.

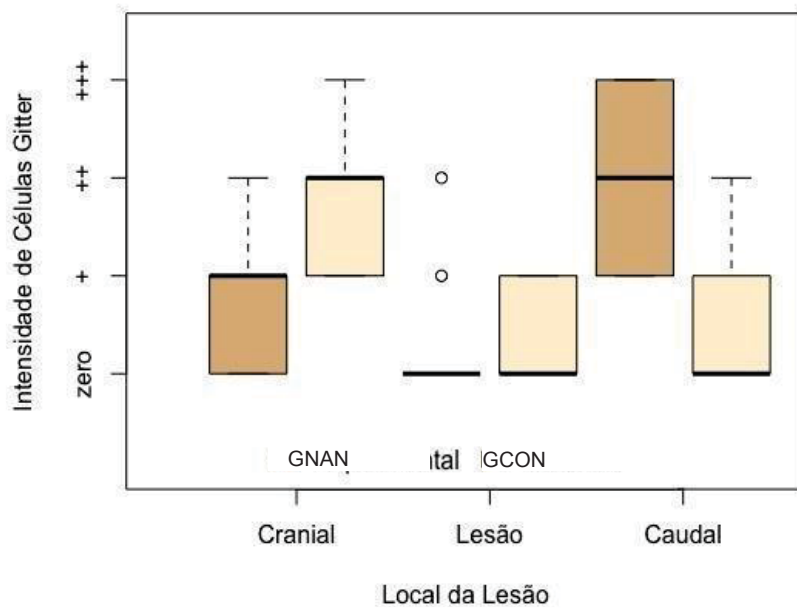


GRÁFICO 6. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de células de Gitter nos segmentos medulares do GNAN e GCON.

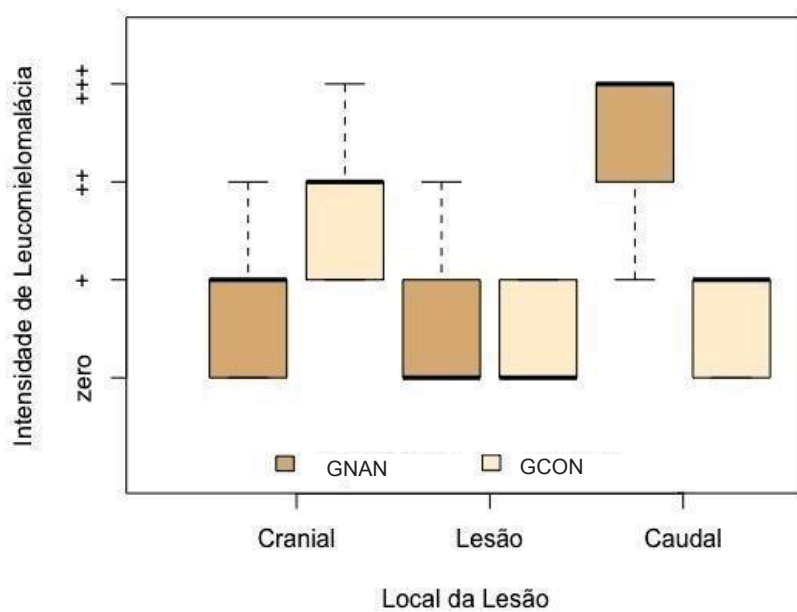


GRÁFICO 7. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de leucomielomalácia nos segmentos medulares do GNAN e GCON.

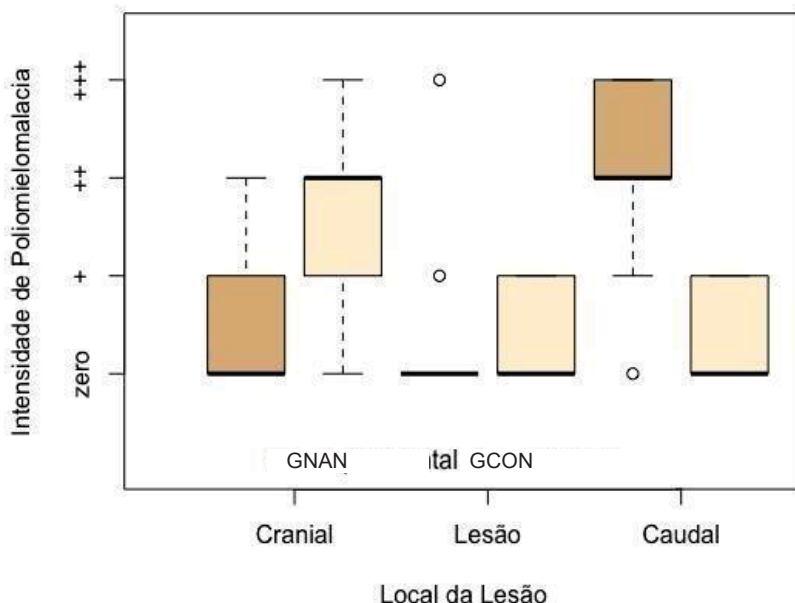


GRÁFICO 8. Boxplot da distribuição dos dados quanto à intensidade de poliomielomalácia nos segmentos medulares do GNAN e GCON.

No presente estudo, apesar das análises individuais revelarem menor intensidade de lesões no GNAN, não observou-se diferença significativa na intensidade das lesões entre os grupos em qualquer das localizações e características avaliadas ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 2).

TABELA 2. Representação do nível de significância (valor de p) entre os grupos GNAN e GCON, para cada variável de alteração histológica e localização avaliada.

Estatística descritiva	Local da amostra		
	Cranial	Lesão	Caudal
Cromatólise	0,573	0,271	0,141
Espongiose	1,000	0,177	0,312
Necrose neuronal	1,000	0,818	0,458
Astrocitose e astrogliose	0,534	0,271	0,335
Células de Gitter	0,297	0,569	0,347
Leucomielomalácia	0,406	0,143	0,514
Poliomielomalácia	0,797	0,512	0,455

A avaliação histológica dos segmentos medulares do GLAM demonstrou que este procedimento não promove alterações histológicas. A preservação da arquitetura normal do tecido dos animais do GLAM, e as principais alterações observadas na

avaliação histológica dos animais do GNAN estão ilustradas na Figura 2 e 3 respectivamente.

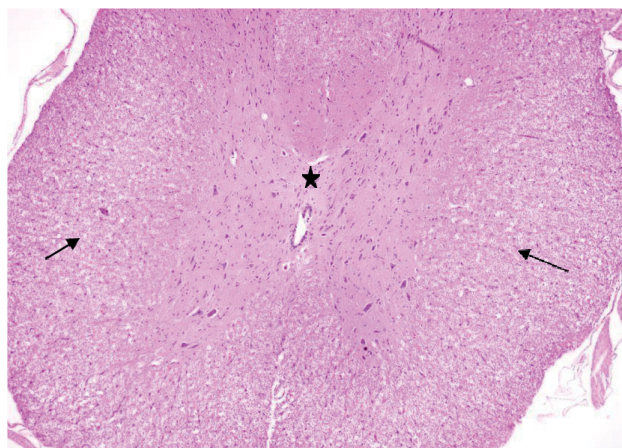


FIGURA 2. Medula espinhal de rato Wistar. Aspecto histológico de corte transversal do segmento medular de animal do GLAM. Observa-se a arquitetura normal do tecido neurológico, com preservação do H medular (asterisco) e da substância branca (setas).

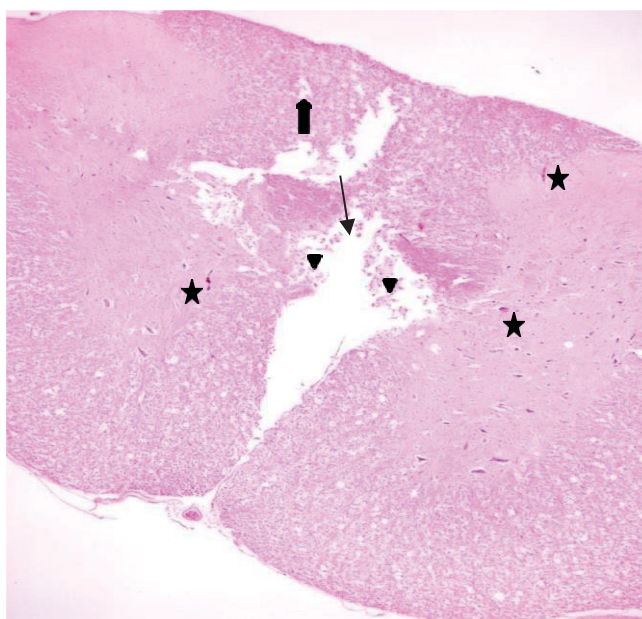


FIGURA 3. Medula espinhal de rato Wistar. Aspecto histológico de corte transversal do epicentro da lesão de animal do GNAN. Na porção dorsal e ventral da medula nota-se área focalmente extensa de malacea (seta) que se estende desde a substância branca até a substância cinzenta alterando a arquitetura do H medular (Leuco e poliomyelomalacea). Observa-se ausência do aqueduto mesencefálico e grande quantidade de neurônios vermelhos na substância cinzenta (necrose neuronal – estrelas). Em meio a área de malacea notam-se algumas células Gitter (triângulos) e vacuolização moderada da substância cinzenta adjacente (seta larga). (HE 2X).

#### *Avaliação histológica da bexiga urinária*

A bexiga urinária foi avaliada qualitativamente quanto ausência ou presença de infiltrado inflamatório e hemorragia. As avaliações histopatológicas evidenciaram a existência de resposta inflamatória tecidual caracterizada por cistite linfocitária e neutrofílica, nos animais de ambos os grupos submetidos à lesão medular (Figura 4). Em todos os casos, a ocorrência de cistite foi precedida por hematúria 24 horas pós-lesão, com resolução em até 72 horas. A frequência de cistite nos animais do GNAN foi de 77,8%, e no GCON de 55,6%, sem diferença estatística significativa entre os grupos.

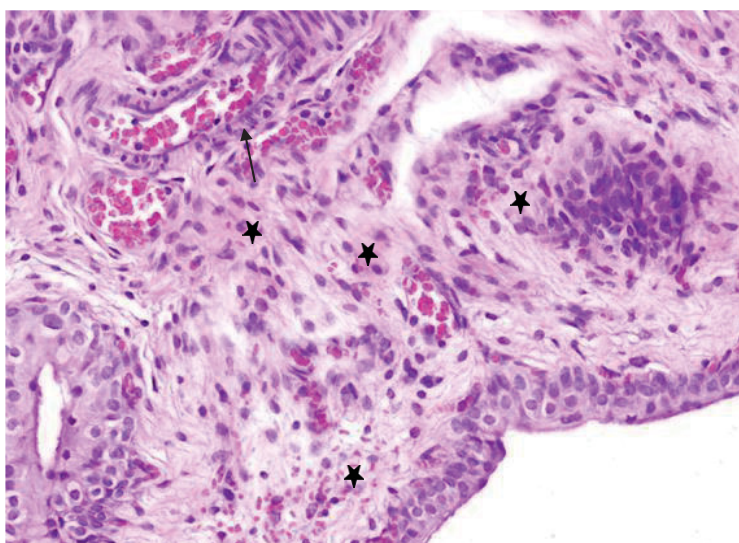


FIGURA 4. Bexiga urinária de rato Wistar. Aspecto histológico de corte transversal da bexiga urinária de animal submetido a lesão medular (GNAN). Observa -se marginação de leucócitos na periferia de vasos sanguíneos (seta) e hemorragia difusa leve (asteriscos) (HE 40x).

## DISCUSSÃO

O método empregado na produção da lesão medular contusiva consistiu na utilização de peso de 20g com impacto de 400g.cm na medula espinhal, como estudado por Ducker *et al.*, (1971), e descrito como modelo reproduzível e adequado por pesquisadores em estudos experimentais de lesão medular em ratos (TANHOFFER, 2004; CARVALHAL, 2017). No presente estudo o modelo foi eficaz na produção de lesão medular constatada após trauma imediato, pela presença de edema, hemorragia e perda da integridade da arquitetura tecidual. Essas alterações são descritas por Kakulas (2004) que destaca o edema do tecido nervoso como primeiro sinal da lesão medular, manifestado por aumento do volume, causado por extravasamento de fluidos dos capilares, e hemorragia parenquimal da substância branca.

A mortalidade observada entre os animais submetidos ao procedimento de lesão medular foi de 15,39%, tendo como uma das causas o edema pulmonar neurogênico. Na literatura há descrição de diferentes taxas de mortalidade, e altas taxas estão intimamente relacionadas ao método de produção de lesão, intensidade de impacto, gravidade da lesão, protocolo anestésico utilizado, e cuidados pós-operatórios (BASSO *et al.*, 1996; VILLANOVA 2013). Meyer *et al.*, (2003) constatou mortalidade semelhante ao reproduzir lesão medular com impactador NYU. As principais causas de óbitos descritas são edema pulmonar neurogênico e retenção urinária (MEYER *et al.*, 2003; VILLANOVA 2013).

Edema pulmonar neurogênico ocorre por ativação simpática excessiva e consequente aumento de pressão arterial e redistribuição sanguínea para o leito vascular pulmonar (MEYER *et al.*, 2003). A retenção urinária ocorre em pacientes com trauma medular em região de T3 a L3, por incapacidade de esvaziamento vesical. Em casos mais graves podem-se desenvolver infecção ascendente do trato urinário, hidronefrose, insuficiência renal aguda e óbito (MEYER *et al.*, 2003). No presente estudo, observou-se retenção urinária em todos os animais submetidos à lesão medular, sendo o retorno à função variável no tempo. Não se evidenciou influência do decanoato de nandrolona no tempo de retorno da micção espontânea.

Nos três primeiros momentos de avaliação, todos os animais inclusos no estudo apresentaram paraplegia, com pontuação zero na escala BBB. A partir da quarta avaliação, os animais apresentaram escores variados, com sinais de paraplegia de

membros pélvicos, e paraparesia não-ambulatoria assimétrica. Estudos experimentais de lesão medular contusiva descrevem a ocorrência de variações nos déficits neurológicos em lesões promovidas por um mesmo peso, possivelmente por variações anatômicas dos animais, como dimensão da medula e massa corporal (PANJABI & WRATHALL, 1988).

A escala de avaliação motora BBB foi utilizada nos pacientes submetidos à laminectomia e demonstrou que a técnica cirúrgica não promove déficit motor, pois os animais do grupo apresentaram o maior escore na escala BBB nos cinco momentos de avaliação locomotora.

A melhora locomotora nos animais submetidos à lesão medular foi gradativa e observada em ambos os grupos. Recuperação espontânea após trauma medular tem sido relatada, e decorre do retorno funcional dos axônios que se mantiveram intactos em meio ao tecido danificado (BRECHTEL, 2006). O presente estudo não observou influência do uso do medicamento na pontuação da escala BBB. O tempo foi fator determinante na evolução, havendo melhora significativa na pontuação na escala BBB ao longo do experimento, independente do tratamento.

As alterações histológicas da vesícula urinária foram caracterizadas por cistite linfocitocitária nos animais de ambos os grupos. Observou-se hematuria 24 horas pós-lesão em todos os animais que apresentaram a alteração. Segundo Meyer *et al.*, (2003), a hematuria é sinal clínico precoce de cistite, o que ocorre nas primeiras 24 - 48 horas após a lesão, causando distensão vesical, formação de coágulos que favorecem a obstrução das vias urinárias. O presente estudo não observou ação antiinflamatória direta do uso do DN quanto à presença de alterações vesicais.

Avaliação histológica dos segmentos medulares revelou ausência de hematoma ou quaisquer alterações hemorrágicas. Segundo Loane & Byrnes (2010), áreas hemorrágicas são substituídas por cavitações císticas envoltas por astrócitos reativos, com início em cinco dias pós-lesão, e atuam como potente inibidor da regeneração neuronal (SHEN, 2014).

A perda da integridade neuronal, constatada pela presença de cromatólise central e necrose neural foi evidenciada em todos os segmentos. A ativação de células fagocíticas, como células de Gitter, precede a reação astrocitária, e esta diretamente envolvida na resposta inflamatória (GRAEBER & STREIT, 1990). Apesar da tendência encontrada de menor intensidade das células de Gitter e da astrocitose no grupo experimental, não é possível confirmar a influência positiva do decanoato de

nandrolona na limitação destas alterações.

Evidenciou-se maior intensidade da lesão no epicentro da injúria, com diminuição da intensidade nos segmentos caudais e craniais em todos os animais com lesão medular. Observou-se menor intensidade de lesões nos segmentos cranial e epicentro da injúria dos animais do grupo submetido ao tratamento com decanoato de nandrolona, porém certa tendência não revelou diferença estatística significativa. As alterações visibilizadas foram descritas da mesma forma por Sribnick *et al.*, (2010), que ao estudarem o efeito do estrógeno em lesão medular em ratos, observaram maior dano tecidual no epicentro da lesão. Os pesquisadores não encontraram evidências de proteção neuronal com o uso do estrógeno. Outros estudos avaliaram o efeito de estrógenos no trauma medular experimental em ratos e não identificaram preservação tecidual no grupo tratado (FEE *et al.*, 2007; SWARTZ *et al.*, 2007). Não há estudos quanto a utilização do DN no trauma medular agudo.

A ausência de influência significativa do uso do DN na intensidade das alterações histológicas medulares avaliadas pode ser atribuída ao pequeno número de animais ou a inexistência da diferença realmente. Justifica-se o aumento do tamanho experimental para confirmar as tendências individuais que não foram significativas (CARVALHO *et al.*, 2007). Além disso, para garantir resultados mais detalhados o ideal seria realizar período maior de observação, tendo em vista que o tempo foi fator determinante na recuperação dos animais com lesão medular no presente estudo. Outras possibilidades seriam a realização de técnicas como imunohistoquímica e citometria de fluxo, por exemplo, que permitem a identificação de intensificação de lesão e de atividade proliferativa, além da avaliação química celular (ENG, 1985), permitindo melhor análise quantitativa. Tais técnicas permitem resultados mais acurados, porém não foram realizados no presente estudo por falta de recursos.

A dose de decanoato de nandrolona utilizada foi de 2mg/kg por via intramuscular, como preconizado por Ibañez *et al.* (2003). A dosagem da droga descrita na literatura varia de 1 a 20 mg/kg (ISAACS *et al.*, 2011). Segundo Ghizoni *et al.*, (2013) a dose ideal de decanoato de nandrolona para promover regeneração nervosa ainda não foi determinada.

Efeitos adversos decorrentes da administração de decanoato de nandrolona estão frequentemente relacionados às formas de administração, principalmente dosagem e frequência (BROWER, 2002). Os principais efeitos adversos descritos em

humanos são atrofia testicular e ginecomastia, hipertensão, arritmia e infarto do miocárdio (KINDLUNDH *et al.*, 2011). Estudos experimentais com ratos expostos a testosterona exógena descrevem alteração no comportamento social e aumento da agressividade (MELLONI *et al.*, 1997; KOUVELAS *et al.*, 2008). No presente estudo não evidenciou-se tais alterações, possivelmente por se tratar de administração única e baixa dose.

Modelos experimentais têm sido utilizados visando acumular experiências, e conseqüentemente melhorar e aprimorar os conhecimentos sobre fisiopatologia da lesão medular (BASSO *et al.*, 1995; CRISTANTE *et al.*, 2009). O animal de escolha para o presente estudo foi o rato, por ser considerado modelo experimental adequado para estudos prévios de lesão medular (KJELL & OLSON, 2016). O número de animais utilizados foi baseado em estudos prévios na literatura (KIM *et al.*, 2010; TORRES *et al.*, 2010; VILLANOVA, 2013). O método de eutanásia utilizado demonstrou-se método efetivo, rápido e indolor. A decapitação promove rápida perda de consciência e ausência de alterações decorrentes do uso de métodos químicos para a eutanásia (CFMV, 2012).

No presente estudo os animais utilizados foram considerados adequados para o experimento de lesão medular, apresentaram tolerância satisfatória à intensidade dos procedimentos, e alta taxa de sobrevivência observada possivelmente está associada à utilização de protocolo anestésico seguro, procedimento cirúrgico adequado e cuidados pós-operatórios intensivos.

## **CONCLUSÕES**

O modelo de trauma medular compressivo reproduziu, de maneira heterogênea, incapacidade funcional, sensorial e motora grave em ratos.

Decanoato de nandrolona na posologia avaliada, não influenciou no retorno da função locomotora em ratos submetidos à lesão medular, bem como na intensidade das alterações medulares histológicas. O tempo foi fator determinante para o retorno locomotor.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, F.; YUNUS, S. M., ASGHAR, A.; FARUQI, N. A. Influence of anabolic steroid on tibial fracture healing in rabbits - a study on experimental model. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. v. 7. n. 1. p. 93–96. 2013.
- AHUJA, C. S., FEHLINGS, M. Concise Review: Bridging the Gap: Novel Neuroregenerative and Neuroprotective Strategies in Spinal Cord Injury. **Stem Cells Translational Medicine**. v. 5. n. 7, p. 914-924. 2016.
- AHUJA, C. S., NORI, S., TETREAU, L., WILSON, J., KWON, B., HARROP, J., CHOI, D., FEHLINGS, M. G. Traumatic Spinal Cord Injury—Repair and Regeneration. **Neurosurgery**. v. 80. n. 3S. p. S9-S22. 2017.
- ALLEN, A. R. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report. **Journal of the American Medical Association**. v. 57. p. 878-880. 1911.
- ANWAR, M. AL SHEHABI, T. S., EID, A. H. Inflammogenesis of Secondary Spinal Cord Injury. **Frontiers in Cellular Neuroscience**. v. 10. n. 98.(s.p.). 2016.
- ARIAS, M. B. B., MARINHO, P. V. T. Coluna Vertebral e Medula Espinhal. In: FELICIANO, M. A. R., CANOLA, J. C., VICENTE, W. R. R. **Diagnóstico por imagem em cães e gatos**. 1ª edição. Editora MedVet. São Paulo. p. 81. 2015.
- BAKLAUSHEV, V. P., BOGUSH, V. G., KALSIN, V. A., SOVETNIKOV, N. N., SAMOLIOVA, E. M., REVKOVA, V. A., SIDORUK, K. V., KONOPLYANNIKOV, M. A., TIMASHEV, P. S., KOTOVA, S. L., YUSHKOV, K. B., AVERYANOV, A. V., TROITSKIY, A. V., AHLFORS, J. E. Tissue Engineered Neural Constructs Composed of Neural Precursor Cells, Recombinant Spidroin and PRP for Neural Tissue Regeneration. **Scientific Reports**. v. 9. n. 3161. 2019.
- BARROS FILHO, T. E. P., MOLINA, A. E. I. S. Analysis of The Sensitivity and Reproducibility Of The Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) Scale in Wistar Rats. **Clinics**. v. 63. n. 1. p. 103-108. 2008.
- BASSO, D. M., BEATTIE, M. S., BRESNAHAN, J. C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. **Journal of Neurotrauma**. v. 12. n. 1. p. 1-21. 1995.
- BASSO, D. M., BEATTIE, M. S., BRESNAHAN, J. C. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device

versus transection. **Experimental Neurology Journal**. v. 139. n. 2. p. 244-256. 1996.

BATES, K. A., HARVEY, A. R., CARRUTHERS, M., MARTINS, R. N. Androgens, andropause and neurodegeneration: exploring the link between steroidogenesis, androgens and Alzheimers disease. **Cellular and Molecular Life Science**. v. 62. n. 3. p. 281-292. 2005.

BLACK, P., MARKOWITZ, R. S., COOPER, V., MECHANIC, A., KUSHNER, H., DAMJANOV, I., FINKELSTEIN, S. D., WACHS, K. C. Models of spinal cord injury: Part 1. Static load technique. **Neurosurgery**. v. 19, n. 5, p. 752-762. 1986.

BRECHTEL, K.; TURA, A.; ABDIBZADEH, M., HIRSCH, S., SCHWAB, J. M. Intrinsic locomotor outcome in dorsal transection of rat spinal cord: predictive value of minimal incision depth. **Spinal Cord**. n. 44. p. 605-613. 2006.

BROWER, K. L. Anabolic steroid abuse and dependence. **Current Psychiatry Reports**. v. 4. n. 5. p. 377-387. 2002.

BRUNNER, E., DOMHOF, S., LANGER, F. **Nonparametric Analysis of Longitudinal Data in Factorial Experiments**, Wiley, New York. p. 68. 2002.

CALISKAN, M., SIMSEK, S., VURAL, S. A., BESALTI, O. Comparison of Etanercept, Etomidate and Erythropoietin and Their Combinations in Experimentally-Induced Spinal Cord Injury. **Turkish Neurosurgery**. v. 26. n. 6. p. 930-936. 2016.

CARVALHAL, S. R. S. **A intensidade do exercício prévio influencia na degeneração muscular em indivíduos submetidos à lesão medular?** Dissertação. 101fls. 2017.

CARVALHO, K. A. T.; VIALLE, E. N.; MOREIRA, G. H. G.; FRANCISCO, J. C.; SIMEONI, R. B.; OLIVEIRA, L.; CUNHA, R. C.; GUARITA-SOUZA, L. C.; OLANDOSKI, M.; VIALLE, L. R. G. Avaliação funcional da terapia autóloga de células derivadas medula óssea, fração mononuclear no trauma crônico da medula espinal – modelo experimental em animais. **Jornal Brasileiro de Transplantes**. v. 10. n. 1. p. 664-668. 2007.

CFMV, **CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA**. Guia Brasileiro de Boas Práticas para Eutanásia em Animais. v. 1. n. 1. 62p. Brasília. 2012.

CREGG, J. M., DePAUL, M. A., FILOUS, A. R., LANG, B. T., TRAN, A., SILVER, J. Functional regeneration beyond the glial scar. **Experimental neurology**. v. 253, p. 197–207. 2014.

CRISTANTE, A. F., BARROS FILHO, T. E. P., OLIVEIRA, R. P., MARCON, R. M., ROCHA, I. D., HANANIA, F. R., DACI, K. Antioxidative therapy in contusion spinal cord injury. **Spinal Cord**. v. 47. n. 6. p. 458-63. 2009.

CUNNINGHAM, M. G.; DONALDS, R. A.; SCOUTEN, C. W.; TRESCH, M. C. A versatile, low-cost adaptor for stereotaxic and electrophysiologic spinal preparations in juvenile and adult rodents. **Brain Research Bulletin**. v. 68. n. 3. p. 157-162. 2005.

DIAS, D. O., KIM, H., HOLL, D., CARLÉN, M., GORITZ, C., FRISÉN, J. Reducing Pericyte-Derived Scarring Promotes Recovery after Spinal Cord Injury. **Cell**. v. 173. p. 153–165. 2018.

DUCKER, T. B., KINDT, G. W., KEMPE, I. G. Pathological findings in acute experimental cord trauma. **Journal of Neurosurgery**. 35. p. 700-708. 1971.

ENG, L. F. Glial fibrillary acidic protein (GFAP): the major protein of glial intermediate filaments in differentiated astrocytes. **Journal of Neuroimmunology**. v. 8. n. 1. p. 203-214. 1985.

FAN, W., ZHU, X., WU, L., WU, Z., LI, D., HUANG, F., HE, H. Propofol: an anesthetic possessing neuroprotective effects. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**. v. 19. n. 8. p. 1520-1529. 2015.

FAKHOURY, M. Spinal cord injury: overview of experimental approaches used to restore locomotor activity. **Review of Neuroscience**. 2015. v. 26. n. 4. p. 397-405. 2015.

FEE, D. M., SWARTZ, D. R., JOY, K. M., ROBERTS, K. N., SCHEFF, N. N., SCHEFF, S. W. Effects of progesterone on experimental spinal cord injury. **Brain Research**. v. 1137. n. 1. p. 146 - 152. 2007.

FINKELSTEIN, S. D., GILLESPIE, J. A., MARKOWITZ, R. S., JOHSON, D. D., BLACK, P. Experimental spinal cord injury: qualitative and quantitative histopathologic evaluation. **Journal of Neurotrauma**. v. 7. n. 1. p. 29-40. 1990.

FLETCHER, D. J., DEWEY, C. W., DA COSTA, R. C. Spinal Trauma Management. In: DEWEY, C. W., DA COSTA, R. C. **Practical Guide to Canine and Feline Neurology**. 3 edição. Wiley Blackwell. cap. 15. p. 423-436. 2015.

GAO, W.; BOHL, C. E.; DALON, J. T. Chemistry and structural biology of androgen receptor. **Chemical Reviews**. v. 105. n. 9. p. 3352-3370. 2005.

GHIZONI, M.F.; BERTELLI, J.A.; GRALA, C.G.; DA SILVA, R.M. The anabolic steroid nandrolone enhances motor and sensory functional recovery in rat median nerve repair with long interpositional nerve grafts. **Neurorehabil neural repair: Sage Journals**. v. 27. p. 269-276. 2013.

GRAEBER, M. B., STREIT, W. J. Microglia: immune network in the CNS. **Brain Pathology**. v. 1. n. 1. p. 2-5. 1990.

IBANEZ, J. F.; SILVA, T. S.; PONTES, D. R. Uso de decanoato de nandrolona (Deca-durabolin) como estimulante da proliferação óssea em cães com consolidação retardada. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 40. p. 229-230. 2003. Doi: 10.11606/issn.2318- 3659.v40isupl.p229-230

ISAACS, J., LOVELAND, K., MALLU, S., ADAMS, S., WODICKA, R. The use of anabolic steroids as a strategy in reversing denervation atrophy after delayed nerve repair. **Hand**. v. 6, n. 2, p. 142- 148. 2011. Doi: 10.1007/s11552-011-9331-y

JUTZELER, C. R., STREIJGER, F., AGUILAR, J., SHORTT, K., MANOUCHEHRI, N., OKON, E., HUPP, M., CURT, A., KNOW, B., KRAMER, J. L. K. Sensorimotor plasticity after spinal cord injury: a longitudinal and translational study. **Annals of Clinical and Translational Neurology**. v. 6. n. 1. p. 68-82. 2018.

KABU, S., GAO, Y., KWON, B. K., LABHASETWAR, V. Drug Delivery, Cell-based Therapies, and Tissue Engineering Approaches for Spinal Cord Injury. **Journal of Control Release**. v. 10. n. 219. p. 141-154. 2015.

KAKULAS, B. A. Neuropathology: the foundation for new treatment in spinal cord injury. **Spinal Cord**. v. 42. n. 10. p. 549-563. 2004.

KIM, J. H., LOY, D. N., WANG, Q., BUDDE, M. D., SCHMIDT, R. E., TRINKAUS, K., SONG, S. K. Diffusion tensor imaging at 3 hours after traumatic spinal cord injury oredicts long-term locomotor recovery. **Jornal of Neurotrauma**. v. 27. n. 3. p. 587-598. 2010.

KINDLUNDH, A. M., HAGEKULL, B., ISACSON, D. G., NIBERG, F. Adolescent use of anabolic- androgenic steroids and relations to self-reports of social, personality and health aspects. **European Journal of Public Health**. v. 11, n. 3, p. 322-328. 2001.

KJELL, J., OLSON, L. Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies. **Disease Models & Mechanisms**. v. 9. n. 10. p. 1125-1137. 2016.

KOUVELAS, D.; POURZITAKI, C.; PAPAISIS, G.; DAGKLIS, T.; DIMOU, K.; KRAUS, M. M. Nandrolone abuse decreases anxiety and impairs in rats via central androgenic receptors. **International Journal Neuropsychopharmacology**. v. 11. n. 7. p. 925-934. 2008.

KUHN, C. M. Anabolic steroids. **Recent Progress in Hormone Research Journal**. n. 57. p. 411- 34. 2002.

KRUCOFF, M., RAHIMPOUR, S., SLUTZKY, M., EDGERTON, V., TURNER, D. A. Enhancing Nervous System Recovery through Neurobiologics, Neural Interface Training, and Neurorehabilitation. **Frontiers in Neuroscience**. v. 10. n. 584. 2016.

LI, X., FLORIDIA, E. M., TOSKAS, K., FERNANDES, K. J. L., GUÉROUT, N., BARNABÉ-HEIDER, F. Regenerative Potential of Ependymal Cells for Spinal Cord Injuries Over Time. **EbioMedicine**. v. 13. p. 55–65. 2016.

LOANE, D.J., BYRNES, K. R. Role of microglia in neurotrauma. **Neurotherapeutics**. v. 7. n. 4. p. 366-377. 2010.

LU, J.; ASHWELL, K.W.S.; WAITE, P. Advances in secondary spinal cord injury: Role of apoptosis. **Spine**. v.25. p.1859-1866. 2000.

LUDWIG, P. E., PATIL, A. A., CHAMCZUK, A. J., AGRAWAL, D. K. Hormonal therapy in traumatic spinal cord injury. **American Journal of Translation Research**. v. 9. n. 9. p. 3881-3895. 2017.

MAO, J., LI, Z., LIN, R., ZHU, X., LIN, J, PENG, J., CHEN, L. Preconditioning with Gua Lou Gui Zhi decoction enhances H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced Nrf2/HO-1 activation in PC12 cells. **Experimental and Therapeutic Medicine**. v. 10. n. 3. p. 877–884. 2015.

MARQUES, D. R. S. M. **Interferência do deca-durabolin na consolidação óssea em osteotomia para o avanço da tuberosidade da tíbia**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias).UFPR.63p.2016.

McEWEN, B. S. & MILNER, T. A. Understanding the Broad Influence of Sex Hormones and Sex Differences in the Brain. **Journal of Neuroscience Research**. v. 95. n. 1-2. p. 24-39. 2017.

MELLONI, R. H. JR.; CONNOR, D. F.; XUAN HANG, P. T.; HARRISON, R. J.; FERRIS, C. F. Anabolic-androgenic steroid exposure during adolescence and aggressive behavior in Golden hamsters. **Physiology and Behavior**. v. 61. n. 3. p. 359- 364. 1997.

MEYER, F.; VIALLE, L. R.; VIALLE, E. N.; BLEGGI-TORRES, L. F.; RASERA, E.; LEONEL, I. Alterações vesicais na lesão medular experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 18. n. 3. p. 203-208. 2003.

MOEENDARBARY, E., WEBER, I. P., SHERIDAN, G. K., KOSER, D. E., SOLEMAN, S., HAENZI, B., BRADBURY, E. J., FAWCETT, J., FRANZE, K. The soft mechanical signature of glial scars in the central nervous system. **Nature Communications**. v. 8. n. 14787. 2017.

MOLINA, A. I., CRISTANTE, A. F., BARROS-FILHO, T. E. P. Análise comparativa da avaliação funcional realizada na lesão medular em animais. **Acta Ortopédica Brasileira**. v. 12, n. 1. 2004.

PANJABI, M.M.; WRATHALL, J.R. Biomechanical analysis of experimental spinal cord injury and functional loss. **Spine**. v. 13. n. 12. p.1365-1370. 1988.

PEREZ, R. R., SILVA, M. A. M, VARZIM, F. L. S., OLIVEIRA, S. B., HUCKE, E. E. A ação do decanoato de nandrolona (Deca-durabolin<sup>®</sup>) sobre parâmetros hematológicos e proteína total plasmática de ratos (*Rattus rattus*) com depressão medular induzida após administração de sulfato de vincristina (Oncovin<sup>®</sup>). **Ciência Rural**. v. 35. n. 3. 2005.

QIN, W., PAN, J., BAUMAN, W.A., CARDOZO, C. P. Differential alterations in gene expression profiles contribute to time-dependent effects of nandrolone to prevent denervation atrophy. **Biomedical Central Genomics**. v. 11, p. 596. 2010.

REN, Y., AO, Y., O'SHEA, T. M., BURDA, J. E., BERNSTEN, A. M., BRUMM, A. J., MUTHUSAMY, N., GHASHGHAEEI, H. T., CARMICHAEL, T., CHENG, L., SOFRONIEW, M. V. Ependymal cell contribution to scar formation after spinal cord injury is minimal, local and dependent on direct ependymal injury. **Scientific Reports**. v. 7. n. 1. 2017.

RODRIGUES, N. R.; LETAIF, O. B.; CRISTANTE, A. F.; MARCON, R. M.; OLIVEIRA, R. P.; BARROS FILHO, T. E. P. Padronização da lesão de medula espinal em ratos wistar. **Acta Ortopédica Brasileira**. v. 18. n. 4. p. 182-186. 2010.

ROOF, L., HALL, E. D. Gender differences in acute CNS trauma and stroke: neuroprotective effects of estrogen and progesterone. **Journal of Neurotrauma**. v. 17. n. 5. p. 367 – 388. 2000.

SAMANTARAY, S., DAS, A., MATZELLE, D. C., YU, S. P., WEI, L., VARMA, A., RAY, S. K., BANIK, N. L. Administration of low dose estrogen attenuates gliosis and protects neurons in acute spinal cord injury in rats. **Journal of Neurochemistry**. v. 137. n. 4. p. 604-617. 2016.

SHEN, Y. Traffic lights for axon growth: proteoglycans and their neuronal receptors. **Neural Regeneration Research**. v. 9. n. 4. p. 356-361. 2014.

SINGER, C. A., FIGUEROA, MASOT, X. A., BATCHELOR, R. H., DORSA, D. M. The mitogen-activated protein kinase pathway mediates estrogen neuroprotection after glutamate toxicity in primary cortical neurons. **The Journal of Neuroscience**. v. 19. n. 7. p. 2455-2463. 1999.

SRIBNICK, E. A., SAMANTARAY, S., DAS, A., SMITH, J., MATZELLE, D. D., RAY, S. K., BANIK, N. L. Postinjury estrogen treatment of chronic spinal cord injury improves locomotor function in rats. **Journal of Neuroscience Research**. v. 88. n. 8. p. 1738-1750. 2010.

SWARTZ, K. R., FEE, D. B., JOY, K. M., SUN, S., SCHEFF, N. N., WILSON, M. E., SCHEFF, S. W. Gender differences in spinal cord injury are not estrogen-dependent. **Journal of Neurotrauma**. v. 24, n. 3, p. 473 - 80. 2007.

TANHOFFER, R, A. **Efeito da lesão medular em ratos sobre a concentração plasmática e tecidual de glutamina e sobre a resposta imunitária de macrófagos e linfócitos.**Dissertação.89fls.2004.

TARLOV, I. M., KLINGER, H., VITALE, S. Spinal cord compression studies: I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. **AMA Archives of Neurology & Psychiatry**. v. 70. p. 813-818. 1953.

TORRES, B. B. J., SILVA, C. M. O., ALMEIDA, A. E. R. F., CALDEIRA, F. M. C., GOMES, M. G., ALVES, E. G. L., SILVA, S. J., MELO, E. G. Experimental model of acute spinal cord injury produced by modified stereotaxic equipment. **Arquivo**

**Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v. 62, n. 1. p. 92-99. 2010a.

TORRES, B. B. J., CALDEIRA, F. M. C. C.; GOMES, M. G., VIOTT, A. M. Effects of dantrolene on apoptosis and immunohistochemical expression of NeuN in the spinal cord after traumatic injury in rats. **International Journal of Experimental Pathology.** n. 91. p. 530-36. 2010.

ULNDREAJ, A., CHIO, J. C., AHUJA, C. S., FEHLINGS, M. G. Modulating the immune response in spinal cord injury. **Expert Review Neurotherapeutics.** v. 16. n. 10. p. 1-3. 2016.

ROSENZWEIG, E. S., COURTINE, G., JINDRICH, D. L., BROCK, J. H., FERGUSON, A. R., STRAND, S. C., NOUT, Y. S., ROY, R. R., MILLER, D. M., BEATTIE, M. S., HAVTON, L. A., BRESNAHAN, J. C., EDGERTON, V. R., TUSZYNSKI, M. H. Extensive spontaneous plasticity of corticospinal projections after primate spinal cord injury. **Nature Neuroscience.** v. 13. n. 12. p. 1505-1510. 2010.

VANGANSEWINKEL, T., LEMMENS, S., GEURTS, N., QUANTEN, K., DOOLEY, D., PEJLER, G., HENDRIX, S. Mouse mast cell protease 4 suppresses scar formation after traumatic spinal cord injury. **Scientific Reports.** v. 9. n. 3715. 2019.

VIALLE, L. R. G., FISCHER, J., MARCON, J. C., VIALLE, E., LUZZI, R., TORRES, L. F. B. Estudo histológico da lesão medular experimental em ratos. **Revista Brasileira de Ortopedia.** v. 34. n. 2. p. 85-89. 1999.

VILLANOVA, J. A. **Transplante de células-tronco derivadas do tecido adiposo em ratos submetidos à lesão medular compressiva, com e sem tratamento com corticóide.** Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná. 123f. 2013.

VITA, G., DATTOLA, R., GIRLANDA, P., OTERI, G., LO PRESTI, F. MESSINA, C. Effects of steroid hormones on muscle reinnervation after nerve crush in rabbit. **Experimental Neurology.** v. 80. n. 2. p. 279-287. 1983.

ZHOU, R., YANG, Z., TANG, X., TAN, Y., WU, X., LIU, F. Propofol Protects Against Focal Cerebral Ischemia via Inhibition of Microglia-Mediated Proinflammatory Cytokines in a Rat Model of Experimental Stroke. **Plos One Journal.** v. 8. n. 12. e82729. 2013.

## ANEXOS

### *Avaliação funcional da escala Basso, Beatie and Bresnahan (BBB)*

A escala BBB observa os movimentos da articulação do quadril, joelho, tornozelo, posição do tronco, cauda e dígitos do membro pélvico. A partir dessas observações, foram atribuídos pontos de zero a 21, sendo zero o correspondente à ausência total de movimentos e 21 à presença de movimentos normais

0 – Nenhum movimento observável do membro pélvico.

1 – Movimento discreto (limitado) de uma articulação 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 outra.

3 – Movimento extenso de duas articulações.

4 – Movimento discreto de todas as três articulações do membro pélvico.

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 pélvico.

8 – Pedalada sem suporte de peso ou apoio plantar dos dígitos sem suporte de peso.

9 – Apoio plantas dos dígitos com suporte de peso somente em fase de apoio (quando estático), ou passada dorsal ocasional, frequente ou consistente com suporte de peso e nenhuma passada plantar.

10 – Passo plantar com suporte de peso ocasional e nenhuma coordenação dos membros torácico e pélvico.

11 – Passo plantar com suporte de peso frequente a consistente e nenhuma coordenação dos membros torácico e pélvico.

12 – Passo plantar com suporte de peso frequente a consistente e coordenação ocasional dos membros torácico e pélvico.

13 – Passo plantar com suporte de peso frequente a consistente e coordenação frequente dos membros torácico e pélvico.

14 – Passo plantar com suporte de peso consistente, coordenação consistente dos membros torácico e pélvico e posição predominante dos dígitos rodados (interna ou externamente) durante a locomoção, no instante de contato inicial com a superfície (piso) bem como, antes de liberar os dígitos no final da fase de apoio ou passada plantar frequente, coordenação consistente dos membros torácico e pélvico e passada dorsal ocasional.

15 – Passada plantar consistente e coordenação consistente dos membros torácico e pélvico e nenhuma liberação dos dígitos ou liberação ocasional durante o movimento do membro para frente, posição predominante dos dígitos paralelos ao corpo no instante do contato inicial.

16 – Passada plantar consistente e coordenação dos membros torácico e pélvico durante a marcha e a liberação dos dígitos ocorre frequentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante dos dígitos é paralela ao corpo no instante do contato inicial e rodada no instante da liberação.

17 – Passada plantar consistente e coordenação dos membros torácico e pélvico durante a marcha e a liberação dos dígitos ocorre frequentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante dos dígitos é paralela ao corpo nos instantes do contato inicial e da liberação dos dígitos.

18 – Passada plantar consistente e coordenação dos membros torácico e pélvico durante a marcha e a liberação dos dígitos ocorre consistentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante dos dígitos é paralela ao corpo no instante do contato inicial e rodada no instante da liberação.

19 – Passada plantar consistente e coordenação dos membros torácico e pélvico durante a marcha e a liberação dos dígitos ocorre consistentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante dos dígitos é paralela ao corpo nos instantes do contato inicial e da liberação dos dígitos e apresenta a cauda para baixo

parte do tempo ou por todo o tempo.

20 – Passada plantar consistente e coordenação dos membros torácico e pélvico durante a marcha e a liberação dos dígitos ocorre consistentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante dos dígitos é paralela ao corpo nos instantes do contato e da liberação dos dígitos e apresenta a cauda consistentemente elevada e instabilidade do tronco.

21 – Passada plantar consistente e marcha coordenada, liberação consistente dos dígitos, a posição predominante dos dígitos é paralela ao corpo durante toda a fase de apoio, estabilidade consistente do tronco, cauda consistentemente elevada.

BASSO, D. M., BEATTIE, M. S., BRESNAHAN, J. C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. **Journal do Neurotrauma**. v. 12, n. 1, p. 1 – 21. 1995.

## Certificado Comissão de ética do Setor de Ciências Agrárias



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OFÍCIO Nº 114/2017

Para: José Fernando Ibáñez, Thyara Weizenmann

Assunto: Protocolo 080/2017

Prezados pesquisadores,

Em revisão do protocolo número 080/2017, intitulado “**Avaliação do efeito do decanoato de nandrolona em lesão medular experimental em ratos**”, pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias – UFPR, consideramos que nossas solicitações foram atendidas. Porém, tendo o rato (*Rattus norvegicus*) como modelo animal, o mesmo deve ser destinado à aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas desta Universidade.

Agradecemos a compreensão e nos colocamos à disposição para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Curitiba, 6 de novembro de 2017.

Atenciosamente,

*Chayane da Rocha*  
Chayane da Rocha

**Coordenadora CEUA SCA**

CIENTE: *Thyara Weizenmann*  
*Thyara Caroline Weizenmann*

Nome e assinatura do proponente

DATA: 20/11/17

*Certificado Comissão de Ética do Setor de Ciências Biológicas*



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Setor de Ciências Biológicas  
Comissão de Ética no Uso de Animais  
(CEUA)



Nº 1172

**CERTIFICADO**

A Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR), instituída pela Resolução Nº 86/11 do Conselho de Ensino Pesquisa e Extensão (CEPE), de 22 de dezembro de 2011, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA) estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal.

**STATEMENT**

The Ethics Committee for Animal Use from the Biological Sciences Section of the Federal University of Paraná (CEUA/BIO – UFPR), established by the Resolution Nº 86/11 of the Teaching Research and Extension Council (CEPE) on December 22<sup>nd</sup> 2011, **CERTIFIES** that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the Brazilian Guidelines for Care and Use of Animals for Scientific and Teaching purposes established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and with the international guidelines for animal experimentation.

**PROCESSO/PROCESS:** 23075.211646/2017-07

**APROVADO/APPROVAL:** 21/11/2017 – R.O. 10/2017

**TÍTULO:** Avaliação do efeito do decanoato de nandrolona em lesão medular experimental em ratos.

**TITLE:** Evaluation of the effect of nandrolone decanoate on experimental spinal cord injury in rats.

**AUTORES/AUTHORS:** José Fernando Ibáñez, Aline de Marco Viott, Petterson Triches Dornbush, Thyara Caroline Weizenmann.

**DEPARTAMENTO/DEPARTMENT:** Medicina Veterinária

Prof.ª Dra. Katya Naliwaiko  
Coordenadora da CEUA

*Certificado Curso de Bioterismo do Einstein*

**EVENTOS EINSTEIN**

**CERTIFICADO**

Certifico que **Thyara Caroline Weizenmann** participou do **IV Simpósio de Bioterismo do Einstein** promovido pelo Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein, nos dias 03 e 04 de Agosto de 2017 com carga horária de 13 horas.

São Paulo, 14 fevereiro 2018

**Felipe Spinelli de Carvalho**  
Diretor de Ensino  
Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa

**Luciana Cintra**  
Comissão Organizadora  
Centro de Experimentação e Treinamento

[WWW.EINSTEIN.BR/EVENTOS](http://WWW.EINSTEIN.BR/EVENTOS)

  
**ALBERT EINSTEIN**  
INSTITUTO ISRAELITA DE  
ENSINO E PESQUISA  
CENTRO DE EDUCAÇÃO EM SAÚDE  
ABRAM SZAJMAN

*Certificado Simpósio de Neurologia*

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS  
DE PEQUENOS ANIMAIS – REGIONAL PARANÁ

## CERTIFICADO

Certificamos que **Thyara Weizenmann** participou como Ouvinte no *Simpósio de Neurologia*, promovido pela Anclivepa – PR, ministrado pelo palestrante Dr. Ronaldo Casimiro da Costa no Espaço Torres localizado na Rua Pergentina Silva Soares 159, Jardim Botânico, Curitiba Paraná, realizado no dia 11 e 12 Novembro de 2017, com carga horária de 16 horas/aula.

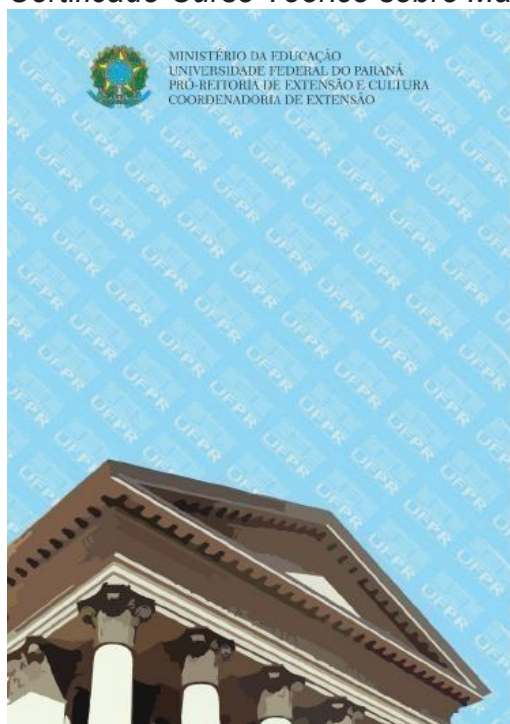


Stefan Rene Schwanz  
CRMV-PR n° 4446  
Presidente Anclivepa-PR  
Coordenador Simpósios 2017

[www.anclivepr.com.br](http://www.anclivepr.com.br)



## Certificado Curso Teórico sobre Manipulação Experimental Animal



# Certificado

THYARA CAROLINE WEIZENMANN

frequentou o curso de extensão "Curso Teórico sobre Manipulação na Experimentação Animal - 12ª edição (09/2017)", realizado no período de 25/09/2017 a 29/09/2017, num total de 40 horas, conforme programa no verso, promovido pelo(a) Departamento de Patologia Básica, do(a) Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, obtendo aprovação com frequência: 80% e aproveitamento: 85, conforme Resolução 72/11 - CEPE.

17 de Maio de 2018.

Prof. Dr. Leandro Franklin Gorsdorf  
Pró-Reitor de Extensão e Cultura

Prof. Dr.ª Maria Virginia Filomena Cremasco  
Coordenadora de Extensão

Código de validação: "PT12082"  
Para verificar a autenticidade deste certificado, acesse:  
<https://intranet.ufpr.br/sigeu/publico/certificadolexecute/validate>