

Alterações vesicais na lesão medular experimental em ratos¹

Fernando Meyer²
 Luiz Roberto Vialle³
 Emiliano Neves Vialle⁴
 Luiz Fernando Bleggi-Torres⁵
 Elizana Rasera⁶
 Izabela Leonel⁶

Meyer F, Vialle LR, Vialle EM, Bleggi-Torres LF, Rasera E, Leonel I. Alterações vesicais na lesão medular experimental em ratos. *Acta Cir Bras* [serial online] 2003 Maio-Jun;18(3). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.

RESUMO - O trauma raquimedular é uma das lesões traumáticas com maior impacto sobre a sociedade, o que faz com que enormes investimentos sejam feitos em estudos visando sua cura. Para a realização de pesquisas sobre lesão medular, é necessário que se utilize um modelo reprodutível desta lesão. A padronização de um sistema de lesão medular experimental provoca alterações não só no sistema nervoso mas também sistêmicas. **Objetivo:** O presente estudo visa avaliar as alterações vesicais na fase aguda da lesão medular experimental. **Métodos:** Foram utilizados 34 ratos Wistar machos divididos em grupo controle (A) e grupo experimento (B). Enquanto os animais do grupo B foram submetidos à laminectomia no nível T9-T10 seguida de lesão medular, os do grupo A (n=4) foram submetidos somente à laminectomia. Os animais do grupo B foram divididos em 6 grupos distintos (n=5) e foram submetidos à eutanásia após 2, 4, 8, 24, 48 horas e 4 dias. **Resultados:** Verificou-se redução da camada urotelial em todos animais do grupo B, presença de células inflamatórias e congestão vascular principalmente após 8 horas, entre outros achados. **Conclusão:** As alterações histológicas na fase aguda da lesão medular evidenciaram importante comprometimento vesical, sendo essa uma alteração sistêmica de relevância em lesados medulares.

DESCRITORES - Trauma raquimedular. Alterações sistêmicas. Ratos. Cistite hemorrágica.

Introdução

Os estudos que envolvem lesão medular experimental são fundamentais para a compreensão dos mecanismos secundários de lesão tecidual decorrentes do trauma raquimedular. Existe a necessidade de entender como órgãos e sistemas aparentemente não

relacionados a lesão medular são comprometidos e a que nível essas alterações chegam. Dados coletados através de estudos experimentais mostram que distúrbios ocorridos em cobaias podem ser extrapolados a seres humanos se as suas devidas proporções anatômicas, fisiológicas e metabólicas forem respeitadas.

-
1. Trabalho realizado no Laboratório de Lesões Medulares e Trauma Experimental do Serviço de Ortopedia e Traumatologia, Hospital Universitário Cajuru, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.
 2. Médico urologista, Serviço de Urologia do HUC, PUC/PR. Mestre em Cirurgia – UFPR.
 3. Médico ortopedista, Chefe do Serviço de Ortopedia e Traumatologia, Hospital Universitário Cajuru, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.
 4. Médico residente, SOT, HUC, PUC/PR.
 5. Chefe do Laboratório de Patologia Experimental, PUC/PR
 6. Acadêmico de Medicina, estagiário do Laboratório de Lesões Medulares e Trauma Experimental, SOT, HUC, PUC/PR.

Há quase um século, Allen¹ foi o primeiro a padronizar lesão medular experimental em animais de laboratório com trauma contuso aberto. Seguiram-se os estudos de Amako (1936)² e Freeman e Wright (1953)³, mantendo-se a idéia de um modelo de lesão por contusão. Até que entre os anos de 1990 a 1992, John A. Gruner (Cephalon, Inc., Departamento de Farmacologia Experimental, Filadélfia - EUA), Wise Young (Departamento de Neurocirurgia, NYU Medical Center, Nova Iorque - EUA) e Carl P. Mason (Veterans Administration, Rehabilitation Engineering and Research Center, Nova Iorque - EUA) desenvolveram o Impactor NYU, respeitando os preceitos de Allen. Vários trabalhos foram feitos com este modelo^{4,5,6} e acredita-se atualmente que esta técnica é a que mais se aproxima do que realmente ocorre em seres humanos. Outros estudos experimentais foram desenvolvidos na tentativa de padronizar o método de avaliação e da quantificação da lesão medular experimental em vários modelos^{4,7,8}. Estes estudos limitam-se em analisar as alterações do sistema nervoso, sem abordar o animal como um todo e por vezes não mencionando a ocorrência de alterações sistêmicas após lesão medular.

O objetivo do presente estudo foi avaliar as alterações histopatológicas na bexiga urinária de ratos submetidos a lesão medular experimental, em tempos variados de evolução, após lesão medular contusa padronizada.

Métodos

O projeto deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal do Hospital Universitário Cajuru, vinculado a Direção de Ensino e Pesquisa – PUC-PR.

Foram utilizados 34 ratos machos da linhagem Wistar, pesando entre 300 e 350g, oriundos do Biotério Central da PUC-PR. Os animais ficaram alojados em grupos de 5, em gaiolas de polipropileno. Todos receberam água e ração (Nuvilab CR-1 - Nuvital, Colombo - PR) *ad libitum*, com controle de luz (ciclos claro-escuro) conforme o do ambiente geral e temperatura ambiente ($23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). Convém salientar que todos os procedimentos experimentais seguiram as normas do MASCIS (*Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study*).

Os animais foram anestesiados com pentobarbital na dose de 65mg/kg intraperitoneal (ip), 5 minutos previamente ao experimento. Procedeu-se à depilação do dorso por arrancamento digital e posicionamento em decúbito ventral. Após anti-sepsia da pele, foi feita incisão longitudinal no dorso de cerca de 5cm de pele e tecido celular subcutâneo, seguida de afastamento subperiosteal da musculatura paravertebral para expor a coluna vertebral. Realizou-se laminectomia ao nível de T9-T10 sem lesar o saco dural (Figura 1).

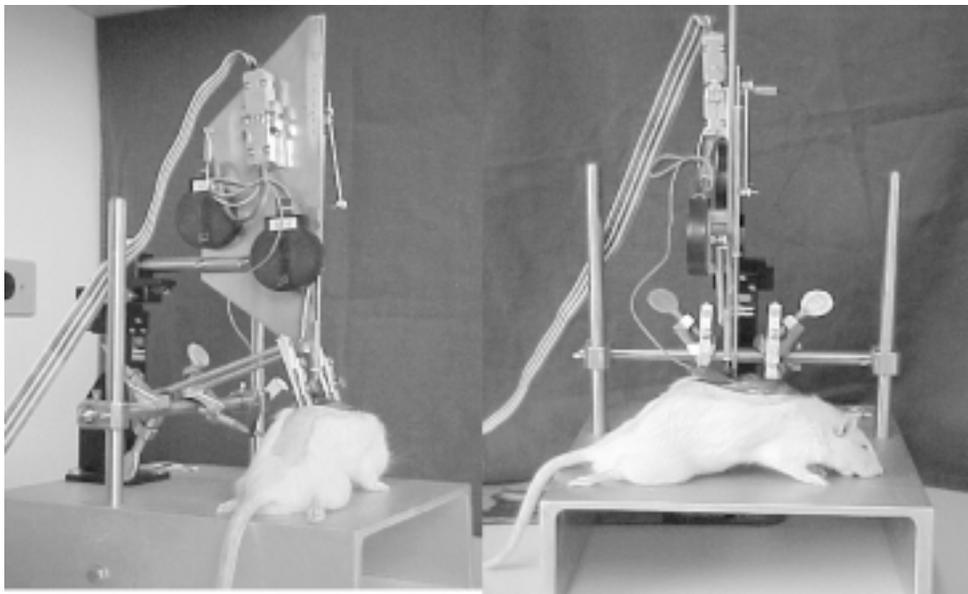


FIGURA 1 - Animal posicionado no aparelho impactor.

Após a exposição da medula espinhal, o animal foi então preso por *clamps* ao *Impactor NYU*, que é acoplado ao PC com *software* específico. Este aparelho registra dados como a velocidade de queda da haste, o momento

do impacto e principalmente a compressão sofrida pela medula espinhal. Os animais foram submetidos a lesão contusa equivalente a queda de 25mm de altura de haste com 10g numa área seccional de 2mm² (Figura 2).

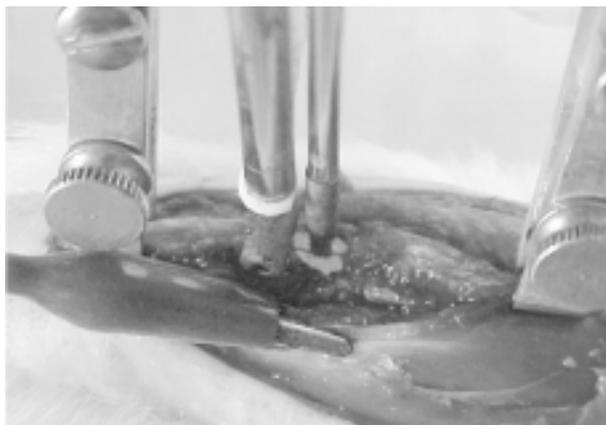


FIGURA 2 - Momento da impacção medular.

O grupo controle (n=4) foi submetido somente à laminectomia sem lesão medular e sacrificado em 4 dias para estudo histológico. Já os animais do grupo experimento foram divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=5) afim de serem sacrificados em tempos variados (2, 4, 8, 24, 48 horas e 4 dias) com *overdose* de tiopental (100 mg/kg, ip). Logo após a lesão, os ratos foram manejados com expressão vesical de 8/8 horas, pelo método de Credé. As alterações no padrão macroscópico da urina foram observadas quanto a presença ou não de hematúria.

Imediatamente após o sacrifício, procedeu-se à infusão de solução salina fisiológica na câmara cardíaca

até a completa exsanguinação e em seguida infundiuse 300 ml de solução formalina 10% tamponada (pH 6,8, composto por 4,5g/l de fosfato monobásico de sódio e 6,5g/l de fosfato dibásico de sódio). Os animais foram devidamente identificados e estocados em frascos individuais contendo a mesma solução tamponada, onde permaneceram até o estudo anatomopatológico.

Após ter sido avaliada as possíveis alterações macroscópicas, as peças cirúrgicas foram submetidas ao preparo histológico para confecção das lâminas, coradas com hematoxilina-eosina (HE). A leitura das alterações histológicas foi feita através da microscopia óptica por um patologista, que recebeu as lâminas sem nenhuma identificação quanto à intensidade da lesão ou ao tempo de evolução em que o animal foi sacrificado.

Resultados

Quatro animais foram a óbito nas primeiras 24 horas após a lesão, mortalidade aproximada àquela citada na literatura^{2,7}.

O estudo histológico foi conduzido avaliando as alterações tais como: alterações no número de camadas do urotélio, presença de mono e poli morfocelulares, alterações vasculares (dilatação, congestão) e achados inespecíficos. Os dados obtidos foram agrupados por tempo de evolução pós lesão e estão apresentados na tabela 1.

TABELA 1 - Alterações histopatológicas da bexiga em ratos lesados medulares.

<i>Duração</i>	<i>camadas urotelio</i>	<i>MMN (0/+ /+++ /+++)</i>	<i>PMN</i>	<i>Vasos (dilat/ cong)</i>	<i>OUTROS</i>
2 H	3 a 5	++	leve/focal c/ exo	0	espongiose, eosinófilos, mastócitos
4H	2 a 4	0	0	0	espongiose, parasitas intraluminais, calcificação distrófica na adventícia
8H	1	0	leve/focal c/ exo	presente	edema, espongiose, erosão do epitélio, eosinófilos, conteúdo hemorrágico leve.
24H	1 a 3	+	acent c/ exoc	presente	conteúdo hemorrágico, erosão multifocal do epitélio com deposição de fibrina e exsudato inflamatório; edema e espongiose.
48H	2 a 4	+	acent c/ exoc	leve/focal	edema, espongiose, eosinófilos, mastócitos, parasitas intraluminais e intraepiteliais.
4D	1 a 3	+	leve/focal c/ exoc	presente	edema, espongiose, mastócitos, anéis de von Brunn eosinófilos
GC	4 a 5	0	0	0	eosinófilos, parasitas intraluminais

H: horas; **D:** dias; **GC:** grupo controle; **MMN:** monomorfocelulares (0: ausente; +: até 2 por campo; ++: mais de 2 por campo); **PMN:** polimorfocelulares; **exoc:** exocitose; **dilat :** dilatados; **cong:** congestos.

Discussão

Lesão medular é o nome dado ao conjunto de situações que ocorrem nos neurônios do sistema nervoso central (SNC) do canal vertebral, desde o forame magno até a região lombossacra, que culminam com graus variados de extensão e comprometimento da sua função. As principais funções da medula (motora, sensitiva e de atividades reflexas) podem ser interrompidas devido a infecções, alterações congênitas, doenças degenerativas, tumores, compressão vascular e eventos traumáticos, sendo esta a causa mais comum. A medula espinhal não é tida somente como estrutura anatômica de trânsito de estímulos do cérebro às extremidades e vice-versa, mas é parte extremamente complexa do SNC, capaz de regular seu fluxo sanguíneo^{5,9} e a passagem destes estímulos, com a variação da excitabilidade de corpos neuronais e seus axônios¹⁰.

A incidência anual de trauma medular, excluindo as mortes na cena do acidente, é de aproximadamente 40 casos por milhão na população norte americana, ou seja, 10.000 novos casos a cada ano^{11,12}. Adultos jovens são os mais acometidos, sendo a idade mais comum do trauma medular entre 16 e 30 anos (61%). Das vítimas, 81,8% são do sexo masculino. A tetraplegia (perda ou diminuição da função motora e ou sensitiva nos segmentos cervicais da medula) acomete 54% do total da população de lesados medulares e a paraplegia 46%. Dos traumas raquimedulares, 55% ocorrem na região cervical, 15% na região torácica, 15% na transição toracolombar e 15% na região lombossacra^{12,13}.

Sabe-se que as maiores causas de morbimortalidade na lesão medular são devidas à perda do controle esfinteriano (vesical e intestinal), perda de sensibilidade com a formação de escaras, processos degenerativos osteoarticulares e fenômenos tromboembólicos. Convém lembrar das alterações no relacionamento psicossocial nos pacientes tetraplégicos, somadas às alterações da função pulmonar e infecção, bem como perda da termorregulação^{6,11,13, 14}.

A busca da cura para a lesão medular faz com que muitos estudos limitem-se às alterações do tecido nervoso em detrimento das alterações sistêmicas. Sabe-se que lesão medular resulta em sérias alterações funcionais no trato urinário inferior o que favorece infecção devido à incontinência vesical e aumento da pressão intra-vesical. A lesão medular altera o centro da micção pontina e como resultado ocorre disfunção na coordenação vesicouretral. A infecção da bexiga urinária continua sendo a segunda comorbidade mais comum entre a população de lesados medulares¹⁵.

Hematúria franca é um sinal precoce de cistite hemorrágica, que ocorre nas primeiras 24-48 horas após a lesão, o que causa distensão vesical, dificuldade para expressão vesical e formação de coágulos que obstruem as vias urinárias (Figura 3).

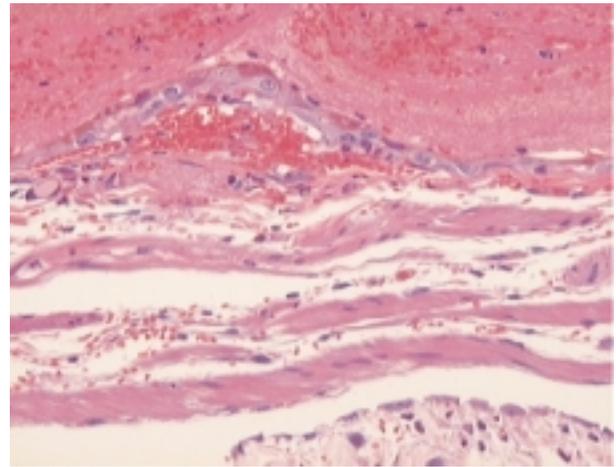


FIGURA 3 - Hemorragia intramural e polimorfonucleares caracterizando cistite hemorrágica. (HE x 100)

A avaliação histológica da bexiga permite compreender a fisiopatologia da lesão. A descamação do epitélio, evidenciada pela redução do número de camadas do urotélio, mostra morte celular decorrente de distensão e oclusão vascular. Alterações degenerativas precoces como espongirose e edema celular indicam que a lesão ainda estava em progressão. O sofrimento tecidual também é evidenciado pela reação inflamatória com infiltração de monomorfonucleares e polimorfonucleares (Figuras 4 e 5). A migração dessas células sugere uma resposta à proliferação bacteriana secundária à estase, o que também contribui para a progressão da lesão tecidual na bexiga.

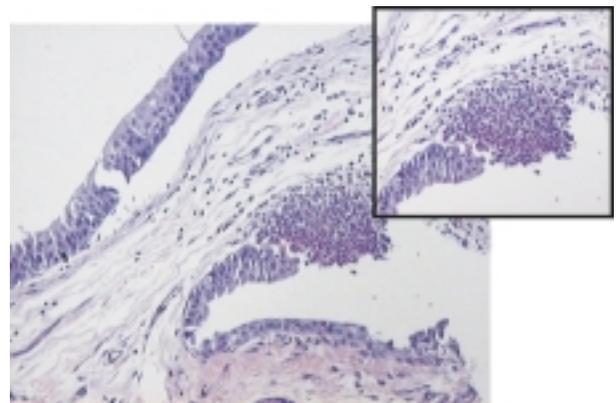


FIGURA 4 - Cistite ativa; urotélio estratificado, múltiplos focos de exocitose com poli e monomorfonucleares (detalhe). Lâmina própria edemaciada com vasos congestionados. (HE x100 ; HE x 200)

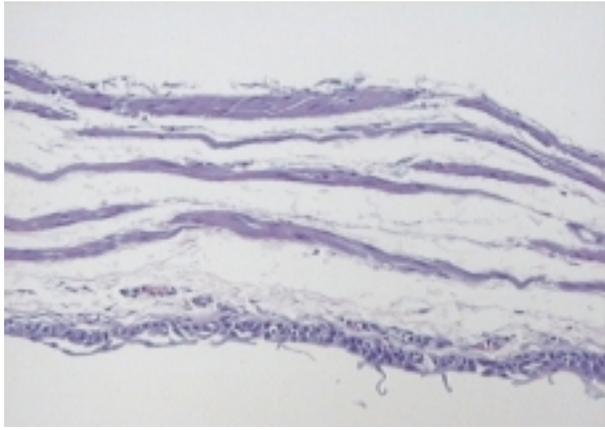


FIGURA 5 - Edema acentuado da parede vesical. (HE x 200)

Conclusões

Os achados histopatológicos mostram a existência de sofrimento tecidual e de resposta inflamatória importante existente na bexiga durante a fase aguda em animais submetidos a lesão medular experimental.

Os resultados deste estudo fornecem parâmetros para estudos envolvendo alterações do sistema urinário em lesados medulares. Há necessidade de que se estabeleça métodos eficazes de controle da pressão vesical e da flora bacteriana urinária nos animais submetidos a lesão medular experimental.

O conhecimento das alterações vesicais após lesão medular promove melhoria dos cuidados emergenciais e principalmente urinário. Está comprovado que terapias efetivas têm enorme potencial para diminuir os gastos com os pacientes e ocorre aumento na sobrevida para mais de 40 anos^{6,14}.

Referências

1. Allen AR Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report. *J Am Med Assoc* 1911;57: 878-80.

2. Amako T. Surgery of spinal injuries due to impact: II experimental study. *J Jap Surg Soc* 1936; 37: 1843-74.
3. Freeman LW, Wright TW. Experimental observations of concussion and contusion of the spinal cord. *Ann Surg* 1953; 137: 433-43.
4. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection. *Neurosci Lett* 1996; 139: 244-56.
5. Chehrizi BB, Scremin O, Decima EE. Effect of regional spinal cord blood flow and central control in recovery from spinal cord injury. *J Neurosurg* 1989; 71: 747-53.
6. Viall, LRG, Fischer S, Marcon JC, Vialle E, Luzzi R, Bleggi-Torres LF. Estudo histológico da lesão medular experimental em ratos. *Rev Bras Ortop* 1999; 34(2): 85-9.
7. Anderson TE, Stokes BT. Experimental models for spinal cord injury research: physical and physiological considerations. *J Neurotrauma* 1992; 9 (suppl. 1): S135-42.
8. Olby NJ, Blakemore WF. A new method of quantifying the extent of tissue loss following spinal cord injury in the rat. *Exp Neurol* 1996; 138: 82-92.
9. Tator CH, Koyanagi I. Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord injury. *J Neurosurg* 1997; 86: 483-92.
10. Akdemir H. Effects of TRH and high-dose corticosteroid therapy on evoked potentials, and tissue Na⁺, K⁺ and water content in experimental spinal injury. *Res Exp Med* 1993; 193: 297-304.
11. Bailey RW, Badgley CE. Stabilization of the cervical spine by anterior fusion. *J Bone Joint Surg* 1960; 42 A: 565-94.
12. Beatson TR. Fractures and dislocation of the cervical spine. *J. Bone Joint Surg* 1963; 61B: 21-35.
13. Benzel EC, Larson SJ. Recovery of nerve root function after complete quadriplegia from cervical spine fractures. *Neurosurgery* 1986; 19:772-8.
14. Cifu DX, Huang ME, Kolakowsky-Hainer SA, Seel RT. Age, outcome, and rehabilitation costs after paraplegia caused by traumatic injury of the thoracic spinal cord, conus medullaris, and cauda equina. *J Neurotrauma* 1999; 16(9): 805-15.
15. Siroky MB. Pathogenesis of bacteriuria and infection in the spinal cord injured patient. *Am J Med* 2002; 113(suppl 1A): 67S-79S.

Meyer F, Vialle LR, Vialle EM, Bleggi-Torres LF, Rasera E, Leonel I. Urinary bladder changes in experimental spinal cord injury. *Acta Cir Bras* [serial online] 2003 May-Jun;18(3). Available from URL: <http://www.scielo.br/acb>.

ABSTRACT - Spinal cord trauma is one of the lesions with highest socioeconomical impact. To develop research on spinal cord field it is mandatory to use a reproducible model for inducing lesions. Standardized spinal cord injury (SCI) promotes changes not only in the nervous system but also systemic changes. **Purpose:** The aim of this study was to evaluate urinary bladder changes during the acute phase of experimental spinal cord injury. **Methods:** Thirty four Wistar male rats were allocated in 2 groups: control (A) and experiment (B). While animals from group B underwent laminectomy at T9-T10 level followed by SCI, group A underwent only laminectomy at the same level (n=4). Animals from B were divided in 6 groups (n=5) and underwent euthanasia after 2, 4, 8, 24, 48 hours and 4 days. **Results:** There was a decrease in the number of urothelial layers in group B, inflammatory cells and vascular congestion were present mainly after 8 hs and other findings. **Conclusion:** It was possible to conclude that there is an important histological bladder alteration in the acute phase of the SCI.

KEY WORDS - Spinal cord injury. Systemic changes. Rats. Hemorrhagic cystitis.

Conflito de interesse: nenhum
Fonte de financiamento: nenhuma

Correspondência:
Fernando Meyer
Rua Oiapoque, 99/1001
80050-450 Curitiba – PR
Tel: (41)242-6543
fmeyer@onda.com.br

Data do recebimento: 26/01/2003
Data da revisão: 12/02/2003
Data da aprovação: 25/02/2003