

PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA PARA CAPTAÇÃO DO POTENCIAL EVOCADO MOTOR EM RATOS ATRAVÉS DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA TRANSCRANIANA

STANDARDIZATION OF MOTOR EVOKED POTENTIAL CAPTIVATION TECHNIQUE IN RATS THROUGH TRANSCRANIAL ELECTRIC STIMULUS

RICARDO FERREIRA¹, ARNÓBIO ROCHA OLIVEIRA², TARCÍSIO ELOY PESSOA DE BARROS FILHO³

RESUMO

Os autores demonstram experimentalmente a padronização da técnica para obtenção do potencial evocado motor em ratos através da estimulação elétrica transcraniana. Foram utilizados 50 ratos Wistar devidamente anestesiados e preparados de acordo com as normas vigentes no Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e Nervos Periféricos do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo. A latência mínima média das respostas dos membros superiores foi de 2,5 ms e de membros inferiores foi de 6,5 ms. A amplitude média das respostas foi de 3,0 mV e de 2,5 mV nos membros superiores e membros inferiores, respectivamente. Os autores concluem que a técnica para captação do potencial evocado motor em ratos apresentada neste estudo é eficaz na análise da evolução eletrofisiológica da lesão medular, inédita no nosso meio, podendo ser reproduzida de modo simples, além de apresentar padrões de qualidade e aplicabilidade semelhantes aos observados na literatura mundial.

Descritores: Traumatismos da medula espinal; Ratos Wistar; Estimulação elétrica.

SUMMARY

Experimentally, the authors demonstrate the standardization of the technique for capturing the motor evoked potential in rats through transcranial electric stimulus. Fifty Wistar rats, under anesthesia, were prepared according to the current rules of the Laboratory of Spinal Cord Trauma and Peripheric Nerves Studies of the Orthopaedics and Traumatology Institute of Hospital das Clínicas, Medical School of São Paulo. Average minimal latency of the upper limb responses was 2.5 ms and of the lower limb 6.5 ms. Average amplitude of the responses was 3.0 mV and 2.5 mV on upper and lower limbs, respectively. The authors conclude that the technique for obtaining motor evoked potential in rats, as presented in this study, is efficient for the analysis of the electrophysiological evolution of medullar lesions, unprecedented in our field, and it can be reproduced in a simple way, and presents quality and applicability standards similar to those seen in global literature.

Keywords: Spinal cord Injuries; Rats; Wistar; Electric stimulation.

INTRODUÇÃO

A busca pelo conhecimento adequado dos mecanismos envolvidos na lesão medular foi intensificada nos últimos anos, justificando o aumento na produção de estudos experimentais no campo da regeneração medular⁽¹⁾.

O rato tem sido o animal mais utilizado em modelos experimentais de lesão medular⁽²⁾, talvez pela facilidade na obtenção e no manejo destes animais, bem como na diminuição de gastos dos recursos financeiros destinados a pesquisa.

A recuperação funcional após a lesão medular em ratos, pode apresentar diferentes padrões funcionais dependendo da gravidade do trauma e do tratamento realizado. O registro desta recuperação pode ser feito através de vários testes comportamentais do animal^(3,4,5,6), estudos anatomopatológicos do seguimento medular afetado^(7,8) e de métodos eletrofisiológicos^(2,7,9,10,11,12).

Na literatura nacional não há relato de estudo com o potencial evocado motor em ratos. Até então, a avaliação da recuperação na lesão medular de ratos descritas no nosso meio, tem sido realizada unicamente através de testes clínicos da função motora e exames histológicos^(13,14).

Segundo a literatura⁽²⁾ vários métodos eletrofisiológicos têm sido desenvolvidos para monitorar a recuperação neurológica em ratos. Alguns autores utilizaram parafusos de estimulação acoplados diretamente no crânio e que permaneceram inseridos

até o término do experimento. Em outros estudos microeletrodos de estimulação foram colocados, diretamente acoplados no córtex cerebral, procedimentos estes, tecnicamente diferentes e mais complexos quando comparado ao modelo de estimulação transcraniana proposto no presente estudo, cujos eletrodos de agulha são fixados apenas no couro cabeludo do animal.

OBJETIVOS

O objetivo desse estudo é demonstrar a técnica para obtenção do potencial evocado motor em ratos, através da estimulação elétrica transcraniana de modo simples, econômico e de fácil reprodutibilidade em qualquer laboratório de pesquisa experimental.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e Nervos Periféricos (LETRAN) e no Laboratório de Microcirurgia do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IOT - FMUSP), tendo sido iniciado em 30/06/2003. Foram utilizados cinquenta ratos Wistar machos com peso médio de 360gr, com temperatura corporal média de 28° C e devidamente anestesiados com 55 a 75 mg/Kg de Pen-

Trabalho realizado no Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e Nervos Periféricos (LETRAN) e Laboratório de Microcirurgia do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IOT - FMUSP).

Endereço para correspondência: Arnóbio Rocha Oliveira – Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – Curso de Pós-graduação – e-mail: arnobior@terra.com.br

1. Médico Colaborador do LETRAN - Responsável pela Monitoração Neurofisiológica.

2. Doutorando do Curso de Pós-Graduação do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

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

Trabalho recebido em: 16/07/04 aprovado em 05/05/05

tobarbital intraperitoneal associado com 55 a 75 mg/Kg de Ketamina intramuscular.

Os materiais necessários para o procedimento de obtenção do potencial evocado motor consistem em aparelho de eletromiografia de 4 canais, 2 eletrodos de agulha monopares do tipo *corkscrew EO401 da Neuromedical Supplies* para estimulação transcraniana, 1 eletrodo de agulha monopolar para ser utilizado como terra e 4 pares de eletrodos de agulha monopares para serem utilizados na captação das respostas motoras nos MMSS e MMII.

Em seguida, serão expostos os passos para obtenção do potencial evocado motor em ratos. **Pesagem** (Figura 1A) do rato que é utilizada tanto para cálculo da dose do anestésico a ser aplicada, quanto para manter a uniformidade nos pesos dos animais utilizados no experimento. **Anestesia** (Figura 1B) intraperitoneal com 55 a 75 mg/Kg de Pentobarbital intra-peritoneal associado com 55 a 75 mg/Kg de Ketamina intramuscular. Depois do animal estar anestesiado realiza-se a **Tricotomia** (Figura 1C) da região craniana, para facilitar a colocação dos eletrodos de agulha no couro cabeludo. O **Comprimento** (Figura 1D) crânio-caudal do animal é medido entre a região occipital e a base do início da cauda. Este dado servirá para comparar as latências observadas nos diferentes ratos. A **Temperatura** (Figura 1E) do rato é medida no membro inferior com termômetro digital. A **Captação** (Figura 1F – Figura 3) das respostas musculares é realizada com a colocação de pares de eletrodos de agulha

monopolar (captador e referência), com distância inter-eletrodos definida e fixa, para captação em MMSS e MMII, inseridos na musculatura proximal e anterior dos MMSS e MMII. O eletrodo de **Terra** (Figura 3) é colocado na região lombar através de um eletrodo de agulha monopolar. A **Estimulação** (Figura 2 e Figura 3) elétrica transcraniana é realizada com a colocação de dois eletrodos de agulha tipo *corkscrew*, no couro cabeludo na região frontal (anodo) e occipital (catodo) na linha inter-hemisférica, para estimulação bilateral simultânea. Após a colocação dos eletrodos no rato, inicia-se o **equipamento** (Figura 4A) e verifica-se a **Impedância** (Figura 4B) destes eletrodos, para comprovar a boa adaptabilidade dos mesmos, afim de obter respostas mais nítidas, seguras e fidedignas. A **Calibração** do aparelho é feita em dois aspectos a **captação** das respostas musculares: varredura: janela de 20 ms, sensibilidade: 2 mV/div., filtro de baixa frequência: 10 Hz e filtro de alta frequência: 10 KHz e a **estimulação** elétrica transcraniana através de estímulo único de 0,2 ms de duração. Intensidade de estímulo considerada supramáxima.

RESULTADOS

Na figura 5 são demonstrados alguns registros do potencial evocado motor normal em ratos. A latência mínima média das respostas de MMSS foi de 2,5 ms e de MMII foi de 6,5 ms. A amplitude média das respostas de MMSS foi de 3,0 mV e de MMII foi de 2,5 mV.

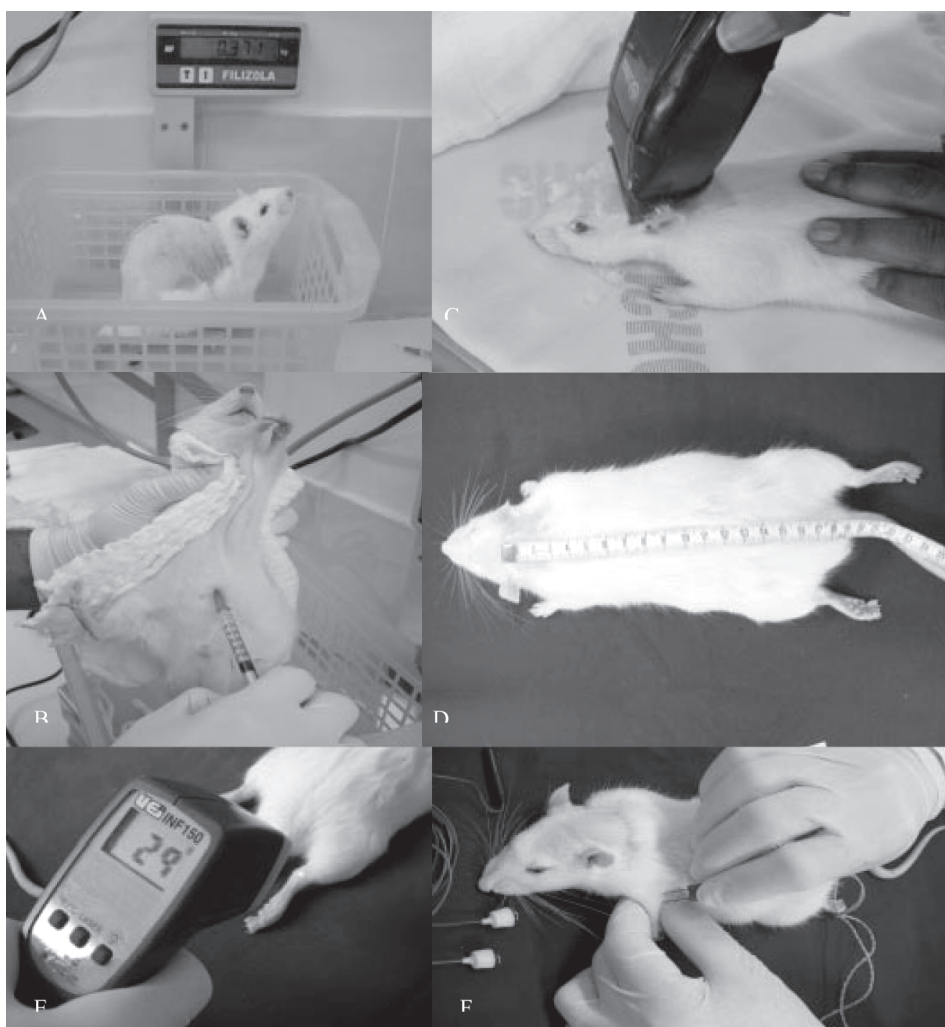


Figura 1 - A) Pesagem B) Anestesia C) Tricotomia D) Medição E) Medida da Temperatura F) Fixação de par de eletrodo de agulha em MSE

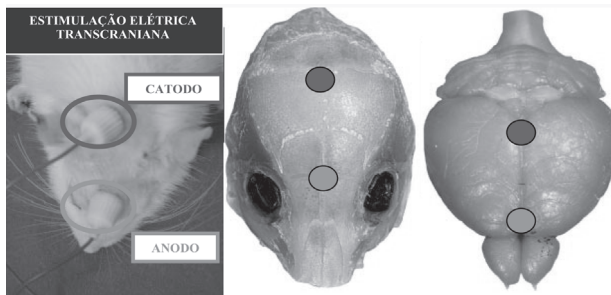


Figura 2 - Eletrodos estimuladores Anodo e Catodo

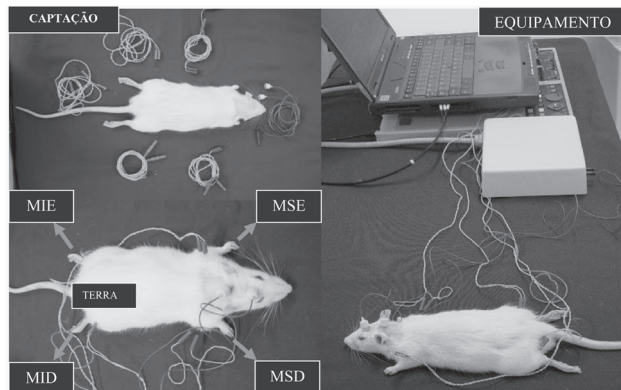


Figura 3 - Colocação dos eletrodos



Figura 4 - A) Equipamento B) Impedanciômetro

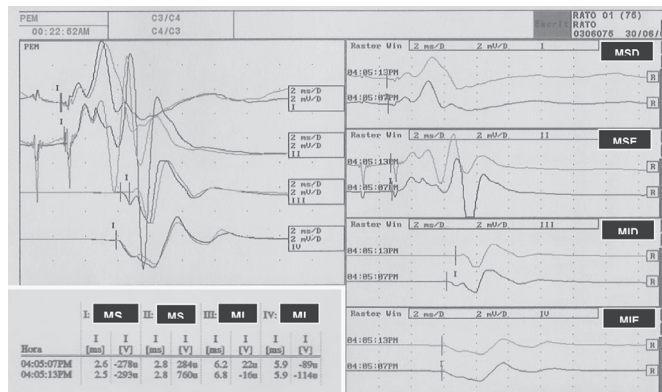


Figura 5 - Registros de respostas motoras do PEM

DISCUSSÃO

No atual estágio do conhecimento sobre a recuperação da lesão medular, os estudos experimentais são imprescindíveis na busca do entendimento dos mecanismos envolvidos na gênese da lesão, bem como na obtenção da melhora funcional após o traumatismo raquimedular. Trauma este habitualmente irreversível e que pode causar seqüelas devastadoras para o indivíduo, com reflexos na família e na sociedade onde ele está inserido. Em nosso meio o estudo da recuperação neurológica em ratos após lesão medular também pode ser avaliada com o potencial evocado motor, além dos testes clínicos e histológicos já consagrados em estudos prévios^(13,14). O método apresentado nesse estudo simplifica a obtenção do potencial evocado motor em ratos. Na literatura não encontra-

mos estudos que detalhem as técnicas já existentes passo a passo. Desse modo justificamos a realização do presente estudo, além de viabilizarmos um novo método de avaliação para a função neurológica nos crescentes experimentos realizados em nosso meio.

CONCLUSÕES

Acreditamos que a técnica para captação do potencial evocado motor em ratos apresentada nesse trabalho é um método seguro para analisar a evolução eletrofisiológica da lesão medular, podendo ser reproduzida de modo simples, em qualquer laboratório de pesquisa, além de apresentar padrões de qualidade e aplicabilidade semelhante aos observados na literatura mundial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barros Filho TEP. Tratamento medicamentoso no traumatismo raquimedular. Rev Bras Ortop 2000; 35:143-6.
- Schlag MG, Hopf R, Redl H. Serial recording of sensory, corticomotor, and brainstem-derived motor evoked potentials in rat. Somatosens Mot Res 2001; 18:106-16.
- Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. J Neurotrauma 1995; 12:1-21.
- Bresnahan JC, Beattie MS, Noyes DH. A behavioral and anatomical analysis of spinal cord injury produced by a feedback-controlled impaction device. Exp Neurol 1987;95:548-70.
- Little JW, Harris RM, Solberg RC. Locomotor recovery following subtotal spinal cord lesions in a rat model. Neurosci Lett 1988; 87:89-94.
- Sarubashi Y, Young W. Effect of mianserin on locomotor function after thoracic spinal cord hemisection in rats. Exp Neurol 1994; 129:207-16.
- Dimar JR, Glassman SD, Raque GH, Zhang YP, Shields CB. The influence of spinal canal narrowing and timing of decompression on neurologic recovery after spinal cord contusion in a rat model. Spine 1999; 24:1623-33.
- Fehlings MG, Nashmi R. Assessment of axonal dysfunction in an in vitro model of acute compressive injury to adult rat spinal cord axons. Brain Res 1995; 677:291-9.
- Fehlings MG, Tator CH, Linden RD, Piper R. Motor and somatosensory evoked potentials recorded from the rat. Electroenceph Clin Neurophysiol 1988; 69:65-78.
- Jou IM. Effects of core body temperature on changes in spinal somatosensory-evoked potential in acute spinal cord compression injury. An experimental study in the rat. Spine 2000; 25:1878-83.
- Nascimento AC, Bartels M, Loew F. Acute changes in somatosensory evoked potentials following graded experimental spinal cord compression. Surg Neurol 1986; 25:62-6.
- Zileli M, Schramm J. Motor versus somatosensory evoked potential changes after acute experimental spinal cord injury in rats. Acta Neurochir 1991; 108:140-7.
- Tebet MA, Barros Filho TEP, Machado IR et al. Efeito da metilprednisolona na esão medular em ratos: análise funcional e histológica. Acta Ortop Bras 2003; 11: 80-6.
- Vialle E, Vialle LRG, Rasera E et al. Avaliação da recuperação motora em ratos submetidos a lesão medular experimental. Rev Bras Ortop 2002; 37:83-8.