

MODELO EXPERIMENTAL DE PARALISIA CEREBRAL: IMPLICAÇÕES SOBRE A ATIVIDADE LOCOMOTORA

Sabrina da Conceição Pereira¹; Ana Elisa Toscano Meneses da Silva Castro²

¹Estudante do Curso de Fisioterapia - UFPE; E-mail: bina_c13@hotmail.com.

²Docente/pesquisador do Núcleo de Enfermagem – CAV- UFPE. E-mail: aeltoscano@yahoo.com.br

Sumário: investigou-se o impacto do modelo experimental de paralisia cerebral sobre o desenvolvimento pós-natal da atividade locomotora. Ratos machos *Wistar* foram avaliados, formando dois grupos: Grupo Paralisia Cerebral (PC) (8 ninhadas) – filhotes expostos ao modelo experimental de paralisia cerebral, que associa a anóxia perinatal e restrição sensório-motora, e Grupo Controle (8 ninhadas) – filhotes que não foram submetidos ao modelo. A atividade locomotora foi avaliada, quando os ratos estavam com idade de 8, 14, 17, 21 e 28 dias de vida, idades em que também foi registrado o peso corporal (g), e a análise feita através de um sistema automático de análise da atividade locomotora em campo aberto. A análise dos dados revelou um menor peso corporal pelo grupo PC a partir do 14º dia de vida pós-natal e em relação ao estudo da atividade locomotora, houve uma diminuição da atividade pelos animais do grupo PC, já que este apresentou redução de parâmetros avaliados no estudo. Na exploração do campo aberto foi observado que o grupo PC obteve maior tempo de permanência nas áreas mais centrais do campo em comparação ao grupo controle. Concluímos que o modelo experimental de paralisia cerebral é capaz reduzir o desenvolvimento somático e a atividade locomotora.

Palavras-chave: atividade locomotora; desenvolvimento; paralisia cerebral

INTRODUÇÃO

A Paralisia Cerebral (PC) compreende um grupo de distúrbios do movimento e da postura que ocasiona limitação da atividade. É uma condição neurológica estática, não progressiva, consequente à agressão ocorrida durante o desenvolvimento cerebral do feto ou durante a infância. (Bax *et al.*, 2005; Krigger, 2006). A PC pode ser o resultado de uma ou mais etiologias, sendo difícil determinar a causa na maioria dos indivíduos (Jones *et al.*, 2007). Durante o parto, as principais causas são de asfixia e dificuldades respiratórias, além de infecções (Jones *et al.*, 2007; Koman *et al.*, 2004). A área cerebral que foi afetada reflete diretamente as incapacidades resultantes, sendo algumas áreas cerebrais mais susceptíveis que outras (Koman *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 2007). A espasticidade é bastante comum em crianças com PC, podendo ser uma das causas da fraqueza muscular, já que foi observado que pacientes com PC tiveram menor distribuição de fibras tipo I e maior das fibras tipo II, sendo compatível com o maior cansaço nesses pacientes. (Givon, 2009). A perda de deambulação pode ser, muitas vezes, devido ao aumento da fadiga e da ineficiência da marcha (Mockforde e Caulton, 2010). Existem alguns modelos animais que tentam reproduzir os danos causados pela PC. Para se entender os aspectos da patogênese da PC tanto a nível central quanto periférico, um modelo inicialmente proposto por Strata e cols (2004) e Coq e cols (2008), que utilizaram a anóxia perinatal associada à restrição sensório-motora, verificando que os animais submetidos à restrição, associada à anóxia perinatal, apresentaram efeitos duradouros como a redução na taxa de crescimento corporal, aumento do tônus muscular, marcha de padrão anormal, atrofia muscular, sendo estas alterações semelhantes às observadas em pacientes com PC (Strata *et al.*, 2004). Modelos de desuso dos membros posteriores têm sido usados a fim de se obter efeitos mais

duradouros no sistema muscular e assim estudar as adaptações do músculo esquelético ao desuso crônico e os efeitos neste sistema (Brito *et al.*, 2011). O objetivo foi avaliar em modelo experimental de PC em ratos o desenvolvimento da atividade locomotora. Uma vez que este modelo se aproxima do fenótipo da PC em humanos, esse estudo permite testar a hipótese de que o modelo experimental de paralisia cerebral é capaz de alterar o desenvolvimento normal da atividade locomotora, levando ao atraso na aquisição de padrões de movimento. Os dados provenientes desse estudo poderão auxiliar na compreensão do impacto provocado pela PC experimental, sobre a atividade locomotora, durante o período perinatal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados ratos machos albinos Wistar que formaram dois grupos: Grupo Paralisia Cerebral (PC) (8 ninhadas)–filhotes expostos ao modelo experimental de paralisia cerebral, que associa a anóxia perinatal e restrição sensório-motora, e Grupo Controle (8 ninhadas)–filhotes que não foram submetidos ao modelo. O modelo experimental de paralisia cerebral foi baseado nos experimentos de Strata *et al.* (2004), Coq *et al.* (2008) e Marcuzzo *et al.* (2009). Este modelo associa a anóxia perinatal a um modelo de restrição sensório-motora dos membros inferiores semelhante à falta de movimento ocorrida na PC. Os filhotes foram submetidos a dois episódios de anóxia pós-natal, no P0 e P1, e do P2 ao P28 foi feita a restrição sensório-motora durante 16 horas por dia, de forma que seja permitido apenas movimentos limitados da articulação do quadril, deixando os membros posteriores estendidos, sem que a eliminação de urina e fezes e os cuidados maternos sejam prejudicados (Strata *et al.*, 2004). Nas 8 horas restantes a livre movimentação do animal foi permitida e foi feita a avaliação da atividade locomotora. A atividade locomotora foi realizada quando os ratos estavam com idade de 8, 14, 17, 21 e 28 dias de vida, no ciclo escuro e a análise feita através de um sistema automático de análise da atividade locomotora em campo aberto (Aragao Rda, Rodrigues *et al.*, 2011), avaliando os seguintes parâmetros: distância percorrida, velocidade média, potência média, tempo de imóvel, número de paradas, tempo de permanência nas áreas do campo. Foi registrado o peso corporal (g), também nestas idades e no primeiro dia de vida, a fim de estabelecer a evolução ponderal. Os animais foram mantidos em biotério de experimentação com temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 1$, ciclo claro-escuro de 12/12 horas e livre acesso à água e à ração (dieta Labina – Purina S/A) e cada ninhada foi composta pela rata-mãe e oito filhotes. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Ciências Biológicas da UFPE (23076.014726/2013-74).

RESULTADOS

Na análise do peso corporal, o grupo PC apresentou menor ($p < 0,05$) peso corporal em relação ao grupo controle a partir do 14º dia de vida pós-natal. A avaliação da atividade locomotora revelou uma redução da atividade pelos animais que sofreram o modelo de paralisia cerebral (PC). A distância percorrida e a velocidade médias apresentadas pelo grupo PC foi menor ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle a partir da idade de 14 dias de vida pós-natal. De forma semelhante, obtivemos os mesmos resultados em relação à potência média, que foi menor ($p < 0,05$) a partir da idade de 17 dias de vida. O tempo parado do grupo PC foi maior ($p < 0,05$) aos 17 e 28 dias de vida pós-natal em relação ao grupo controle. Os animais do grupo PC apresentaram maior ($p < 0,05$) número de paradas nas idades de 8 e 17 dias de vida pós-natal. Consequentemente houve redução ($p < 0,05$) na relação tempo parado/número de paradas do grupo PC, embora tenha sido significativamente menor ($p < 0,05$) apenas aos 8 dias de vida de vida pós-natal. Aos 8 e 14 dias de vida de vida, o grupo PC apresentou maior ($p < 0,05$) tempo gasto na área 1 do

campo aberto sobre o grupo controle. Este também apresentou maior ($p < 0,05$) tempo de permanência na área 2 aos 8 dias de vida quando comparado com o grupo controle, levando à redução ($p < 0,05$) do tempo gasto na área 3 do campo aberto pelo grupo PC a partir dos 14 dias de vida de vida pós-natal.

DISCUSSÃO

O menor peso corporal apresentado pelo grupo PC sugere que as agressões sofridas no período perinatal, anóxia e restrição sensório-motora, podem interferir no desenvolvimento somático, assim como verificaram Strata e Coq (2004) que utilizaram a anóxia perinatal associada à restrição sensório-motora, em que os animais apresentaram efeitos duradouros como redução na taxa de crescimento corporal e alterações musculares. A exposição crônica à estressores, como acontece no presente estudo onde realizamos a restrição sensório-motora diariamente, tende a reduzir a ingestão alimentar, embora não cause anorexia (Marti et al, 1994). Além disso, é possível que a atrofia muscular ou a redução da densidade óssea devido à restrição sensório-motora, bem como alterações na ingestão de alimentos podem ter contribuído para esse resultado (Marcuzzo, 2009). A diminuição na atividade locomotora pelo grupo PC foi observada pois a anóxia perinatal resulta em comportamentos patológicos caracterizados por alterações no tônus muscular, desempenho locomotor ligeiramente degradado, e mudanças sutis na organização cortical (Strata e Coq 2004). Além disso, a restrição sensório-motora prejudica a realização de marcos de desenvolvimento e de habilidades motoras. E a associação entre a anóxia e a restrição induzem alterações histológicas no córtex somatosensorial onde há redução de células neuronais na camada V e aumento no número de células gliais (Marcuzzo et al, 2010). A diminuição do comprimento do passo, maior ângulo de pé e atrofia das fibras sóleo promovida pelo desuso crônico levam a um padrão de marcha anormal (Marcuzzo et al, 2008), resultando na diminuição de sua locomoção, esses achados corroboram com as alterações biomecânicas na distância percorrida, velocidade média, potência, tempo parado, número de paradas e relação tempo parado/número de paradas observadas no presente estudo. Alterações no sistema nervoso central podem estar associadas às modificações encontradas no tempo gasto nas diferentes áreas do campo aberto (Prut et al, 2003). O animal para ser filmado é colocado, inicialmente, no centro do campo aberto de onde pode começar a se mover livremente. Sendo que o aumento do comportamento exploratório pode ser visto como sinônimo de desenvolvimento (Jamon, 2006), além de que os roedores preferem, espontaneamente, a periferia do campo, caminhando próximo as paredes, um comportamento chamado tigmotaxia (Prut e Belzung, 2003). Embora este comportamento seja o padrão normal dos ratos, isso não acontece com o grupo PC, onde observamos que o grupo PC passa mais tempo nas áreas central e intermediária do campo, sendo assim, um indicativo de retardo ou não desenvolvimento suficiente do sistema motor. Assim, avaliamos a atividade locomotora dos animais dos grupos experimentais em relação à sua capacidade de geração de movimento e, conseqüentemente, o seu desenvolvimento locomotor. No qual observamos que os animais do grupo com paralisia cerebral possuem um retardo no desenvolvimento da sua capacidade exploratória e, provavelmente, de sua coordenação motora já que apresentam maior número de paradas e maior tempo parado em relação ao grupo controle.

CONCLUSÕES

Concluimos que o modelo experimental de paralisia cerebral, que associa anóxia perinatal e restrição sensório-motora, é capaz reduzir o desenvolvimento somático e a atividade locomotora. Animais com paralisia cerebral parecem sofrer danos importantes no

seu desenvolvimento neuromotor, limitando seu comportamento exploratório às áreas centrais do campo aberto.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao PIBIC/UFPE/CNPq, ao Departamento de Nutrição – UFPE e CNPq.

REFERÊNCIAS

- ARAGÃO, R. da S.; RODRIGUES, M. A.; BARROS, K. M.; SILVA, R. S.; TOSCANO, A. E.; DE SOUZA, R. E.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Automatic system for analysis of locomotor activity in rodents--a reproducibility study. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 192, n. 2, p. 216-221, 2011. BAX, M.; GOLDSTEIN, M.; ROSENBAUM, P.; LEVITON, A.; PANETH, N.; DAN, B.; JACOBSSON, B.; DAMIANO, D.; Executive Committee for the Definition of Cerebral Palsy Proposed definition and classification of Cerebral Palsy, April 2005. *Developmental medicine and Child Neurology*. v. 47, n. 8, p. 571-576, 2005. BRITO, V. C.; OLIVEIRA, B. D. R.; MORAES, S. R. A. Effects of immobilization on rat skeletal muscle tissue. *Journal of Morphological Science*, v. 28, n. 4, p. 217-221, 2011. COQ, J. O et al. Impact of neonatal asphyxia and hind limb immobilization on musculoskeletal tissues and S1 map organization: implications for cerebral palsy. *Experimental Neurology*, v. 210, p. 95-108, 2008. COUTINHO, E. L.; GOMES, A. R. S.; FRANÇA, C. N.; SALVINI, T. F. A new model for the immobilization of the rat hind limb. *Brasilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 35, p. 1329-1332, 2002. GIVON, U. Muscle weakness in cerebral palsy. *Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica*, v. 43, n. 2, p. 87-93, 2009. HIMMELMANN, K.; BECKUNG, E.; HAGBERG, G.; UVEBRANT, P. Gross and fine motor function and accompanying impairments in cerebral palsy. *Developmental Medicine and Child Neurology*, v. 48, n. 6, p. 417-23, 2006. HIMMELMANN, K. Epidemiology of cerebral palsy. *Handbook of Clinical Neurology*, v. 111, p. 163-167, 2013. HUTTON, J. L.; COOKE, T.; PHAROAH, P.O. Life expectancy in children with cerebral palsy. *BMJ (Clinical Research ed.)*, v. 309, n. 6952, p. 431-435, 1994. JAMON, Marc. The early development of motor control in neonate rat. *C. R. Palevol*, v. 5, p. 657-666, 2006. JOHNSTON, M. V.; HOON JR, A. H. Cerebral palsy. *Neuromolecular Medicine*, v. 8, n. 4, p. 435-450, 2006. JONES, M. W.; MORGAN, E.; SHELTON, J. E. Cerebral Palsy: Introduction and Diagnosis (Part I). *Journal of Pediatric Health Care*, v. 21, n. 3, p. 146-152, 2007. KOMAN, L. A.; SMITH, B. P.; SHILT, J. S. Cerebral Palsy. *The Lancet (www.thelancet.com)*, v. 363, p. 1619-1631, 2004. KRIGGER, K. W. Cerebral Palsy: An Overview. *American Family Physician*, v. 73, n. 1, p. 91-100, 2006. MANCINI, M.C.; FIÚZA, P. M.; REBELO, J. M.; MAGALHÃES, L. C.; COELHO, Z. A.; PAIXAO, M. L.; GONTIJO, A. P.; FONSECA, S. T. Comparison of functional activity performance in normally developing children and children with cerebral palsy. *Arquivos de Neuropsiquiatria*, v. 60, n. 2-B, p. 446-452, 2002. MARCUZZO, S., DUTRA, M. F.; STIGGER, F.; NASCIMENTO, P. S.; ILHA, J.; KALIL-GASPAR, P. I.; ACHAVAL, M. Different effects of anoxia and hind-limb immobilization on sensorimotor development and cell numbers in the somatosensory cortex in rats. *Brain & Development*, v. 32, n. 4, p. 323-331, 2010. MOCKFORD, M.; CAULTON, J. M. The pathophysiological basis of weakness in children with cerebral palsy. *Pediatric Physical Therapy*, v. 22, p. 222-233, 2010. REDDIHOUGH, D. S.; COLLINS, K. J. The epidemiology and causes of cerebral palsy. *The Australian Journal of Physiotherapy*, v. 49, n. 1, p. 7-12, 2003. SERDAROGLU, A.; CANSU, A.; OZKAN, S.; TEZCAN, S. Prevalence of cerebral palsy in turkish children between the ages of 2 and 16 years. *Developmental Medicine and Child Neurology*, v. 48, n. 6, p. 413-426, 2006. STRATA, J.; COQ, J. O.; BYL, N.; MERZENICH, M. M. Effects of sensorimotor restriction and anoxia on gait and motor



cortex organization - implications for a rodent model of cerebral palsy. *Neuroscience*, v. 129, n. 1, p. 141-156, 2004.