

Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento
Pós-Graduação em Engenharia Biomédica

LUIS FILIPE KARATANASOV BELONI

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE EQUIPAMENTO PARA ANÁLISE
CINEMÁTICA E SENSORIO-MOTORA DE LESÕES MEDULARES
EXPERIMENTAIS INDUZIDAS EM RATOS**

**DEVELOPMENT AND VALIDATION OF EQUIPMENT FOR KINEMATIC AND
SENSORY-MOTOR ANALYSIS OF EXPERIMENTAL SPINAL INJURY INDUCED
IN RATS**

São José dos Campos

2024

LUIS FILIPE KARATANASOV BELONI

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE EQUIPAMENTO PARA ANÁLISE
CINEMÁTICA E SENSORIO-MOTORA DE LESÕES MEDULARES
EXPERIMENTAIS INDUZIDAS EM RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof Dr. Mário Oliveira Lima

São José dos Campos

2024

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO DA OBRA

Ficha catalográfica

Beloni, Luis Filipe Karatanasov

Desenvolvimento e validação de equipamento para análise cinemática e sensório-motora de lesões medulares experimentais induzidas em ratos / Luis Filipe Karatanasov Beloni; orientadora, Mário Oliveira Lima. - São José dos Campos, SP, 2024.

1 CD-ROM, 72 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

Inclui referências

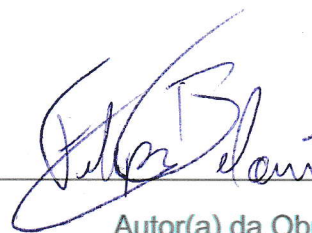
1. Engenharia Biomédica. 2. Lesão medular. 3. Célula de carga. 4. Análise cinemática. I. Lima, Mário Oliveira, orient. II. Universidade do Vale do Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica. III. Título.

Eu, Luis Filipe Karatanasov Beloni, autor(a) da obra acima referenciada:

Autorizo a divulgação total ou parcial da obra impressa, digital ou fixada em outro tipo de mídia, bem como, a sua reprodução total ou parcial, devendo o usuário da reprodução atribuir os créditos ao autor da obra, citando a fonte.

Declaro, para todos os fins e efeitos de direito, que o Trabalho foi elaborado respeitando os princípios da moral e da ética e não violou qualquer direito de propriedade intelectual sob pena de responder civil, criminal, ética e profissionalmente por meus atos.

São José dos Campos, 26 de Março de 2024.



Autor(a) da Obra

Data da defesa: 16 / 02 / 24

LUIS FILIPE KARATANASOV BELONI

**“DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE EQUIPAMENTO PARA ANÁLISE
CINEMÁTICA E SENSORIO-MOTORA DE LESÕES MEDULARES EXPERIMENTAIS
INDUZIDAS EM RATOS.”**

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba - Univap, pela seguinte banca examinadora:

Prof. ^a Dr. ^a Emilia Angela Lo Schiavo Arisawa	<i>Emilia A. Lo S. Arisawa</i>
Prof. Dr. Mário Oliveira Lima	<i>Mário Oliveira Lima</i>
Prof. Dr. Paulo Roberto Garcia Lucareli - Univove	<i>Paulo R. G. Lucareli</i>

Prof.^a Dr.^a Lúcia Vieira

Diretora do IP&D – Univap

São José dos Campos, 16 de fevereiro de 2024.

“Aleluia! Rendei graças ao SENHOR
porque Ele é bom.”

Salmos 106:1

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha esposa Gabriela, que me incentiva, me apoia e acredita em mim o tempo todo.

Aos meus pais José Luis (em memória) e Vanda, por todo investimento e educação dedicados a mim.

Aos meus irmãos por quem eu me empenho e me esforço para ser exemplo.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, porque Ele é meu sustento e minha força.

À **minha esposa**, meu eterno amor e carinho. Se hoje eu estou em pé, é porque tive o suporte de uma grande mulher. Obrigado por ser minha amiga, companheira e auxiliadora. Sem você, esforço algum teria sentido!

À **minha família**, quero agradecer por todo apoio e incentivo. Agradeço por acreditarem em mim, por terem me apoiado e me incentivado. Mãe, muito obrigado por investir em mim e nos meus estudos. Matheus e Rachel, agradeço a admiração e amor de vocês.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Mário Olivera Lima**, por ter sido tão dedicado e atencioso ao me ensinar, por sempre ter acreditado no meu desenvolvimento profissional. Agradeço por sua amizade, confiança, pelos conselhos, pelas repreensões e pelos ensinamentos. Obrigado por torcer por mim.

À **Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP e ao Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento - IP&D**, e a todos os funcionários envolvidos, por possibilitar o meu desenvolvimento profissional, deixo minha gratidão.

A **todos**, que direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho.

Recebam meus mais sinceros agradecimentos e meu carinho por vocês.

RESUMO

Introdução: A lesão medular (LM) é definida como uma lesão na medula espinhal, estrutura responsável pela regulação de inúmeras funções no organismo. Dependendo do nível e grau da LM, observa-se uma perda rápida e devastadora das funções neurológicas das estruturas anatômicas localizadas abaixo do nível da lesão. **Objetivo:** desenvolver e validar um equipamento para análise cinemática e sensório-motora dos movimentos em lesões medulares em ratos. **Metodologia:** Uma caixa de vidro foi confeccionada de forma a servir como um corredor linear onde os grupos de amostras se deslocaram de uma extremidade a outra. Dentro da caixa foi posicionada uma placa de acrílico transparente fixada por cabos de nylon a uma célula de carga. O sistema funciona como uma plataforma suspensa de modo a captar os vetores de força aplicados pelos ratos durante seu deslocamento. A caixa foi apoiada em dois suportes de madeira sobre uma mesa e, abaixo da caixa de vidro foi posicionado um espelho a 45°, de forma a exibir o fundo da caixa de vidro. Uma câmera foi posicionada em frente ao espelho a 50 cm de distância para a captura das imagens das patas dos ratos com o objetivo de poder aferir as distâncias percorridas para cálculo no cálculo do índice funcional ciático (IFC). Os dados foram exportados e pós processados para obtenção de análise gráfica, quantitativa e comparativa dos resultados. Para validar o equipamento, foi utilizado um modelo estatístico de correlação de medidas, e em complemento, foi realizado um ensaio experimental comparando a velocidade média, a força de distribuição de carga e o índice funcional ciático entre dois grupos experimentais de ratos. Um deles recebeu a denominação de grupo Controle (C) e outro grupo, com contusão medular induzida, de grupo Lesão (L). **Resultados:** O equipamento foi capaz de coletar integralmente os vetores de distribuição de força aplicados pelos animais durante a passagem pela plataforma, bem como captar as imagens das patas por meio do espelho e armazenar as informações em logs para pós-processamento dos dados. O equipamento atingiu um índice de erro médio de 0,08 e manteve os pontos de amostras dentro do intervalo de 99,92%. Como resultado do coeficiente de correlação interclasse (ICC) o equipamento atingiu índices 0,967 para força de reação do solo; 0,896 para o índice funcional ciático (IFC) e 0,755 (considerado excelente) para velocidade média. **Discussão:** Após a coleta, armazenamento e pós-processamento dos dados por meio do equipamento proposto desenvolvido nesta pesquisa, foi possível observar um melhor desempenho dos animais do grupo C quando comparados aos do grupo L, nos quesitos: análise cinemática de velocidade média, onde o grupo controle superou em 40% a velocidade atingida pelo grupo lesão; análise sensório-motora por meio da distribuição de carga exercida pelos animais, onde o GC atingiu total acumulado de carga 26% superior ao GL e analisou-se também o índice funcional do ciático, onde o GC obteve melhor desempenho, atingindo três vezes o valor obtido pelo GL. **Conclusão:** Conclui-se que o equipamento desenvolvido foi capaz de captar e armazenar os dados dos parâmetros cinemáticos e sensório-motores. Como validação do equipamento, conclui-se que o grupo Controle apresentou melhor performance em todos os itens avaliados quando comparado ao grupo Lesão.

Palavras-Chave: lesão medular; célula de carga; análise cinemática; índice funcional ciático.

ABSTRACT

Introduction: Spinal cord injury is defined as an injury to the spinal cord, a structure responsible for regulating numerous functions in the body. Depending on the level and degree of the SCI, a quick and devastating loss of neurological functions of anatomical structures located below the level of the lesion is observed. **Objective:** Develop and validate an equipment capable to perform a sensorimotor kinematic analysis of movements in spinal cord injuries in rats. **Methodology:** A glass box will be made to serve as a linear corridor where groups of samples will move through. A transparent acrylic plate will be positioned inside the box, fixed by nylon cables to a load cell. The system will function as a suspended platform in order to capture the force vectors applied by the rats during their movement. The box will be positioned above two wooden supports on a table, and between the two supports below the glass box, a mirror will be positioned at 45° in order to display the bottom of the glass box. A camera will be fixed in front of the mirror 50cm away to capture images of the rats' paws with the aim of making it possible to measure the distances used in calculating the sciatic functional index. The data will be exported and post-processed to obtain graphical, quantitative and comparative analysis of the results. **Results** The equipment was capable of fully collecting the force distribution vectors applied by the animals during their passage through the platform, as well as capturing images of the paws through the mirror and storing the information in logs for post-processing of the data. The equipment achieved an average error rate of 0.08 and maintained sample points within the 99.92% range. As a result of the ICC, the equipment achieved indices of 0.967 for ground reaction force; 0.896 for IFC and 0.755 (considered excellent) for average speed. **Discussion:** After collecting, storing and post-processing the data using the proposed equipment developed in this research, it was possible to observe a better performance of the animals in group C (control) when compared to group L (injury), in the following aspects: kinematic analysis of average speed, where the control group exceeded the speed reached by the injured group by 40%; sensorimotor analysis through the distribution of load exerted by the animals, where the control group achieved a total accumulated load 26% higher than the injury group and the functional index of sciatio was also analyzed, where the control group achieved better performance, reaching three times the value obtained by the injury group. **Conclusion:** It is concluded that the equipment developed in this study was capable of carrying out measurements, capturing and storing the desired information according to the study design. As validation of the equipment, it is concluded that the control group presented better performance in all items evaluated when compared to the injury group.

Keywords: Spinal cord injury; load cells; kinematic analysis; sciatic functional index.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem ilustrativa do modelo BBB de avaliação de função locomotora.....	22
Figura 2. Imagem ilustrativa dos valores de medida do IFC em ratos.	24
Figura 3. Imagem ilustrativa do modelo de avaliação do IFC em ratos.....	26
Figura 4. A. Vista diagonal da disposição da caixa de vidro, apoiada nos suportes de madeira e com o espelho posicionado abaixo. Caixa de vidro em azul, apoios de madeira em cinza e espelho em verde. B. Vista diagonal Inferior da disposição da caixa de vidro, apoiada nos suportes de madeira e com o espelho posicionado abaixo. Caixa de vidro em azul, apoios de madeira em cinza e espelho em verde. C. Vista frontal da disposição da caixa de vidro, apoiada nos suportes de madeira e com o espelho posicionado abaixo. Caixa de vidro em azul, apoios de madeira em cinza e espelho em verde. D. Vista lateral da disposição da caixa de vidro, apoiada nos suportes de madeira e com o espelho posicionado abaixo. Caixa de vidro em azul, apoios de madeira em cinza.....	30
Figura 5. Vista da disposição da caixa de vidro, suportes de madeira e espelho sobre a mesa óptica	31
Figura 6. Vistas da plataforma acrílica com cabos de sustentação. A. Vista frontal. B. Vista lateral. C. Vista superior. D. Vista diagonal. E. Vista diagonal ampliada.	32
Figura 7. A. Fixação da célula de carga na calha suspensa. B. Vista póstero-lateral da fixação da célula de carga e do suporte da placa de processamento. C. Vista diagonal frontal da fixação. D. Vista lateral diagonal da fixação.....	33
Figura 8. Sobre a fixação e disposição da célula de carga e da placa Arduino na calha suspensa da SmartTable. A. Vista frontal. B. Vista anterio-lateral. C. Vista lateral.....	34
Figura 9. Vistas do posicionamento da câmera em relação à mesa e à caixa de vidro. A. Póstero-Lateral Esquerda. B. Póstero-Lateral Direita. C. Vista Lateral.	35
Figura 10: Parâmetros utilizados para marcação da área correta para execução da LM nos animais.....	41
Figura 11: Imagem do campo cirúrgico após a retirada do processo espinhoso, e exposição da medula espinhal (círculo amarelo)	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tabela com valores para cálculo de SEM.	37
Tabela 2: Resultado do cálculo de ICC para FRS, IFC e Velocidade Média.....	38
Tabela 3: Caracterização das amostras compostas por três grupos de ratos do tipo <i>Rattus norvegicus</i> , <i>albinus</i> , Wistar.	45
Tabela 4: Média e desvio padrão da velocidade média (em cm/s) atingida pelos animais de cada grupo.....	45
Tabela 5: Velocidade média (em cm/s) atingida pelos animais do grupo controle por dia de análise de movimento, média e desvio padrão.	45
Tabela 6: Velocidade média (em cm/s) atingida pelos animais do grupo lesão por dia de análise de movimento, média e desvio padrão.	46
Tabela 7: Força de reação do solo (em N) exercida pelos animais de cada grupo assim como seus respectivos valores de média e desvio padrão.	48
Tabela 8: Força de reação do solo (em N) exercida pelos animais de cada conforme o tempo (em s) em que se deslocavam pela plataforma.	49
Tabela 9: FRS (em N) atingido pelos grupos durante os terços avaliados.	52
Tabela 10: Acúmulo de FRS atingido pelos grupos durante as rampas.	53
Tabela 11: IFC dos animais do grupo controle ao longo dos dias de análise.....	54
Tabela 12: IFC dos animais do grupo lesão ao longo dos dias de análise.....	55
Tabela 13: IFC dos grupos ao longo dos dias de análise.....	55

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Dispersão dados por erro padrão médio.....	37
Gráfico 2. Comparativo de Velocidade média entre os grupos ao longo dos dias em que foram realizadas as análises de movimento.	46
Gráfico 3. Diferença de dados interquartil de Velocidade média entre os grupos.	47
Gráfico 4. Comparativo de Velocidade média geral entre os grupos.	47
Gráfico 5. Comparação da distribuição de força de reação do solo ao longo do tempo.	50
Gráfico 6. Comparativo de força de reação do solo entre os grupos por dia.....	51
Gráfico 7. Comparativo de dispersão de força entre os grupos.	51
Gráfico 8. Comparativo dos valores de intervalo interquartil de dispersão de força entre os grupos.	52
Gráfico 9. Distribuição de força do grupo controle e linhas de corte de rampa.	53
Gráfico 10. Distribuição de força do grupo lesão e linhas de corte de rampa.	54
Gráfico 11. Comparativo do IFC entre os grupos ao longo dos dias.....	55
Gráfico 12. Comparativo do IFC entre os grupos.....	56
Gráfico 13. Comparativo dos valores de intervalo interquartil do IFC entre os grupos.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SIGLA	NOME
MA	Membrana amniótica
L	Grupo lesão
IFC	Índice funcional ciático
SNC	Sistema nervoso central
C	Grupo controle
FRS	Força de reação do solo
PL	Print length
TS	Total spread
IT	Intermediate toes
SEM	Standard Error Measurement
ICC	Coefficiente de Correlação Intraclasse

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 JUSTIFICATIVA	17
3 OBJETIVOS	18
3.1 Objetivo Geral	18
3.2 Objetivos Específicos	18
4 REFERENCIAL TEÓRICO	19
4.1 Medula Espinhal	19
4.2 Lesão Medular	19
4.3.1 Análise De Movimento	21
4.3.2 Análise De Marcha	22
4.3.3 Força De Reação Do Solo	23
4.3.4 Índice Funcional Do Ciático	24
5 MATERIAIS E MÉTODOS	29
5.1.1 Local do Desenvolvimento e Montagem	29
5.1.2 Equipamento para Análise Motora e Sensório-Motora	29
5.1.3 Análise do Índice Funcional do Ciático (IFC)	34
6 VALIDAÇÃO	36
6.2 Validação por Meio de ICC	38
6.3.1 Amostras	39
6.3.2 Grupos Experimentais	39
6.3.3 Procedimento Cirúrgico	40
6.4 Análise Estatística	43
7 RESULTADOS	44
7.1 Velocidade Média	44
7.2 Análise Sensório-Motora	47
7.3 Índice Funcional do Ciático	54
8 DISCUSSÃO	57
8.1 Avaliação Cinemática	57
8.2 Avaliação de Função Sensório-Motora	58
8.2.1 Avaliação de Função Locomotora	58
8.2.2 Avaliação do Índice Funcional Ciático	60
9 CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS	63

APÊNDICE I (CEP).....	68
APÊNDICE II – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	69
APÊNDICE III (COMMAND).....	70
APÊNDICE IV (BBB TEST).....	72

1 INTRODUÇÃO

O traumatismo da medula espinhal é uma lesão com graves consequências, sendo algumas delas os altos custos sociais em países desenvolvidos e significativas taxas de mortalidade em países em desenvolvimento (Borbély *et al.*, 2017). A lesão medular (LM) é caracterizada por perda parcial ou total das funções autonômicas, sensoriais e motoras abaixo do nível da lesão, e é causada pela interrupção da condução do sinal neuronal ao longo dos tratos axonais (Veronez *et al.*, 2017).

Essas consequências se devem ao processo inflamatório que pode ocorrer de horas a dias após o trauma, caracterizado por isquemia e edema tecidual, levando à morte celular e a um intenso processo degenerativo no tecido nervoso (Ahuja *et al.*, 2017). Somente após esse período é possível avaliar a extensão da área lesada pela LM e obter o provável prognóstico neuro funcional do indivíduo (James *et al.*, 2018; NeveS *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2018).

Entre as causas mais comuns associadas à LM estão acidentes automobilísticos, ferimentos por arma de fogo, quedas, mergulho em águas rasas ou outros tipos de atividades e esportes, gerando um custo estimado ao longo da vida de cada indivíduo acometido, entre US\$ 1,1 e US\$ 4,6 milhões (Ahuja *et al.*, 2016; Ibrahim *et al.*, 2016).

Para melhor entendimento das consequências motoras da LM, a compreensão dos conceitos de marcha se faz necessária. A marcha pode ser definida como um processo de locomoção, no qual o corpo se desloca de uma posição para outra pelo movimento rítmico e alternado do tronco e das extremidades (Vaughan *et al.*, 1992).

Um tipo de tratamento adequado para lesão medular é aquele que não apenas diminui a extensão da área da lesão, mas também estimula o processo de reparo. Acredita-se que ao receber estímulos externos, o sistema nervoso central (SNC) pode ser ajustado e reorganizado por meio de mecanismos para compensar a perda neuronal e promover, ainda que parcialmente, a restauração das conexões sinápticas remanescentes (McDONALD *et al.*, 1999).

Diversos protocolos de tratamento têm sido aplicados em modelos experimentais de LM com a finalidade de melhorar e/ou restaurar as funções locomotoras. Devido às notáveis semelhanças das estruturas neurológicas, anatômicas e fisiológicas entre humanos e alguns animais, estes têm sido usados

para avaliar o processo de reparo de lesões induzidas no sistema nervoso central, predominantemente as que impossibilitam a locomoção (Zhao *et al.*, 2017).

Uma das maneiras de mensurar, qualificar e quantificar o desempenho dos protocolos de tratamento nas LM é por meio das análises de movimento. Estas, por sua vez, consistem em técnicas não invasivas com alta correlação com as características histológicas que permitem avaliar a eficácia de diferentes protocolos de tratamento por meio do registro de índices cinemáticos dos animais, monitorando seus movimentos, sem danificar os tecidos (Oliveira *et al.*, 2011).

Portanto, índices funcionais, como o Sciatic Functional Index (SFI), associado à análise de imagens cinemáticas, podem constituir avaliações mais fidedignas do resultado funcional do tratamento utilizado sem a necessidade de eutanásia animal e análise histológica dos tecidos (Varejão *et al.*, 2011; Neves *et al.*, 2022).

Os resultados de muitos estudos, bem como o interesse na busca por novos protocolos terapêuticos para o tratamento de LM incentivaram o presente estudo que objetivou desenvolver e validar um equipamento capaz de avaliar por meio das análises e captura dos dados comparando um grupo Controle a um grupo com LM induzida experimentalmente em ratos.

2 JUSTIFICATIVA

As lesões medulares (LM) têm impacto direto na saúde pública, tendo em vista o ambiente hospitalar que é tido frequentemente como a porta de entrada de lesados medulares. A continuidade do atendimento desses portadores de LM ocorre, geralmente, em ambulatórios ou clínicas especializadas, acarretando elevados custos para os cofres públicos, sem contar o impacto direto da lesão medular na qualidade de vida dessa população (Castro *et al.*, 2008; Schoeller *et al.*, 2016).

De acordo com um estudo dos determinantes dos custos no atendimento dos pacientes com lesão medular realizado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP) e publicado em 2023, o custo médio do atendimento hospitalar e ambulatorial por paciente com lesão medular é de aproximadamente R\$ 21.745,00 durante o período de internação, podendo sofrer variações com relação à gravidade da lesão instalada e ao próprio período de internação. O processo de reabilitação corresponde a 23% dos custos do tratamento destes pacientes (Riberto *et al.*, 2023).

Não há muitos estudos nacionais que tentem definir os custos relativos ao programa ambulatorial de reabilitação ou ao manejo das complicações observadas até o final do programa de reabilitação. Dados norte-americanos do National Spinal Cord Injury Statistical Center (NSCISC – Centro Estatístico Nacional de Lesões Medulares) apontam como principais fontes de despesas para cadeirantes nos anos subsequentes à instalação da lesão medular: custos diretos das clínicas de reabilitação, incluindo as avaliações e reavaliações, despesas com órteses e meios de locomoção, cuidado domiciliar, laboratório, radiologia, entre outros. O custo médio de cuidados relacionados à reabilitação desses pacientes é anualmente de US\$21.450,00 (National Spinal Cord Injury Statistical Center, 2022).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver e Validar um Equipamento para Análise Cinemática e Sensório-Motora dos movimentos em Lesões Medulares em ratos.

3.2 Objetivos Específicos

- Em primeiro lugar, validar o equipamento desenvolvido por meio estatístico do Erro padrão médio e do Coeficiente de Correlação Interclasse (ICC)
- Validar o equipamento desenvolvido através da análise comparativa entre o grupo Controle e o grupo Lesão quanto a análise cinemática, distribuição de força e índice funcional do ciático dos membros afetados;

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Medula Espinhal

A coluna vertebral é uma estrutura anatômica que tem como funções sustentar o tronco e proteger a medula espinhal bem como as raízes nervosas. É composta por vértebras que se diferenciam em estrutura e função, estendendo-se desde o forame magno até a primeira vértebra lombar (Moore; Agur; Daley, 2014).

A medula espinhal tem um formato tubular, onde é possível observar, macroscopicamente, duas áreas de coloração distinta denominadas de substância cinzenta, em formato helicoidal situada na porção central medula espinhal, e substância branca, que contorna a substância cinzenta (Schoeller *et al.*, 2016). A substância branca é menos corada e tem aspecto rendilhado por apresentar maior quantidade de fibras mielinizadas. A mielina, que recobre os axônios, é uma mistura de lipídios complexos de coloração esbranquiçada (Moore; Agur; Daley, 2014).

Por sua vez, os corpos celulares dos neurônios estão organizados na substância cinzenta em núcleos com funções específicas, que se estendem ao longo de todo o comprimento da medula, formando o sistema eferente, que controla as funções motoras dos músculos, enquanto o sistema aferente, transporta sinalização sensorial das extremidades do corpo até a medula espinhal e, conseqüentemente, até o cérebro (Moore; Agur; Daley, 2014; Schoeller *et al.*, 2016).

4.2 Lesão Medular

A lesão medular (LM) é definida como uma lesão na medula espinhal, estrutura responsável pela regulação de inúmeras funções no organismo. Dependendo do nível e grau da LM, observa-se uma perda rápida e devastadora das funções neurológicas das estruturas anatômicas localizadas abaixo do nível da lesão. Atualmente, o processo de recuperação de LM é limitado e pouco funcional (Ahuija *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2018).

O aumento significativo da prevalência de lesões medulares (LM) em todo o mundo, associado à ausência de protocolos de tratamento eficazes, constitui um desafio de saúde pública. Números aproximados indicam a existência de 2,5 milhões de pessoas com LM (Winter *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2018).

A lesão primária ocorre com o evento traumático inicial, que produz uma ruptura mecânica imediata e deslocamento da coluna vertebral, que provoca compressão ou transecção da medula espinhal (Ahuija *et al.*, 2016). Nesta região do dano ocorre também uma ruptura de meninges, hemorragia e morte maciça de neurônios, oligodendrócitos e astrócitos. Juntos, esses eventos iniciam imediatamente uma cascata de lesões secundárias, que ciclicamente produz a morte de neurônios e células gliais, isquemia e inflamação, e leva a maiores danos à medula espinhal e disfunção neurológica (Horky *et al.*, 2006; Thuret *et al.*, 2006).

A perda de função motora abaixo do local de lesão, resulta em paraplegia, paraparesia ou tetraparesia dependendo do nível da lesão. Outros sintomas incluem perda da função sexual, da bexiga e do intestino, dor crônica e disreflexia autonômica, entre outras consequências, prejudicando gravemente a qualidade de vida (Thuret *et al.*, 2006). Em seres humanos, a LM é quase irreversível devido à pouca capacidade regenerativa que os mamíferos apresentam (Lee-Liu *et al.*, 2013). Embora o sistema nervoso central tenha alguma capacidade regenerativa, a formação da cicatriz glial dificulta o crescimento axonal e dos vasos sanguíneos (Lee-Liu *et al.*, 2013; Khankan *et al.*, 2015). Como nenhum método eficaz foi desenvolvido ainda para restaurar a irreversibilidade deste tipo de lesão, o estudo da regeneração da medula espinhal torna-se relevante (Lee-Liu *et al.*, 2013).

O comprometimento dos órgãos responsáveis pela regulação das funções circulatória, respiratória, excretora, sexual e térmica implica em prejuízo na transmissão de estímulos motores e sensoriais entre a periferia e o cérebro (James *et al.*, 2018; Neves *et al.*, 2022). As alterações que ocorrem no microambiente tecidual após a lesão medular prejudicam e dificultam o processo de regeneração axonal, resultando em uma recuperação limitada e de pouca funcionalidade. A LM está ligada à perda completa dos sinais motores e sensoriais, resultando em postura e deambulação alteradas, e a recuperação da marcha é um dentre os principais objetivos na reabilitação desses pacientes (Ahuija *et al.*, 2017; Nas *et al.*, 2015).

4.3 Métodos De Avaliação

4.3.1 Análise De Movimento

De acordo com Claude *et al.* (2015) e Morita *et al.*, (2016). a função motora em ratos após indução de lesão medular tem sido amplamente avaliada e estudada por meio de sistemas de questionário e pontuação. As escalas de avaliação de função motora são baseadas na observação dos movimentos dos membros e em um padrão de passos coordenados. As avaliações feitas por escores tiveram início com o modelo criado pelo neurocientista Isadore Tarlov, denominado “Tarlov Open-Field Test”, onde os ratos eram avaliados por seu comportamento natural movimentando-se livremente em um campo aberto. Esse modelo foi sendo revisado e aprimorado ao longo dos anos com novas escalas e itens de avaliação motora.

Atualmente o modelo mais utilizado é o BBB Test (Basso, Beattie and Bresnahan Test) onde os animais podem mover-se livremente em um campo aberto que consiste em uma arena circular feita de plástico com aproximadamente 90 cm de diâmetro com paredes de 10 cm de altura. Dois examinadores independentes estudam a capacidade locomotora do rato durante 4 minutos consecutivos, e a partir de então, são capazes de atribuir pontos de acordo com os itens estipulados e alcançados pelos ratos. São avaliados: Combinação de movimentos do membro posterior do rato, posição e estabilidade do tronco, pisada, coordenação, posicionamento da pata no solo, espaçamento entre os dedos dos pés e posição da cauda. A pontuação obedece a uma variação entre 0 e 21, onde 0 pontos prediz perda total da função motora, enquanto 21 pontos indicam preservação total da função motora (Basso *et al.*, 1996).

Figura 1. Imagem ilustrativa do modelo BBB de avaliação de função locomotora.



Fonte: DIOGO et al., 2019.

Apesar do BBB Test ser um método bastante utilizado para avaliação locomotora e apresentar modelos matemáticos que minimizem os fatores de erro, existe intrinsecamente a subjetividade do avaliador.

4.3.2 Análise De Marcha

A marcha pode ser definida como um processo de locomoção, no qual o corpo se desloca de uma posição para outra pelo movimento rítmico e alternado do tronco e das extremidades. Os mecanismos de locomoção ocorrem nos centros supraespinhais e envolvem a conversão de uma intenção de movimento em um padrão de atividade muscular necessária para a realização da marcha. Essa interação ocorre entre o sistema nervoso central, o sistema nervoso periférico e o sistema musculoesquelético efetor (Vaughan *et al.*, 1992).

Alguns dentre os eventos necessários para a ocorrência da marcha são: o registro e ativação do comando de marcha no sistema nervoso central (SNC); transmissão dos sinais de marcha ao sistema nervoso periférico; contração dos músculos que produzem tensão; geração de forças e momentos nas articulações sinoviais e geração de forças de reação do solo (Lai *et al.*, 2018).

O modelo de causa e efeito considera a marcha como um processo de coordenação neural e colaboração dos sistemas nervoso e musculoesquelético para alcançar uma dinâmica correta, com manutenção do equilíbrio corporal em uma pequena base de suporte. Esse modelo de locomoção pode ser empregado para

identificar patologias e determinar métodos de tratamento, auxiliando no processo de tomada de decisão (Vaughan *et al.*, 1992; Lai *et al.*, 2018).

O ciclo normal de marcha é dividido em duas fases: apoio e balanço. A fase de apoio inicia-se no instante em que uma extremidade entra em contato com o solo e termina quando o pé deixa o solo. Esta fase corresponde a aproximadamente 60% do ciclo de locomoção (Abernethy *et al.*, 2015). Durante a fase de apoio, o peso corporal atua sobre o pé de suporte, gerando forças verticais, horizontais e rotatórias de reação do solo. A força de reação do solo (FRS) é uma força que atua do solo para o corpo que está em contato, representando uma resposta às ações musculares e ao peso corporal transmitido por meio dos pés. A FRS tem a mesma magnitude e direção, mas sentido oposto à força que o corpo exerce na superfície do solo, obedecendo, portanto, à terceira lei de Newton (Muniz *et al.*, 2010; Muniz *et al.*, 2006).

4.3.3 Força De Reação Do Solo

Uma outra maneira de se mensurar o movimento de marcha é pela da análise da resultante entre as forças de ação de descarga de peso dos membros inferiores contra o solo em conjunto com a ação da gravidade, e da força de reação do solo FRS (ou força normal), sendo esta comumente estudada nas análises de locomoção (Barela *et al.*, 2011; Ortiz *et al.*, 2016).

A força de reação do solo (FRS) é uma variável que contém informações quantitativas das características da marcha, as quais refletem os efeitos das forças internas e externas durante a locomoção, possibilitando a identificação de alterações no padrão de movimento (Ortiz *et al.*, 2016).

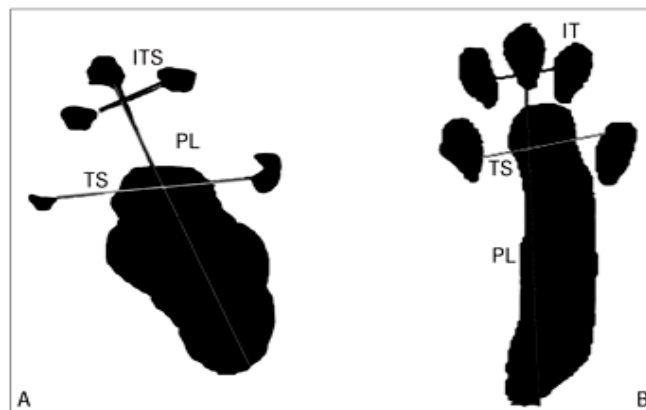
O componente vertical da força de reação do solo (FRS) é decorrente do peso corporal e de qualquer aceleração ou desaceleração que atue no corpo. Esse componente é necessário para se contrapor à ação da gravidade, para manter a altura do centro de massa acima da superfície de contato. Uma característica do componente vertical da força de reação do solo é a presença de dois momentos de pico de força aplicada. O primeiro momento de pico de força aplicada, pode ser observado durante a primeira metade do período de apoio, no momento em que o membro inferior está recebendo o peso corporal, logo após o contato com o solo. O segundo pico pode ser observado no final do período de apoio e representa a propulsão do antepé à frente, para iniciar o próximo passo. Esse pico é ativo,

envolvendo a participação de ações voluntárias (Muniz *et al.*, 2009; Begg *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2008).

4.3.4 Índice Funcional Do Ciático

O Índice Funcional do Ciático (IFC) é outra medida que permite avaliar a condição sensório-motora de amostras submetidas a lesão medular induzida e tem como método a relação entre as medidas da extremidade distal do 3º dedo e o calcanhar, denominada Print Length (PL), da extremidade distal do 1º e do 5º dedo, denominada Total Spread (TS) e da extremidade distal do 2º e do 4º dedo, denominada Intermediate Toes (IT). Esses valores são inseridos como variáveis em um modelo matemático que resulta em um índice. Este índice respeita uma faixa de variação entre -100 e 0 (zero), onde valores menores que -100 representam perda total de função motora, valores entre -100 e 0 (zero), representam perda ou recuperação parcial da função motora e valores acima de 0 (zero) representam função motora preservada (Marcolino *et al.*, 2010).

Figura 2. Imagem ilustrativa dos valores de medida do IFC em ratos.



Fonte: Reis, 2008.

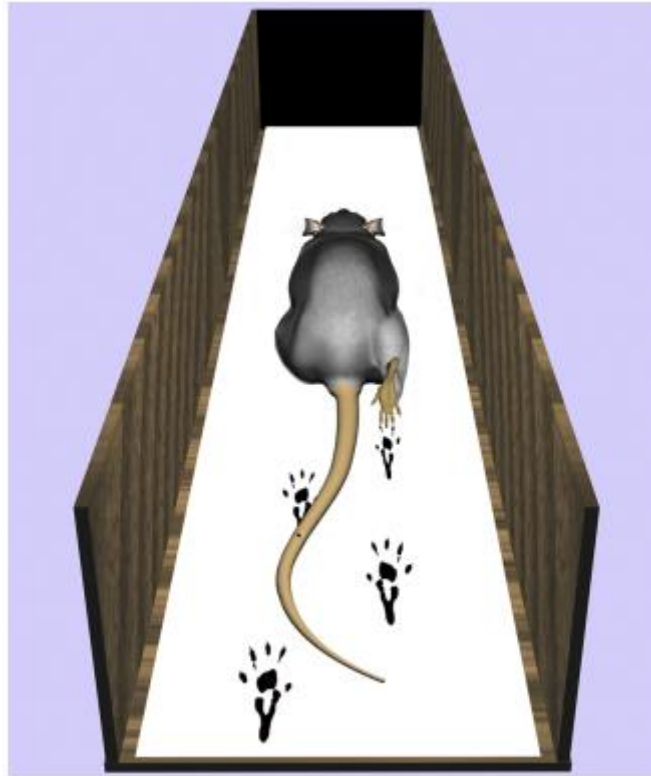
O IFC vem sendo amplamente utilizado no estudo da função sensório-motora pois permite quantificar o processo de reabilitação neuronal após lesão medular traumática. De acordo com Freitas (2004) uma lesão em nível medular provoca, dependendo de sua localização (ou seu nível) anatômica, espasticidade causada por brotamento axonal. O que sugere uma alteração da propriedade viscoelástica e uma

tensão estabelecida na contração reflexa da musculatura gerando assim um padrão flexor involuntário (Freitas, 2004).

É possível notar esse padrão pelo distanciamento das extremidades dos dedos das patas das amostras analisadas, por meio de capturas impressas. Esse método é realizado aplicando-se tinta nas patas dos animais, e posicionando-os em uma caixa com formato de um corredor artificial montado de forma a conduzir os animais em um deslocamento retilíneo uniforme.

Ao longo de toda a superfície inferior interna deste corredor, é posicionado um rolo de papel branco, de modo a absorver a tinta depositada pelas patas das amostras a medida em que estes se deslocam pelo corredor, sugerindo um efeito similar ao de um carimbo. De acordo com Metz *et al.* (2010) este método gera algumas dúvidas quanto à sua precisão, pois o comportamento dos ratos é influenciado por fatores motivacionais e pela velocidade em que se deslocam. Ainda assim, serve como um bom complemento se analisado em conjunto com outros fatores, como por exemplo uma análise sensório-motora e uma análise cinemática (Metz *et al.*, 2010).

Figura 3. Imagem ilustrativa do modelo de avaliação do IFC em ratos.



Fonte: Diogo *et al.*, 2019.

O modelo matemático utilizado para se obter o IFC é dado por meio da fórmula representada abaixo:

$$SFI = -38.3 \times \frac{EPL - NPL}{NPL} + 109.5 \times \frac{ETS - NTS}{NTS} + 13.3 \times \frac{EIT - NIT}{NIT} - 8.8$$

4.4 Reabilitação

A busca por novos e mais eficazes protocolos para o tratamento da LM desencadeou o desenvolvimento de novas pesquisas considerando as alterações histopatológicas, bioquímicas e funcionais identificadas no tecido nervoso. Essas novas estratégias visam aumentar as possibilidades de controle da lesão secundária, bem como favorecer a regeneração da medula espinhal e o crescimento neuronal (Rouanet *et al.*, 2017).

A medicina regenerativa vem buscando novos protocolos terapêuticos, incluindo anti-inflamatórios não esteroidais, fisioterapia, injeções de corticosteroides,

terapia por ondas de choque, cirurgia e, atualmente, o uso de biomateriais (BM) e fotobiomodulação (PBM) (Zeman *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2017).

4.5 Protocolos de Tratamento

Estudos referentes à busca por novos protocolos de tratamento relacionados à LMs têm evoluído, observando-se uma grande variedade de opções, tais como:

- **Medicamentos anti-inflamatórios não esteroidais** (Hayta; Elden, 2018):

Houve progresso no desenvolvimento de estratégias de intervenção de dano secundário limitante, contribuindo para o surgimento/regeneração de fibras e melhoria da recuperação funcional.

- **Fisioterapia** (Scandola *et al.*, 2019):

Os resultados indicam que a fisioterapia melhora a relação entre os aspectos sensório-motor e visual do corpo, ou seja, isso sugere que as funções podem ser parcialmente restauradas em função da fisioterapia.

- **Injeções de corticosteroide** (Cass, 2003):

Foram obtidos bons resultados após 8 horas da lesão, no entanto, decorridas 23 horas, foi considerado como protocolo de tratamento clinicamente fraco.

- **Terapia de ondas de choque** (Shin *et al.*, 2018):

O artigo sugere que o tratamento por ondas de choque induz ativação de células-tronco neurais endógenas na fase crônica da LM e promove consequente melhoria funcional.

- **Cirurgias** (Bendella *et al.*, 2018):

Técnicas cirúrgicas foram desenvolvidas para unir o local da lesão medular e unir as porções supralesionais intactas da medula espinhal aos nervos periféricos (nervos espinais, nervos intercostais) e músculos.

Contudo, uma consequência dessas técnicas é o aumento da hipersensibilidade, espasticidade e dor nos pacientes com lesão da medula espinhal,

que ocorrem devido ao brotamento vigoroso das fibras sensoriais aferentes feridas após a cirurgia reconstrutiva.

- **Biomateriais** (Dumont *et al.*, 2019):

Existem vários biomateriais que podem ser utilizados, dentre eles implantação de tubos de hidrogel, que aumentam a recuperação funcional. Esse conjunto modular de tubos porosos preenche a região do defeito e orienta o crescimento do tecido podendo ser estendido para além da lesão medular a outros tecidos, como tecido vascular ou musculoesquelético.

- **Aplicação de fator de crescimento e de células tronco** (Feitosa, 2011):

Os autores relataram que a terapia com células-tronco na lesão medular pode ser benéfica, no entanto ainda não representam uma cura definitiva para as lesões medulares crônicas.

- **Fotobiomodulação** (Paula, 2011; Carvalho *et al.*, 2015; Veronez *et al.*, 2017; Shuaib; Bourisly, 2018):

Os estudos apresentam resultados benéficos, contudo, existem diversos estudos com padrões diferentes, o que dificulta a sua comparação.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Desenvolvimento e Montagem do Equipamento

5.1.1 Local do Desenvolvimento e Montagem

O equipamento foi desenvolvido nos laboratórios de Engenharia de Reabilitação Sensório-Motora do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IPD) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), e Laboratório Multiusuário da Faculdade de Engenharia, Arquitetura e Urbanismo (FEAU) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP)

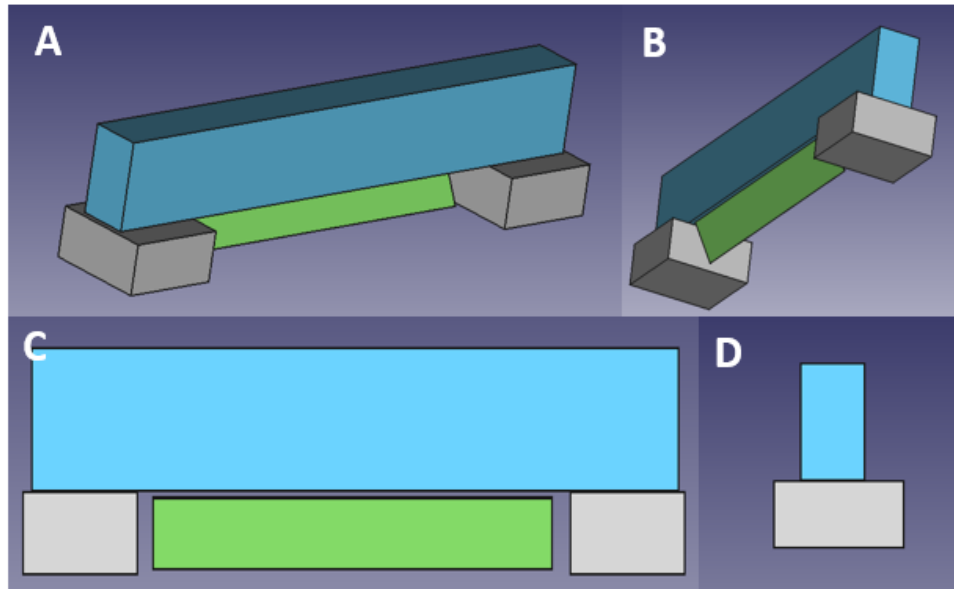
5.1.2 Equipamento para Análise Motora e Sensório-Motora

Para realização desta análise, foi desenvolvido um protocolo que utiliza a mensuração de velocidade média e FRS associando o desempenho da marcha ao índice funcional do ciático (IFC) de cada um dos animais.

Para tanto, foi utilizada caixa horizontal de vidro transparente horizontal com espessura de 5 mm medindo 113,7 cm de comprimento; 10,4 cm de largura e 17,5 cm de altura (medidas internas), que possui em uma de suas extremidades compartimento cúbico feito de madeira tipo MDF (3 mm) servindo como abrigo com dimensões 16 cm x 10 cm x 20 cm para onde os animais se moveriam. Esta caixa de vidro esteve apoiada sobre duas superfícies cúbicas, com dimensões 20 cm x 21 cm x 10 cm feitas de madeira tipo MDF (15 mm) deixando livre a parte central. O sistema de análise foi montado em cima de uma mesa óptica Newport® SmartTable ST séries, modelo I-2000 com 120 cm de largura, 300 cm de comprimento e 20 cm de altura de plataforma. A mesa possui regulagem de altura nos suportes que foi fixada em 68 cm deixando toda a superfície da mesa a 88 cm de altura do solo. Abaixo da caixa de vidro foi posicionada uma placa de espelho medindo 70 cm x 10 cm com espessura de 2 mm, presa em dois suportes de madeira tipo MDF (2 mm) confeccionados em formato triangular de 45°, a fim de refletir a superfície inferior da caixa de vidro para uma câmera digital direcionada para seu centro, permitindo o registro das imagens das pegadas dos animais a partir do plano inferior, para posterior processamento e

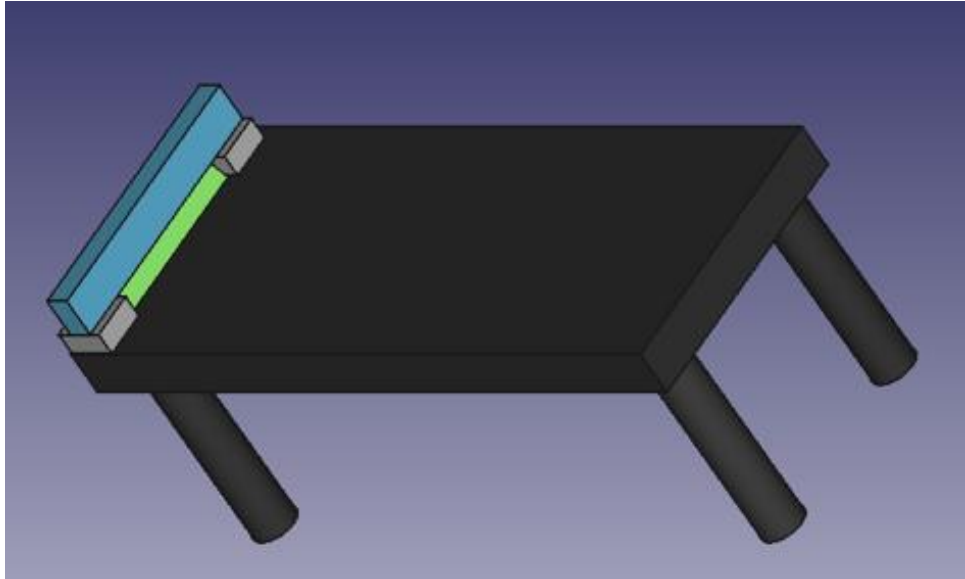
análise do IFC, conforme realizado por Souza *et al* (2015). O posicionamento das caixas de suporte de madeira respeitou a distância de 4cm contados a partir da borda lateral da superfície da mesa, e 2,5 cm da borda frontal e pode ser visto conforme nas figuras 4 e 5.

Figura 4. **A.** Vista diagonal da disposição da caixa de vidro, apoiada nos suportes de madeira e com o espelho posicionado abaixo. Caixa de vidro em azul, apoios de madeira em cinza e espelho em verde. **B.** Vista diagonal Inferior da disposição da caixa de vidro, apoiada nos suportes de madeira e com o espelho posicionado abaixo. Caixa de vidro em azul, apoios de madeira em cinza e espelho em verde. **C.** Vista frontal da disposição da caixa de vidro, apoiada nos suportes de madeira e com o espelho posicionado abaixo. Caixa de vidro em azul, apoios de madeira em cinza e espelho em verde. **D.** Vista lateral da disposição da caixa de vidro, apoiada nos suportes de madeira e com o espelho posicionado abaixo. Caixa de vidro em azul, apoios de madeira em cinza.



Fonte: Autor

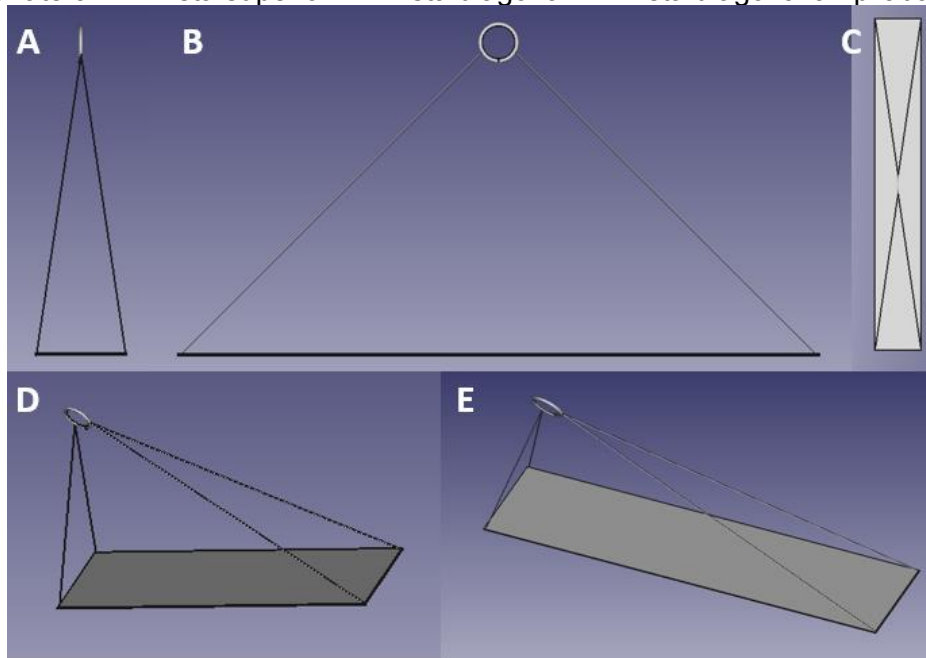
Figura 5. Vista da disposição da caixa de vidro, suportes de madeira e espelho sobre a mesa óptica



Fonte: Autor

Para a análise sensorial-motora, foi desenvolvido um dispositivo de aferição de força na forma de uma ponte suspensa quadrangular, medindo 70 cm de comprimento; 10 cm de largura e com espessura de 5 mm, de material acrílico translúcido com as seguintes especificações: fator de transmissão luminosa de 92,5%; translucidez igual a 97% e índice de refração igual a 1,4528; densidade de 1,19 g/cm³; resistência de tração igual a 630 kgf/cm²; resistência de flexão igual a 1120 kgf/cm²; resistência a impacto igual a 1,81 kgf.cm/cm, segundo datasheet enviado pelo fabricante BelMetal©. A placa acrílica foi suspensa por 4 cabos de fio de nylon de poliamida com diâmetro de 0,26 mm, da marca Action©, com resistência de 4,9 kg. Um único cabo foi transpassado por furações, de 2mm feitas nos quatro cantos da placa acrílica, com o objetivo de distribuir a carga suportada de maneira igualitária, de modo a manter um único vetor resultante de forças agindo sobre o sistema. O sistema de cabos teve início e fim em um único ponto preso a uma célula de carga fixada e posicionada na superfície inferior da calha fixa da Smart Table (Figura 6).

Figura 6. Vistas da plataforma acrílica com cabos de sustentação. **A.** Vista frontal. **B.** Vista lateral. **C.** Vista superior. **D.** Vista diagonal. **E.** Vista diagonal ampliada.



Fonte: Autor

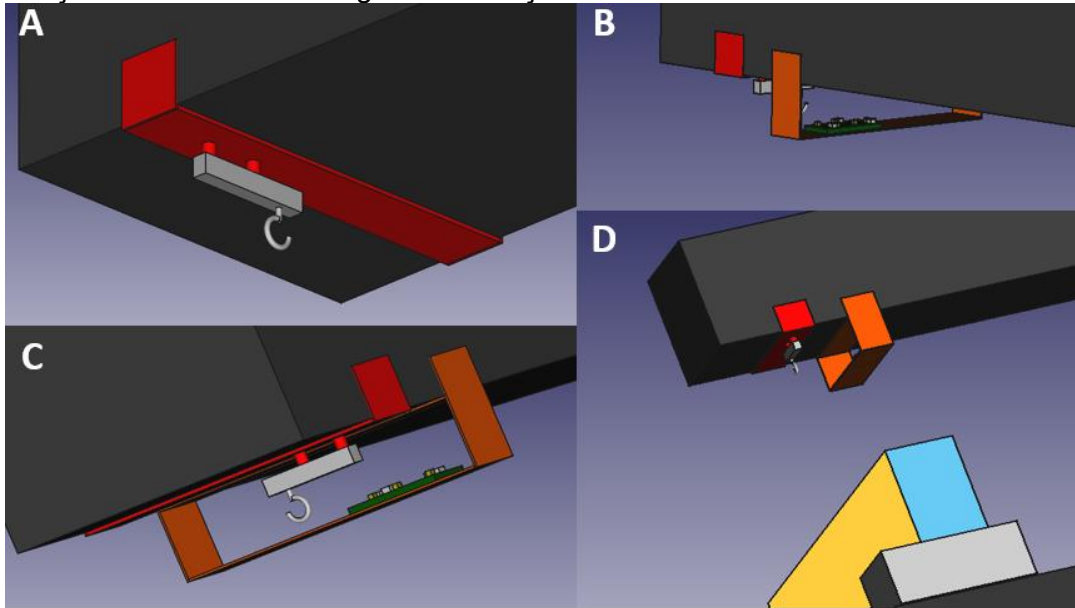
O suporte para a célula de carga e a placa Arduino com os componentes eletrônicos foi confeccionado em impressão 3D utilizando o filamento de Ácido Poliáctico (Polímero PLA), com as dimensões dedicadas ao tamanho da célula de carga e da placa arduino, sendo duas peças retangulares em formato de “U” medindo 14,5 cm x 3 cm x 3 cm, com dois espaçadores para suportar parafusos de furação tipo milímetro M4 onde se permitiu fixar a célula de carga e a placa.

A célula de carga utilizada na confecção da plataforma foi o modelo GL-HX711, com sensibilidade de até 1000g de carga medida, classe de precisão C3 com suporte para até 3000 divisões, intervalo mínimo de medição de 0,05g, e Grau de proteção IP65 e EMC (compatibilidade eletromagnética) em conformidade com os regulamentos da CE, Proteção inteligente contra sobrecarga até 10 vezes sua capacidade e faixa de operação térmica com variação de temperaturas entre -10°C e 50 °C, conforme descrição do fabricante HBM (subdivisão da HBK Company®). Utilizou-se a placa tipo Arduino, modelo HX711 24 bits, que acompanha o modelo da célula de carga utilizada para registro e processamento de dados.

Este sistema (célula de carga e placa Arduino©) foi fixado em uma calha suspensa acima da Smart Table. Nessa calha, usualmente são encontrados os sistemas de iluminação, cabeamento e extensões de energia da Smart Table. A

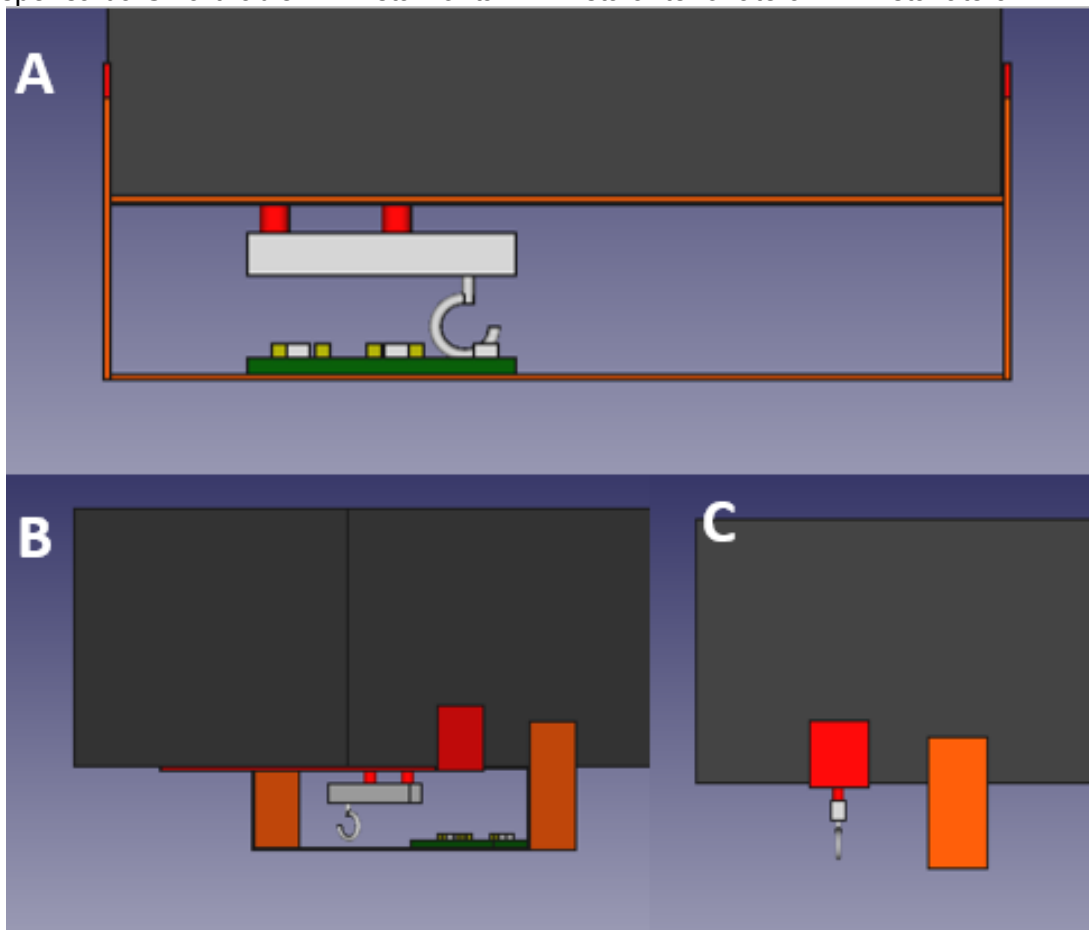
escolha por fixar o sistema na calha foi feita devido a distância entre a calha e a superfície da mesa e pelo fato de a fixação da calha no teto apresentar resistência o suficiente para gerar estabilidade ao sistema de ponte suspensa presa a célula de carga. A demonstração da disposição pode ser observada nas figuras 7 e 8.

Figura 7. **A.** Fixação da célula de carga na calha suspensa. **B.** Vista póstero-lateral da fixação da célula de carga e do suporte da placa de processamento. **C.** Vista diagonal frontal da fixação. **D.** Vista lateral diagonal da fixação



Fonte: Autor

Figura 8. Sobre a fixação e disposição da célula de carga e da placa Arduino na calha suspensa da SmartTable. **A.** Vista frontal. **B.** Vista anterio-lateral. **C.** Vista lateral.



Fonte: Autor

A transferência de dados entre o sistema de coleta e o sistema de pós-processamento foi realizada por um cabo USB-C que conectava o core da placa Arduino a um notebook, posicionado também na superfície da SmartTable. Esses dados foram exportados em formato TXT para análise feita no software MATLAB®, onde foi calculado o coeficiente linear entre a trajetória (em centímetros) e o tempo de deslocamento (em segundos), calculados os IFCs de cada grupo e plotado o gráfico de distribuição de força (FRS).

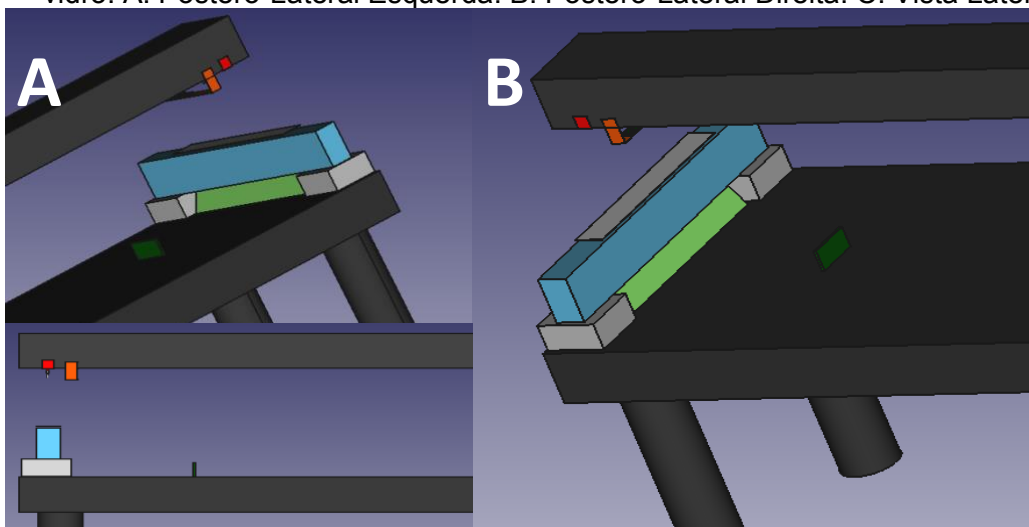
5.1.3 Análise do Índice Funcional do Ciático (IFC)

As imagens de vídeo da superfície inferior da caixa de vidro foram captadas por uma câmera digital de um dispositivo celular ASUS® modelo ZenFone MAX Shot M2 com definição de 12 Mp e resolução de 4000 x 3000 pixels com abertura de lente tipo F1,8 e estabilização digital. Após a captura das imagens, estas foram transferidas para

o computador por meio de cabos tipo USB apropriados e importadas para captura dos “quadros isolados” (frames) das fases da marcha utilizando o software Microsoft® Windows® Movie Maker, Versão 5.1, para posterior mensuração do IFC, seguindo estudo de Franco *et al.* (2011). Os frames foram salvos e exportados para o programa Image J (Versão 1.48, National Institute of Health) para cálculo dos parâmetros EPL (comprimento experimental da pata - distância entre o calcanhar e o 3º dedo), NPL (comprimento normal da pata - distância entre o calcanhar e o 3º dedo), ETS (distância entre o 1º e 5º dedo da pata experimental), NTS (distância entre o 1º e 5º dedo da pata normal), EIT (distância entre o 2º e o 4º dedo da pata experimental), NIT (distância entre o 2º e 4º dedo da pata normal), todos durante a fase de apoio imediato da pata. Em seguida, esses valores foram inseridos na Equação do IFC, apresentada abaixo, para cálculo da função. Os valores positivos (acima de zero) caracterizam a função motora preservada / recuperada. Os valores de SFI abaixo de zero mostram comprometimento funcional, e perto de -100 (menos cem) representam perda funcional total (Franco *et al.*, 2011; Paula *et al.*, 2014).

O desenho modelo da disposição final do equipamento montado pode ser observado conforme figura 9.

Figura 9. Vistas do posicionamento da câmera em relação à mesa e à caixa de vidro. A. Pósterio-Lateral Esquerda. B. Pósterio-Lateral Direita. C. Vista Lateral.



Fonte: Autor.

Equação de Índice Funcional do Ciático:

$$\text{IFC} = - 38.3 \left(\frac{\text{EPL} - \text{NPL}}{\text{NPL}} \right) + 109.5 \left(\frac{\text{ETS} - \text{NTS}}{\text{NTS}} \right) + 13.3 \left(\frac{\text{EIT} - \text{NIT}}{\text{NIT}} \right) - 8.8$$

6 VALIDAÇÃO

Para validação do equipamento foi desenvolvido um modelo matemático capaz de mensurar e quantificar a erro padrão médio e foi utilizado o Coeficiente de Correlação Interclasse (ICC) conforme demonstrado a seguir.

6.1 Validação por meio Cálculo de Erro Padrão Médio

Se realizadas medições da mesma variável clínica, espera-se que essas medições mostrem alguma variabilidade. Isso pode ocorrer porque o processo de medição é imperfeito, ou depende exatamente de como o teste é realizado.

A compreensão da variabilidade associada a uma medição pode ser muito importante na tomada de decisões clínicas. Sabendo que a variabilidade da medição é baixa, pode-se entender que o comportamento da amostra foi muito semelhante quando comparados entre si. A medida de variabilidade mais simples e muitas vezes mais apropriada é o erro padrão de medição (SEM). Baker ([2016]) em seu artigo sugere que seja calculado como uma derivada da correlação intraclasse coeficiente (ICC).

Para melhor exemplificar o SEM parte-se do princípio de que um estudo de repetibilidade balanceado foi realizado. Um estudo equilibrado é aquele em que o mesmo número de medições foi feito em cada amostra. Para calcular o SEM é preciso organizar as medições em colunas e calcular o desvio padrão. Tem-se então que os valores médios de duas amostras são diferentes. A partir daí, obtém-se dois desvios padrão diferentes dentro do mesmo rol de medidas, e é necessário decidir como combiná-los resultar em um SEM geral. Para tanto, calcula-se a raiz média quadrada.

O cálculo de SEM respeita a fórmula demonstrada abaixo.

$$SEM = \sqrt{(DPAM2^2 + DPAM3^2 + DPAM4^2 + DPAM5^2 + DPAM6^2) / 5}$$

O número de medidas e/ou de amostras pode ser modificado conforme o estudo, e portanto, este formato pode ser usado para calcular o SEM de qualquer estudo de repetibilidade balanceado. Para calcular o SEM do presente estudo foram utilizados valores amostrais das médias de 5 amostras do grupo controle, num

intervalo de 15 dias (Dia 0 e Dia 14) entre a primeira e a segunda série de medições, conforme ilustrado na tabela 1 abaixo.

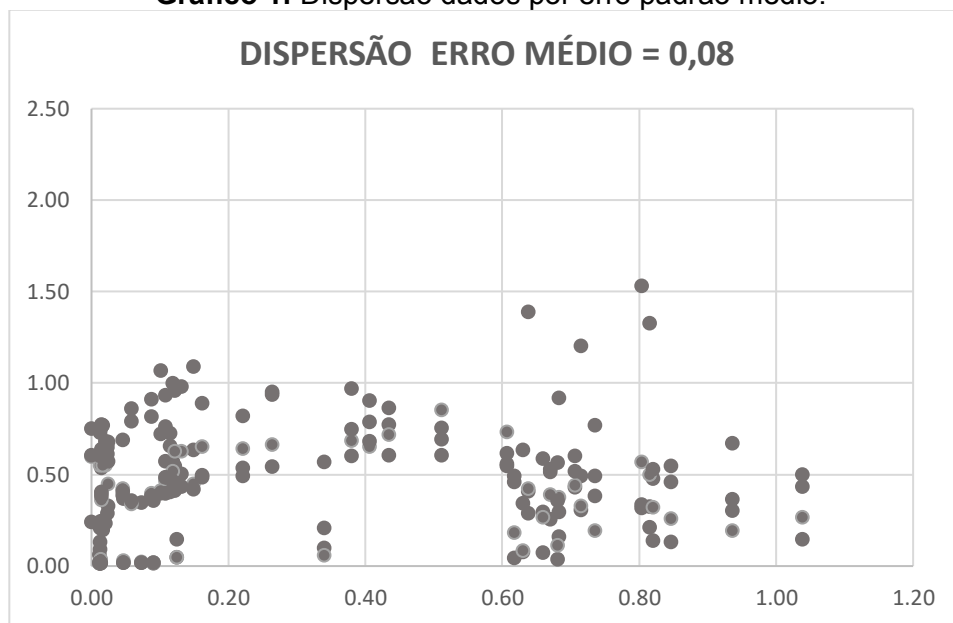
Tabela 1: Tabela com valores para cálculo de SEM.

	DIA 0	DIA 14	MÉDIA	D.P.
ANIMAL 2	0,59	0,36	0,47	0,11583166
ANIMAL 3	0,70	0,42	0,56	0,141889881
ANIMAL 4	0,38	0,30	0,34	0,038649724
ANIMAL 5	0,48	0,47	0,47	0,005013984
ANIMAL 6	0,39	0,40	0,40	0,004315504
				0,061140151
SEM	0,08			

Fonte: Autor

A partir destes dados foi possível plotar um gráfico de dispersão de medidas que afirma o comportamento amostral dentro do range calculado.

Gráfico 1: Dispersão dados por erro padrão médio.



Fonte: Autor

6.2 Validação por Meio de ICC

O coeficiente de correlação interclasse (ICC) é uma ferramenta estatística utilizada para mensuração da confiabilidade de medidas. É adequado para avaliar a homogeneidade de duas ou mais medidas e é interpretado como a proporção de variabilidade total atribuída ao objeto medido (Shrout; Fleiss, 1979).

O ICC pode ser utilizado em diversas áreas de conhecimento e teve suas primeiras implementações para medir a homogeneidade da herdabilidade. Outra aplicação do ICC é a capacidade de mensurar a precisão de equipamentos, conforme descrito por LUFT *et al.* em 2008, sendo esta, a maneira estatística definida para validação do equipamento desenvolvido no presente estudo.

O modelo estatístico ICC foi aplicado em todos os parâmetros avaliados, ou seja, a força de reação do solo (FRS) o índice funcional ciático (IFC) e a velocidade média, conforme supracitado. Conforme o estudo de Cicchetti em 1994, os valores interpretativos para o ICC são dispostos da seguinte forma:

- Menor que 0,40—ruim.
- Entre 0,40 e 0,59—regular.
- Entre 0,60 e 0,74—bom.
- Entre 0,75 e 1,00—excelente

Os parâmetros FRS e Velocidade Média atingiram respectivamente 0,967 e 0,778 e o IFC atingiu o valor de 0,896 tendo então uma excelente correlação de precisão de medidas, conforme demonstrado na tabela 2.

Para a realização dos cálculos estatísticos de ICC foi utilizado o software SPSS Statistics© da empresa IBM© versão 29.0.1; neste modelo, os efeitos mistos bidirecionais dos avaliadores são aleatórios e o das medidas é fixo. As tabelas e gráficos foram feitos no Microsoft Excel 2016©.

Tabela 2: Resultado do cálculo de ICC para FRS, IFC e Velocidade Média

VALIDAÇÃO POR MEIO DE ICC	
FRS	0,967
IFC	0,896
Velocidade	0,778

Fonte: Autor

6.3 Validação por meio do Ensaio Clínico

A validação do equipamento também foi feita por meio de um ensaio clínico experimental onde o equipamento foi posto à prova em um ambiente real de aplicação. Realizou-se um estudo de pesquisa experimental aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais sob o protocolo nº A8-CEA-2022 (Apêndice I) e iniciado após submissão e aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA). Os testes experimentais foram realizados nos laboratórios de Bioestimulação e Reparo Tecidual, Engenharia de Reabilitação Sensório-Motora e de Nanossensores do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IPD) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP).

6.3.1 Amostras

A amostra foi composta por 15 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com 60 dias de idade, e peso aproximado de 230 ± 20 g, que passaram por um período de adaptação antes do início dos procedimentos. Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno padrão com capacidade para até 5 animais, forradas com serragem de pinho, com tampa própria de erro contendo um recipiente com água e alimentação ad libitum.

Durante o desenvolvimento do experimento, o ambiente foi mantido por meio de iluminação artificial com lâmpada fluorescente, em ciclos de claro-escuro de 12 horas cada, considerando o período com luz desligada das 7 até às 19 horas, e temperatura controlada de 20 ± 2 °C, mantida por ar-condicionado. O desenvolvimento de toda a pesquisa foi planejado para minimizar o sofrimento dos animais.

6.3.2 Grupos Experimentais

Foram alocados, aleatoriamente, em dois grupos (n=5): C (Controle - animais submetidos aos procedimentos cirúrgicos exceto a indução de lesão) e L (Lesão - animais submetidos aos procedimentos cirúrgicos e a indução de lesão). As análises de movimento de cada grupo foram realizadas de acordo com os tempos experimentais propostos, que foram: Dia 0 (zero), ou seja, anteriormente a realização

do procedimento cirúrgico; e 3, 7, 10 e 14 dias após a cirurgia. Cada grupo foi constituído 5 animais.

- Controle (C) - Os animais foram submetidos aos preparativos pré-cirúrgicos e aos procedimentos anestésicos e cirúrgicos, simulando-se a contusão medular e à aplicação da terapia a laser de baixa intensidade;

- Lesão (L) - Os animais deste grupo foram submetidos aos preparativos pré-cirúrgicos e anestésicos, e aos procedimentos cirúrgicos que incluíram a contusão medular conforme descrito em 6.3.3.

6.3.3 Procedimento Cirúrgico

O procedimento cirúrgico teve como base o protocolo modificado do relatado por Chaves, 2019, principalmente com relação ao tamanho do animal utilizado e a similaridade de suas estruturas anatômicas em relação ao ser humano. Os ratos são escolhidos para as diversas pesquisas por vários fatores, um deles pela fisiologia semelhante à dos humanos. Além disso, o período de gestação dos ratos relativamente reduzido, de apenas 21 dias, permite a obtenção de resultados com maior brevidade (Kwon *et al.*, 2002).

Os procedimentos experimentais foram iniciados pela anestesia dos animais com a associação de 50 mg/Kg de Cloridrato de Cetamina (100 mg/ml), 5 g/Kg de Cloridrato de Xilazina (20 mg/ml), 5 mg/Kg de Cloridrato de Tramadol (5 mg/ml) durante 5 dias, a cada 12 horas e Acepromazina (2 mg/ml) durante 4 dias a cada 24 horas. e Acepromazina (2 mg/ml). Os animais foram submetidos a sedação pela inalação contínua de isoflurano diluído em O₂ a 100%, em sistema aberto do tipo “baraka” para início do procedimento cirúrgico. Após a sedação os animais foram colocados sobre uma almofada de aquecimento, para manter a temperatura corporal, apoiada em uma bancada esterilizada. Na posição dorsal e com o pescoço estendido e mantidos em isoflurano diluído em O₂.

Procedeu-se à tricotomia da região dorsal dos animais e antissepsia com solução de Polvidine em toda área de indução da LM. Em sequência, seguindo marcação da distância de 7 cm a partir da orelha (Figura 10), foi realizada, com o auxílio de bisturi nº3 e lâmina nº15, uma incisão longitudinal (3 cm) na pele na região

de T9-T10, na linha média dorsal sobre o processo espinhoso, tendo como referência anatômica a última costela (T12). Em continuidade, foram feitos dois cortes laterais paralelos ao processo espinhoso e dois cortes transversais superficiais para rebater a musculatura.

Figura 10: Parâmetros utilizados para marcação da área correta para execução da LM nos animais



Fonte: Chaves *et al.*, 2019.

Figura 11: Imagem do campo cirúrgico após a retirada do processo espinhoso, e exposição da medula espinhal (círculo amarelo)



Fonte: Chaves *et al.*, 2019

Nos animais do grupo L, a LM foi realizada, de acordo com o protocolo utilizado por Paula *et al.* (2004), por trauma direto com o emprego de mini guilhotina sustentando um peso (10g, com borda de metal de 2mm de largura) que era liberado de uma altura de 2,5cm sobre a medula exposta. Após a exposição, este sistema de impacto foi utilizado para causar uma lesão na medula espinhal ao deixar cair uma haste com peso de 10g. Cada animal foi colocado sobre uma superfície rígida, e o segmento imediatamente acima e abaixo da vértebra submetido à laminectomia foi fixado com pinças nos processos espinhosos. O impacto da extremidade da haste foi centralizado entre T9 e T10 e ajustado para atingir um impacto direto no osso, causando uma lesão de moderada gravidade. A haste de impacto de 10 g foi elevada a 25 mm de altura e liberado na medula espinhal em queda livre. Quinze segundos foram esperados e então a haste foi removida. Depois deste procedimento, área afetada foi irrigada com cloreto de sódio 0,9%.

Após finalizadas essas etapas, o tecido muscular foi reposicionado e suturado com fio de sutura Ethicon 4-0 (Johnson & Johnson, Brasil), e a pele com fio de seda Ethicon 3-0 (Johnson & Johnson, Brasil). A pele foi suturada (10 pontos simples, 2 pontos/cm) com fio monofilamento de poliamida (nylon) (5- 0). Após a cirurgia, cada

animal foi transferido para uma gaiola aquecida (25 °C) por 45 min para controlar a hipotermia pós-operatória. Na sequência, todos os animais foram acondicionados em gaiolas individuais por 5 dias e submetidos às terapias antibiótica, com Penicilina (1.200.000 UI – 1ml diluída em 0,9 de soro, sendo aplicado 0,2 ml), analgésica-Cloridrato de tramadol (10mg/Kg, doses com intervalo de 12h, por 5 dias), Dipirona (1gota/Kg de peso, intervalo de 12h, por 5 dias) e anti-inflamatória – Ibuprofeno (doses com intervalo de 12h, por 5 dias).

6.4 Análise Estatística

Os dados obtidos nas análises cinemática, sensório-motora e IFC foram submetidos ao teste paramétrico Teste ANOVA, seguido de Tuckey, quando a distribuição for normal. Ou ao teste não paramétrico ANOVA Kruskal-Wallis, seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn, quando a distribuição dos dados não for normal. Os dados obtidos na análise de movimento foram expressos por média e intervalo interquartil (IQR), e graficamente pelo emprego de Box plot. A avaliação da significância estatística da diferença entre os grupos experimentais utilizou o teste ANOVA Kruskal-Wallis, não paramétrico.

Foi o valor de $p < 0,05$ como nível de significância (*). A análise dos dados e a construção dos gráficos foi realizada com o programa Microsoft Excel® versão 16.0.

7 RESULTADOS

Após a conclusão da montagem do equipamento, alguns testes foram realizados com o intuito de assegurar o seu bom funcionamento. Para testar a integridade estrutural do equipamento, os suportes da célula de carga e da placa de processamento foram tracionados manualmente no intuito de verificar a segurança da fixação na calha onde foram presos, e não apresentaram nenhum tipo de instabilidade.

Quanto a plataforma acrílica, presa por cabos de fio de nylon em um gancho na célula de carga, foram apoiados em sua superfície objetos com peso de valor conhecido de 100g, 500g e 900g respectivamente com o intuito de verificar a capacidade de sustentação dos cabos. Nenhum deles apresentou sinal de fissura ou rompimento.

Simultaneamente, a placa do processador foi conectada a um notebook, com o sistema de programação Arduino® (compatível com a célula de carga) instalado e operante de modo a verificar a captação e transmissão de sinal emitidos pelo sistema e plotados em formato gráfico para melhor compreensão e visualização dos dados obtidos.

Após o equipamento ter sido devidamente testado e calibrado, e com o objetivo de validar seu desenvolvimento, foi possível iniciar os testes com animais. Durante o período de adaptação dos animais, conforme supracitado, os mesmos foram treinados a percorrer o trajeto da plataforma dentro da caixa de vidro. Este treinamento também serviu como teste para avaliar a integridade estrutural do equipamento, bem como o funcionamento adequado da célula de carga e da placa de processamento. O equipamento foi considerado apto e capaz de realizar a coleta de dados para análise de movimento dos animais, conforme proposto pelo estudo. A partir dos dados obtidos durante as coletas e após o seu devido pós-processamento, foram encontrados os seguintes resultados:

7.1 Velocidade Média

A tabela 3 mostra a caracterização e distribuição dos animais conforme desenho do experimento para validação do equipamento.

Tabela 3: Caracterização das amostras compostas por três grupos de ratos do tipo *Rattus norvegicus*, *albinus*, Wistar.

Grupo	Idade (dias)	Peso (gramas)	Gênero
Controle (n=5)	60	230 ± 20g	Macho
Lesão (n=5)	60	230 ± 20g	Macho

Fonte: Autor

Observa-se na tabela 4 a média geral e o desvio padrão da velocidade média (em cm/s) atingida pelos animais de cada grupo bem como a o valor médio de velocidade atingidos separadamente dos dias em que foram realizadas as análises de movimento.

Tabela 4: Média e desvio padrão da velocidade média (em cm/s) atingida pelos animais de cada grupo.

	Média	DP	DIA 0	DIA 3	DIA 7	DIA 10	DIA 14
Controle	20,52	10,13	22,2	11	23,6	20,4	25,4
Lesão	12,12	6,96	11,6	8,4	13,4	15	12,2

Fonte: Autor

A tabela 5 mostra a velocidade média (em cm/s) atingida pelos animais do grupo controle por dia de análise de movimento bem como a média geral e desvio padrão.

Tabela 5: Velocidade média (em cm/s) atingida pelos animais do grupo controle por dia de análise de movimento, média e desvio padrão.

CONTROLE	DIA 0	DIA 3	DIA 7	DIA 10	DIA 14	MÉDIA	DP
ANIMAL 2	23	15	29	35	33	27,00	7,27
ANIMAL 3	13	22	22	29	18	20,80	5,27
ANIMAL 4	23	2	5	8	19	11,40	8,16
ANIMAL 5	26	10	40	9	19	20,80	11,44
ANIMAL 6	26	6	22	21	38	22,60	10,27
MÉDIA	22,2	11	23,6	20,4	25,4		

Fonte: Autor

A tabela 6 mostra a velocidade média (em cm/s) atingida pelos animais do grupo lesão por dia de análise de movimento bem como a média geral e desvio padrão.

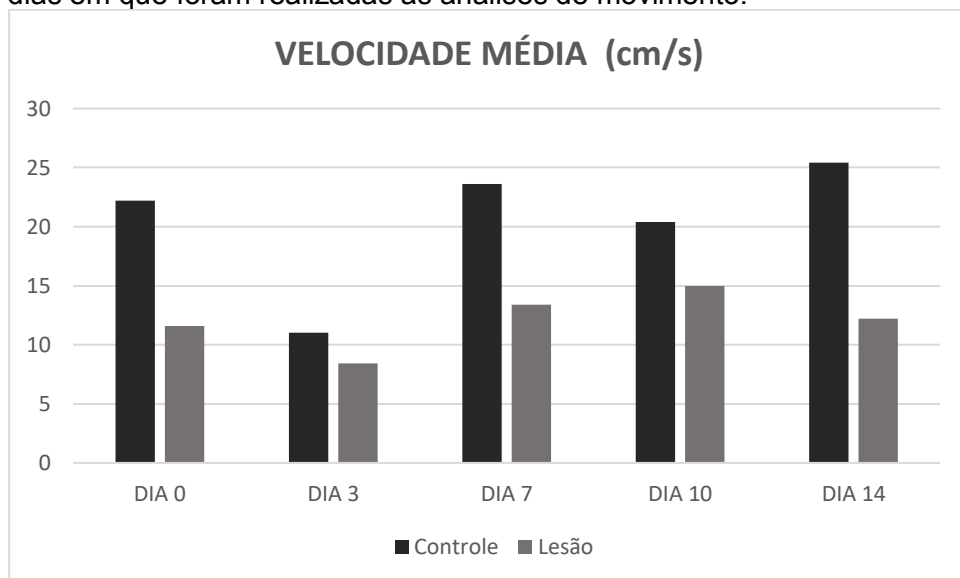
Tabela 6: Velocidade média (em cm/s) atingida pelos animais do grupo lesão por dia de análise de movimento, média e desvio padrão.

LESÃO	DIA 0	DIA 3	DIA 7	DIA 10	DIA 14	MÉDIA	DP
ANIMAL 2	7	9	22	23	21	16,40	6,92
ANIMAL 3	22	7	19	14	16	15,60	6,08
ANIMAL 4	22	17	15	21	12	17,40	4,54
ANIMAL 5	4	2	5	11	5	5,40	6,89
ANIMAL 6	3	7	6	6	7	5,80	2,37
MÉDIA	11,60	8,40	13,40	15,00	12,20		

Fonte: Autor

O gráfico 2 evidencia a diferença de valores ao longo dos dias em que as análises de movimento foram realizadas e compara o desempenho dos grupos.

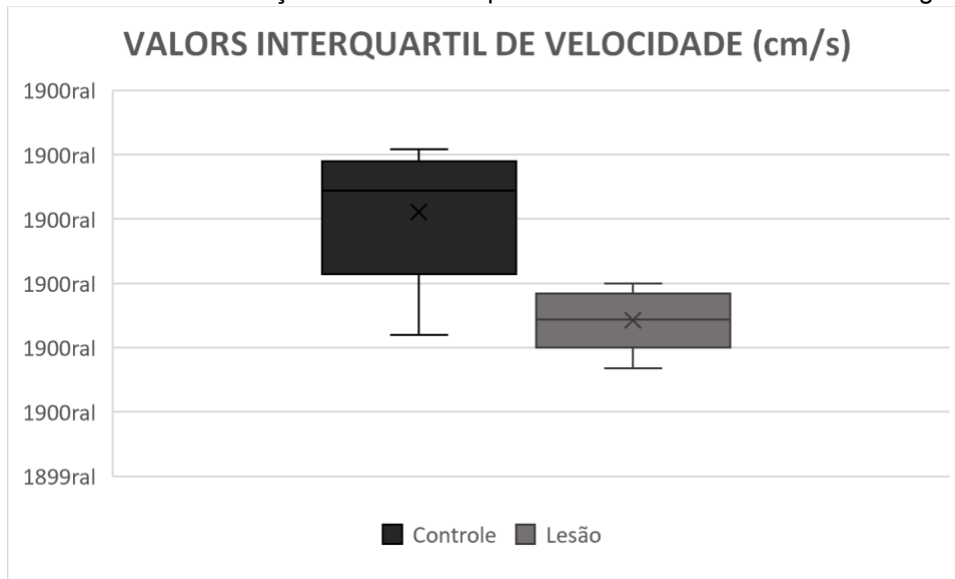
Gráfico 2. Comparativo de Velocidade média entre os grupos ao longo dos dias em que foram realizadas as análises de movimento.



Fonte: Autor

O gráfico 3 evidencia a diferença dos valores interquartil de velocidade média entre os grupos.

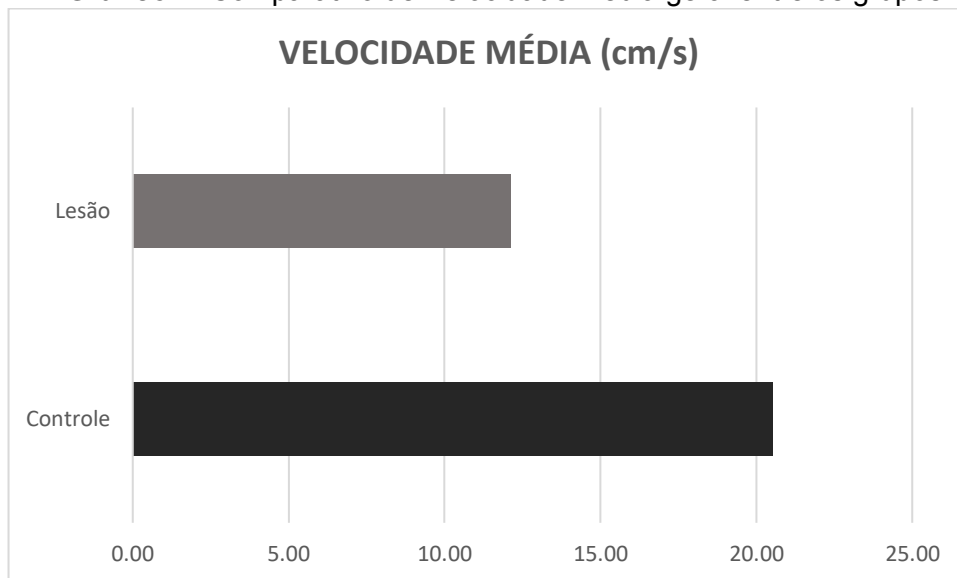
Gráfico 3. Diferença de dados interquartil de Velocidade média entre os grupos.



Fonte: Autor

O gráfico 4 demonstra a média de velocidade total dos grupos comparados entre si.

Gráfico 4. Comparativo de Velocidade média geral entre os grupos.



Fonte: Autor

7.2 Análise Sensório-Motora

Após os pós-processamento dos logs gerados pela mensuração de carga e força de reação do solo, utilizando-se da plataforma projetada para este estudo, os

seguintes resultados foram obtidos levando-se em consideração o melhor indivíduo de cada grupo como representantes:

A tabela 7 mostra o acúmulo médio da força de reação do solo (em Unidades de Carga) exercida pelos animais de cada grupo por dia de análise de movimento, assim como seus respectivos valores de média e desvio padrão.

Tabela 7: Força de reação do solo (em N) exercida pelos animais de cada grupo assim como seus respectivos valores de média e desvio padrão.

	DIA 0	DIA 3	DIA 7	DIA 10	DIA 14	MÉDIA	DP
CONTROLE	0,39	0,84	0,49	0,41	0,40	0,51	0,17
LESÃO	0,57	0,38	0,36	0,25	0,35	0,38	0,10

Fonte: Autor

A tabela 8 mostra a distribuição média da força de reação do solo (em unidades de Carga) exercida pelos animais de cada grupo conforme o tempo (em s) em que deslocava pela plataforma.

Tabela 8: Força de reação do solo (em N) exercida pelos animais de cada conforme o tempo (em s) em que se deslocavam pela plataforma.

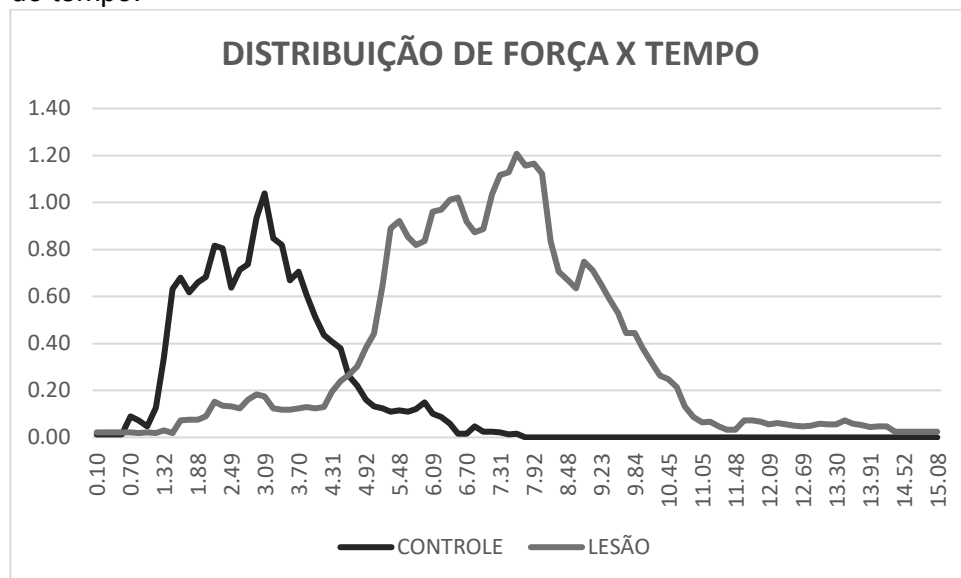
TEMPO	CONTROLE	LESÃO	TEMPO	CONTROLE	LESÃO	TEMPO	CONTROLE	LESÃO
0,10	0,01	0,02	5,81	0,12	0,82	11,48	0,00	0,03
0,24	0,01	0,02	5,95	0,15	0,84	11,66	0,00	0,07
0,38	0,01	0,02	6,09	0,10	0,96	11,80	0,00	0,07
0,56	0,01	0,02	6,23	0,09	0,97	11,94	0,00	0,07
0,70	0,09	0,02	6,42	0,06	1,01	12,09	0,00	0,05
0,85	0,07	0,02	6,56	0,01	1,02	12,23	0,00	0,06
0,99	0,05	0,02	6,70	0,01	0,92	12,41	0,00	0,06
1,13	0,12	0,02	6,84	0,05	0,87	12,55	0,00	0,05
1,32	0,34	0,03	6,98	0,02	0,89	12,69	0,00	0,05
1,46	0,63	0,02	7,17	0,02	1,04	12,83	0,00	0,05
1,60	0,68	0,07	7,31	0,02	1,12	13,02	0,00	0,06
1,74	0,62	0,08	7,45	0,01	1,13	13,16	0,00	0,06
1,88	0,66	0,08	7,59	0,02	1,21	13,30	0,00	0,05
2,07	0,68	0,09	7,73	0,00	1,16	13,44	0,00	0,07
2,21	0,82	0,15	7,92	0,00	1,17	13,58	0,00	0,06
2,35	0,80	0,13	8,06	0,00	1,12	13,73	0,00	0,05
2,49	0,64	0,13	8,20	0,00	0,83	13,91	0,00	0,04
2,63	0,71	0,12	8,34	0,00	0,71	14,05	0,00	0,05
2,82	0,74	0,16	8,48	0,00	0,67	14,19	0,00	0,05
2,95	0,94	0,18	8,67	0,00	0,64	14,33	0,00	0,03
3,09	1,04	0,18	8,95	0,00	0,75	14,52	0,00	0,02
3,23	0,85	0,12	9,09	0,00	0,71	14,66	0,00	0,02
3,42	0,82	0,12	9,23	0,00	0,65	14,80	0,00	0,02
3,56	0,67	0,12	9,42	0,00	0,59	14,94	0,00	0,02
3,70	0,71	0,12	9,56	0,00	0,53	15,08	0,00	0,02
3,84	0,61	0,13	9,70	0,00	0,44			
3,99	0,51	0,12	9,84	0,00	0,44			
4,17	0,43	0,13	9,98	0,00	0,38			
4,31	0,41	0,19	10,17	0,00	0,32			
4,45	0,38	0,24	10,31	0,00	0,26			
4,59	0,26	0,26	10,45	0,00	0,25			
4,73	0,22	0,30	10,59	0,00	0,21			
4,92	0,16	0,38	10,73	0,00	0,13			
5,06	0,13	0,44	10,91	0,00	0,09			
5,20	0,12	0,65	11,05	0,00	0,06			
5,34	0,11	0,89	11,20	0,00	0,07			
5,48	0,11	0,92	11,33	0,00	0,05			
5,67	0,11	0,85	11,48	0,00	0,03			

Fonte: Autor

Conforme os animais se deslocavam pela plataforma a célula de carga captava a força peso distribuída ao longo do trajeto e a convertia em força de reação do solo, sendo possível avaliar a distribuição de força ao longo do trajeto. A partir dos dados obtidos foi possível gerar três gráficos que expõem as diferenças apresentadas por cada grupo, quando comparados entre si bem como avaliar de maneira quantificada o comportamento dos animais mediante aos tratamentos recebidos avaliados nesta pesquisa.

O gráfico 5 expõe a distribuição de força de reação do solo ao longo do tempo em que o trajeto da plataforma foi percorrido pelos animais com a melhor performance representantes dos grupos.

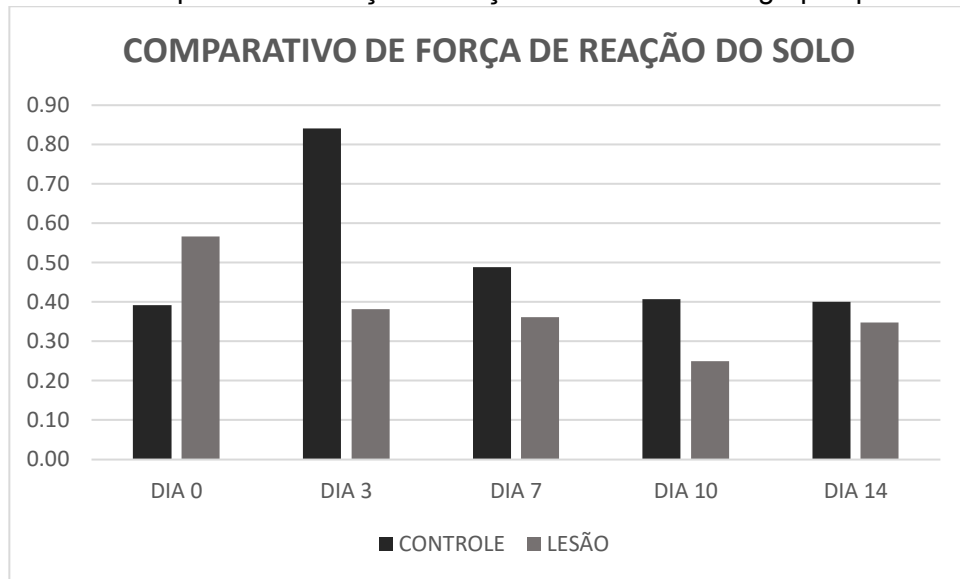
Gráfico 5. Comparação da distribuição de força de reação do solo ao longo do tempo.



Fonte: Autor.

O gráfico 6 demonstra a comparação de força de reação do solo exercida pelos animais com melhor desempenho, representantes dos grupos ao longo dos dias em que a análise de movimento foi realizada.

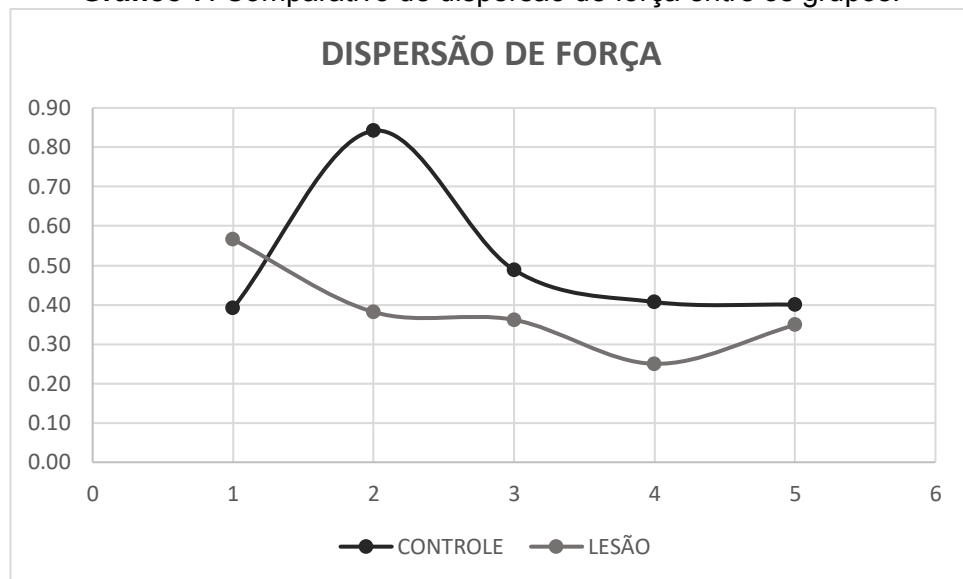
Gráfico 6. Comparativo de força de reação do solo entre os grupos por dia.



Fonte: Autor

O gráfico 7 mostra a média de dispersão de força dos melhores animais representantes dos grupos comparados entre si.

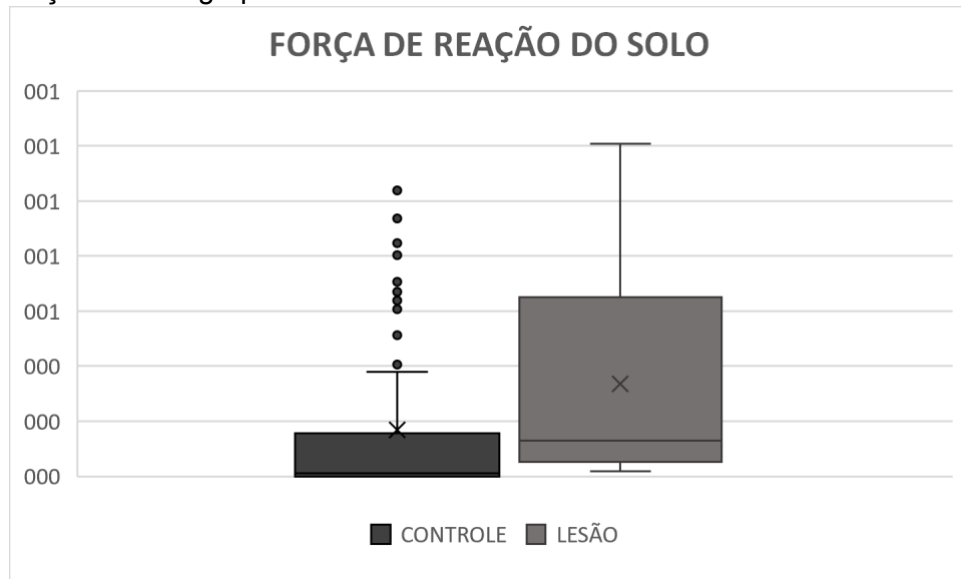
Gráfico 7. Comparativo de dispersão de força entre os grupos.



Fonte: Autor

O gráfico 8 mostra distribuição dos valores do intervalo interquartil de dispersão de força dos melhores animais, representantes dos grupos comparados entre si.

Gráfico 8. Comparativo dos valores de intervalo interquartil de dispersão de força entre os grupos.



Fonte: Autor

Uma outra maneira de demonstrar os resultados foi de força de reação do solo foi por meio da divisão do trajeto percorrido pelos animais em três terços sendo o terço inicial, denominado rampa de subida, terço médio, denominado pico de força, e terço final, denominado rampa de descida. Os valores de corte utilizados para determinar o limite entre as rampas de subida e pico; e posteriormente pico e rampa de descida foi de 85% do valor pico absoluto.

As tabelas 9 e 10 demonstram respectivamente os valores de FRS (em N) e de tempo atingidos pelos grupos durante as rampas de subida, pico e rampa de descida.

Tabela 9: FRS (em N) atingido pelos grupos durante os terços avaliados.

	subida	PICO	descida
CONTROLE	0,88	1,04	0,88
LESÃO	1,03	1,21	1,03

Fonte: Autor

Tabela 10: Tempo (em s) em que os grupos atingiram os terços avaliados.

	Tempo subida	Tempo Pico	Tempo descida
CONTROLE	2,21	3,09	3,42
LESÃO	7,17	7,59	8,13

Fonte: Autor

A tabela 11 demonstra o acúmulo de FRS atingido pelos grupos durante as rampas de subida, pico e rampa de descida

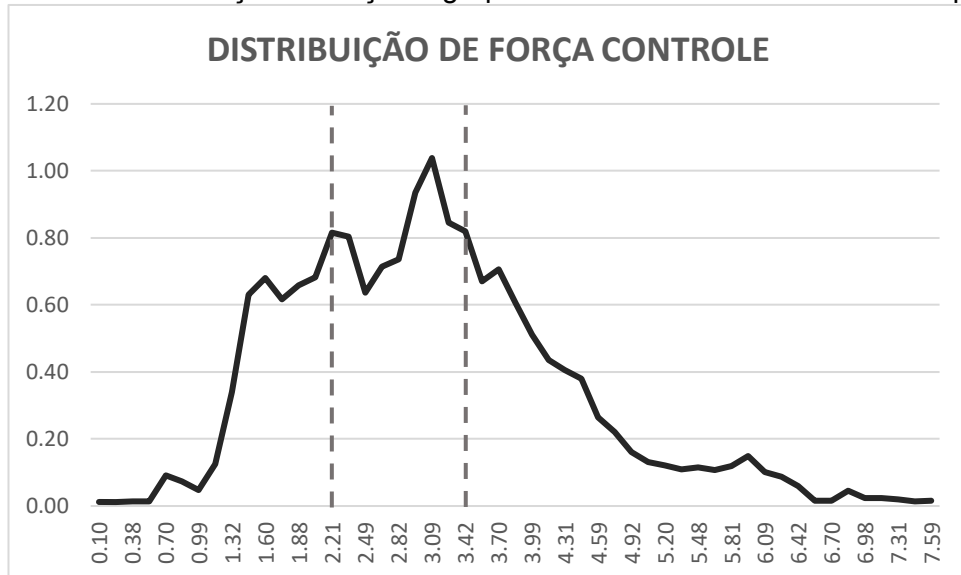
Tabela 10: Acúmulo de FRS atingido pelos grupos durante as rampas.

ACUMULADOS	subida	PICO	descida
CONTROLE	4,81	7,75	5,62
LESÃO	15,88	7,93	9,18

Fonte: Autor

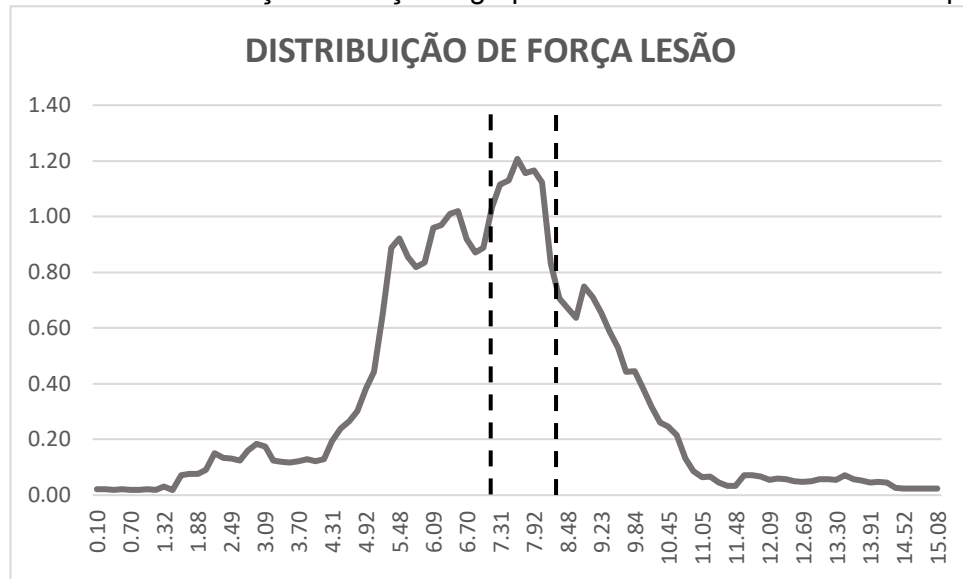
O gráfico 9 demonstra de forma linear a distribuição de força do grupo controle ao longo do tempo com as linhas de corte de rampa de subida e descida destacadas.

Gráfico 9. Distribuição de força do grupo controle e linhas de corte de rampa.



Fonte: Autor

O gráfico 10 mostra o demonstra de forma linear a distribuição de força do grupo lesão ao longo do tempo com as linhas de corte de rampa de subida e descida destacadas.

Gráfico 10. Distribuição de força do grupo lesão e linhas de corte de rampa.

Fonte: Autor

7.3 Índice Funcional do Ciático

Após realizadas as capturas de vídeo e a extração dos frames com as imagens das patas dos animais, foi possível obter as medidas necessárias para o cálculo do índice funcional do ciático conforme exposto nas tabelas:

As tabelas 12 e 13 exibem os valores do IFC de cada indivíduo ao longo dos dias em que foram realizadas as análises de movimento, separados por grupos.

Tabela 11: IFC dos animais do grupo controle ao longo dos dias de análise.

CONTROLE					
	DIA 0	DIA 3	DIA 7	DIA 10	DIA 14
ANIMAL 2	-10,46	-11,19	-15,13	-15,41	-11,74
ANIMAL 3	-6,48	-9,37	-9,85	-12,06	-7,39
ANIMAL 4	-4,13	-9,37	-11,16	-4,82	-5,02
ANIMAL 5	-11,82	-8,88	-8,95	-10,18	-11,22
ANIMAL 6	-8,2	-9,81	-6,62	-11,87	-10,68

Fonte: Autor

Tabela 12: IFC dos animais do grupo lesão ao longo dos dias de análise

	LESÃO				
	DIA 0	DIA 3	DIA 7	DIA 10	DIA 14
ANIMAL 1	-14,96	-17,26	-9,31	-40,08	-10,70
ANIMAL 2	-12,31	-10,57	-43,75	4,48	-19,06
ANIMAL 3	-13,45	-19,39	-37,73	-11,02	-20,35
ANIMAL 4	-20,14	-0,73	-16,79	-40,79	-12,34
ANIMAL 5	-14,19	-5,35	-2,91	-5,56	-24,21

Fonte: Autor

A tabela 14 exibe os valores do IFC de cada grupo ao longo dos dias em que foram realizadas as análises de movimento, representados pelo melhor indivíduo de cada grupo.

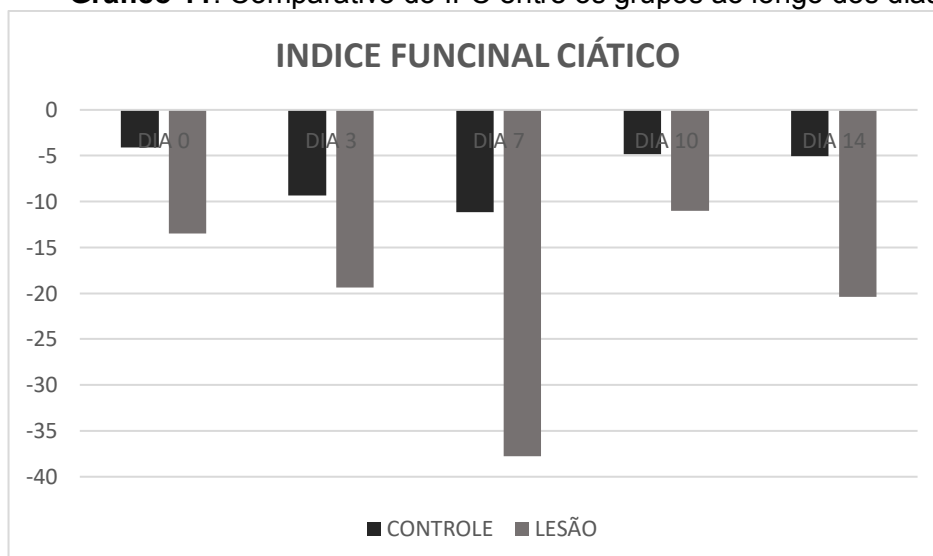
Tabela 13: IFC dos grupos ao longo dos dias de análise.

	INDICE FUNCIONAL DO CIÁTICO				
	DIA 0	DIA 3	DIA 7	DIA 10	DIA 14
CONTROLE	-4,13	-9,37	-11,16	-4,82	-5,02
LESÃO	-13,5	-19,4	-37,73	-11,02	-20,35

Fonte: Autor

O gráfico 11 mostra o comparativo dos valores de IFC entre os grupos, representados pelo melhor indivíduo de cada grupo ao longo dos dias em que a análise de movimento foi realizada.

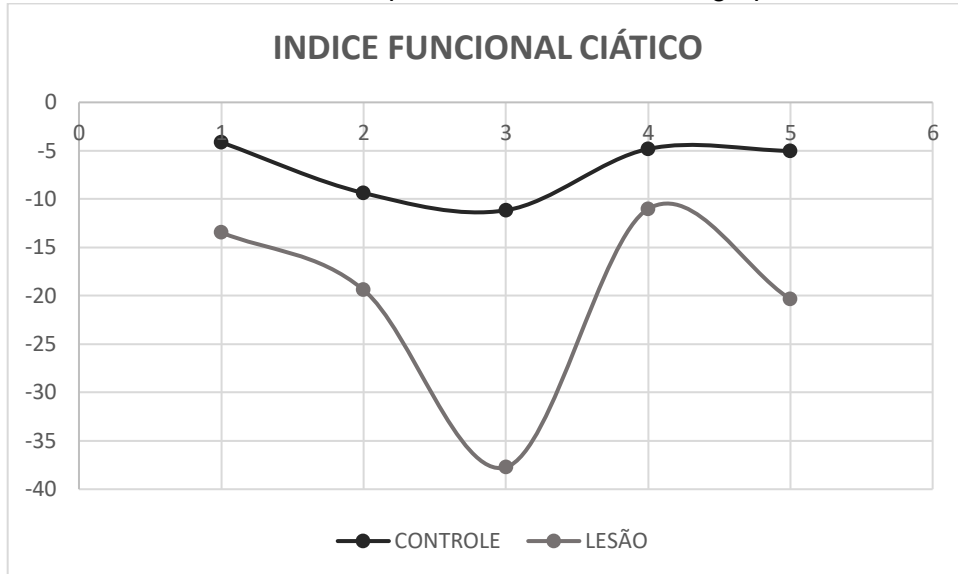
Gráfico 11. Comparativo do IFC entre os grupos ao longo dos dias.



Fonte: Autor

O gráfico 12 mostra o desenho do IFC entre os grupos, representados pelo melhor individuo de cada grupo de maneira dispersiva.

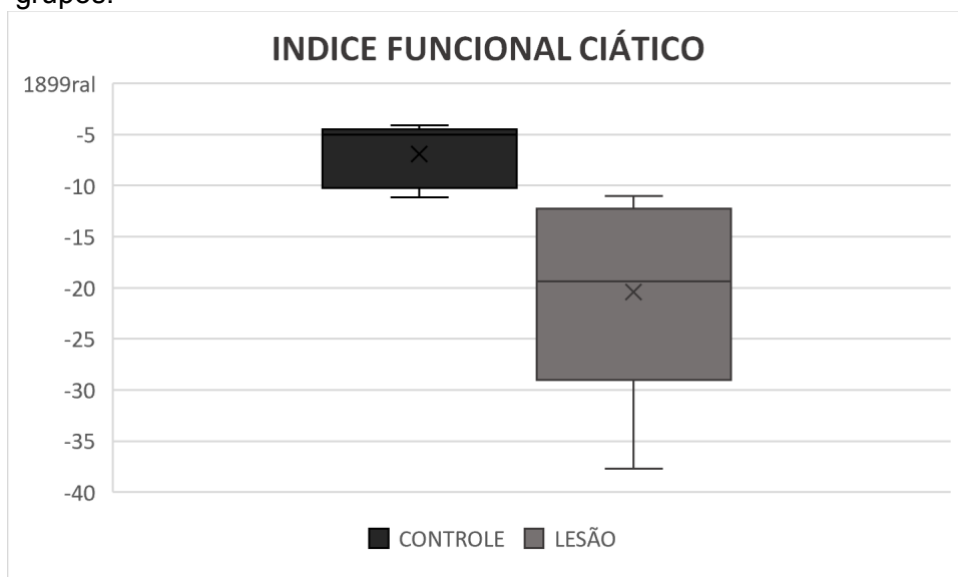
Gráfico 12. Comparativo do IFC entre os grupos.



Fonte: Autor

O gráfico 13 mostra a distribuição dos valores de intervalo interquartil dos dados do IFC entre os grupos, representados pelo melhor individuo de cada grupo de maneira dispersiva.

Gráfico 13. Comparativo dos valores de intervalo interquartil do IFC entre os grupos.



Fonte: Autor

8 DISCUSSÃO

Foi possível realizar a análise de movimento dos animais devido à integralidade do modelo de equipamento aqui apresentado e desenvolvido, bem como sua precisão e padronização na captura dos dados. O fato de existir, num único equipamento, uma forma de capturar a força de reação do solo de maneira digital e em tempo real permitiu o armazenamento dessas informações em formato de LOG, o que tornou possível o seu processamento e interpretação em forma gráfica e tabulada, ou seja, uma maneira fidedigna e precisa de representar o comportamento dos animais enquanto avaliados.

8.1 Avaliação Cinemática

De acordo com a Física, a Cinemática é o estudo da dinâmica de partículas desprezando a atuação de forças. Uma análise cinemática permite a obtenção de valores como características da passada, comprimento e frequência da passada, velocidade em medidas temporais e espaciais e ângulos articulares dos membros denominado parâmetros cinemáticos angulares (Diogo *et al.*, 2019).

Neste estudo a velocidade média (em cm/s) foi avaliada como parâmetro cinemático em associação a elementos sensório-motores. Para calcular a velocidade média, estabeleceu-se uma distância fixa de 70cm, referente ao comprimento da plataforma pênsil e a variação de tempo gasto para os animais percorrerem a distância estabelecida. O tempo foi medido de acordo com a movimentação dos animais. A partir do primeiro sinal de descarga de peso na plataforma, um cronômetro digital disparava uma contagem que se encerrava quando não houvesse mais detecção de descarga de peso na plataforma, gerando assim um tempo inicial, final, bem como o detalhamento do tempo durante a execução do percurso.

A fórmula utilizada para cálculo da velocidade média foi: $V = \frac{\Delta s}{\Delta t}$ onde Δs representa a variação de deslocamento. No presente estudo, foi adotado para a distância percorrida o valor de 70cm fixos, referentes ao comprimento da plataforma; todavia a variável Δt foi contabilizada pelo software a partir do momento em que a plataforma identificou descarga de peso.

Foi possível observar, após o processamento dos dados, que o grupo controle apresentou melhor desempenho quando comparado com o grupo lesão, atingindo um

valor aproximadamente 40% superior, sugerindo assim, que os animais sadios percorrem mais rapidamente o trajeto da plataforma que os animais com lesão medular induzida, dado que corrobora com o estudo realizado por Neves *et al.* (2022). Neste estudo, a autora também realizou uma análise cinemática de ratos com lesão medular induzida tratados com aplicação de membrana amniótica e o comparativo foi feito entre os grupos controle, lesão e membrana, onde o grupo tratado com aplicação de membrana amniótica apresentou melhor resultado quando comparado com os outros dois grupos, e o grupo controle, mesmo apresentando performance inferior ao grupo membrana, foi superior quando comparado com o grupo lesão.

8.2 Avaliação de Função Sensório-Motora

8.2.1 Avaliação de Função Locomotora

O modelo de avaliação de movimento comumente utilizado é o BBB Test, conforme supracitado neste estudo, onde dois avaliadores observam a movimentação livre do animal e, de acordo com um score, são capazes de calcular, por meio de um sistema de pontuação, o desempenho locomotor destes animais. Mesmo em uma avaliação duplo-cega, a interpretação dos movimentos, feita por avaliadores distintos, apresenta ainda um viés que interfere no resultado da pontuação e implica em impacto na avaliação final. Uma das metas estipuladas, ao desenvolver a plataforma aqui apresentada, é reduzir a subjetividade da interpretação feita pelo avaliador, uma vez que o registro dos dados é processado digitalmente e armazenado em forma de log, o que permite um pós-processamento capaz de plotar graficamente esse comportamento.

Os animais com função locomotora preservada apresentaram uma curva gráfica de distribuição de FRS diferente daqueles que tiveram a lesão medular induzida. Foi possível observar após o processamento, e plotagem dos dados coletados pelo equipamento desenvolvido, que os animais do grupo controle apresentaram, ao longo dos dias de análise, uma curva gráfica semelhante à curva gaussiana, e, portanto, foi tida como parâmetro comparativo do grupo lesão, para que assim fosse possível observar a existência de diferentes comportamentos entre os dois.

Após a análise, observou-se que os amostras do grupo Controle apresentaram resultados melhores quando comparado ao grupo Lesão. Foi possível observar, pela interpretação gráfica, uma curva de desempenho inferior àquela apresentada pelo grupo Controle, tanto em dispersão de força, representada pela amplitude da curva, quanto em deslocamento em relação ao tempo. De acordo com a análise numérica quantitativa de valores, o total médio de acúmulo de dispersão de força exercido pelo grupo Controle foi 26% superior quando comparado com o grupo Lesão. Quanto a análise deste comportamento, enquanto divididos os terços de rampa de subida, platô de pico e rampa de descida, observou-se o grupo Lesão demorou mais a atingir os pontos quando comparado ao grupo Controle. Enquanto os animais do grupo Controle gastaram 7,59 s para percorrer o trajeto todo, os animais do grupo Lesão levaram o dobro do tempo, gastando 15,08s.

Para atingir o ponto de rampa de subida, o grupo Controle levou 2,21s enquanto o grupo Lesão demorou 7,17s, o que representa três vezes o tempo atingido pelo grupo controle. A mesma projeção se observou na rampa de descida, quando o grupo Controle levou 3,42 s para atingi-la enquanto o grupo Lesão levou 8,13 s, um valor duas vezes maior. A permanência no platô pico também foi diferente quando comparados os dois grupos. Os animais do grupo controle permaneceram por 1,21 s enquanto os aniamais do grupo lesão permaneceram por apenas 0,96 s.

Esse mesmo padrão foi observado analisando o acúmulo de FRS atingido pelos grupos durante os terços analisados. Durante a rampa de subida, o grupo Controle acumulou um total de 4,81 N, um valor três vezes menor que o atingido pelo grupo Lesão, acumulado em 15,88 N. Durante a rampa de descida, o grupo Controle obteve um total acumulado de 5,62 N, valor este uma vez e meia menor quando comparado ao grupo Lesão, que acumulou um total de 9,18 N. Observou-se um total acumulado no platô de pico muito semelhante entre os dois grupos, sendo 7,75 N atingidos pelo grupo Controle e 7,93 N pelo grupo Lesão. Embora os valores sejam semelhantes, o foi possível entender que o grupo Lesão levou mais tempo para atingi-lo e permaneceu por menos tempo no mesmo platô.

Outro dado observado durante a análise das rampas de subida, descida e pico, foi tempo de final de curso atingido pelo grupo Controle (7,59 s) o que demonstra o tempo gasto por este grupo para percorrer a totalidade o trajeto desenhado. Este foi o mesmo tempo que o grupo Lesão levou para atingir o pico absoluto de FRS.

8.2.2 Avaliação do Índice Funcional Ciático

Conforme citado neste estudo o IFC é um método que correlaciona entre as medidas da extremidade distal do 3º dedo e o calcanhar, da extremidade distal do 1º e do 5º dedo, e da extremidade distal do 2º e do 4º dedo. As medidas são extraídas das marcas de tinta deixadas pelas pegadas dos animais ao percorrerem uma superfície de papel. Esses valores são inseridos como variáveis em um modelo matemático que resulta em um índice. O equipamento desenvolvido neste estudo elimina o uso de tinta nas patas dos ratos, devido ao componente da caixa em formato de corredor por onde se deslocam os animais ser o vidro. Em adição, o espelho posicionado logo abaixo ao fundo da caixa e inclinado a 45º permite a visão completa das patas, feitas por uma câmera digital posicionada em frente ao espelho, sem que haja necessidade de nenhuma marcação, evitando assim uma possível agitação dos animais e minimizando um viés de fator emocional que venha a ser prejudicial na captura dos desenhos das patas dos animais.

Outra das metas estipuladas, no desenvolvimento desta plataforma era aumentar a precisão das medidas das variáveis utilizadas para cálculo do IFC, visto que o sistema atualmente utilizado permite irregularidades nas impressões obtidas com tinta devido ao comportamento dos animais e sua velocidade ao percorrer o trajeto.

Para que o IFC seja plenamente fidedigno ao comportamento dos animais, é necessário que uma das patas não apresente comprometimento motor, e a outra pata apresente certo grau de comprometimento, visto que o modelo matemático assume índices comparativos entre as duas patas no intuito de estabelecer um padrão comportamental entre a contração muscular involuntária e o relaxamento de tais músculos. Neste estudo os animais foram submetidos a lesões medulares induzidas com respostas e reações nas duas patas, portanto, a hipótese de que os valores seriam necessariamente negativos, porém próximos de 0 (zero) foi aceita. Ainda assim foi possível comparar a variação dos resultados entre os grupos controle e lesão.

Observou-se os animais do grupo Lesão apresentaram um IFC inferior quando comparados aos do grupo Controle. As amostras avaliadas apresentaram, ao longo dos dias de análise, um resultado que foi gradativamente se aproximando de (0) zero. Esse comportamento sugere uma boa funcionalidade motora bem como a ausência

do padrão flexor dos dedos da pata lesionada, ou seja, os animais do grupo Controle apresentaram melhor função motora, observada pela distância entre as extremidades dos dedos conforme conceito estabelecido de IFC. De acordo com a análise quantitativa numérica dos dados, o grupo Controle apresentou um resultado médio três vezes maior quando comparado ao do grupo Lesão. Um outro estudo realizado por Neves *et al.* (2022) também analisou o IFC em ratos com lesão medular, comparando os grupos Controle, Lesão e tratados com Biomaterial (membrana amniótica), e os resultados apontaram melhor desempenho do grupo tratado com membrana amniótica, quando comparado com o desempenho dos demais grupos. O grupo Controle, mesmo apresentando performance inferior ao grupo membrana, foi superior quando comparado com o grupo Lesão.

Pode-se observar diferentes métodos avaliativos e analíticos de dados de velocidade média, movimento e índice funcional ciático ao longo do tempo, contudo, apresentando alto índice de subjetividade e baixa precisão quando comparados aos dados captados e processados pelo equipamento desenvolvido neste estudo. Os dados para análise de movimento vinham sendo coletados de maneira isolada, o que contribui para uma interpretação imprecisa. A integralidade de coleta e processamento destes dados permitiu uma análise mais precisa e fidedigna, contribuindo assim para auxílio no desenvolvimento de novos protocolos de tratamento de LM. Nos estudos discutidos não foram observados dados de força de reação do solo, ou dispositivos capazes de coletar e associar a força de reação do solo com outros dados de análise de movimento.

9 CONCLUSÃO

Foi desenvolvido e validado um equipamento capaz de realizar com eficiência e precisão as medições, capturas e processamento dos dados de velocidade média, índice funcional ciático e força de reação do solo em ratos com lesão medular induzida. Ainda são necessários mais estudos para aprimoramento das técnicas de coleta e para futuros complementos dos equipamentos desenvolvidos.

Com o resultado da validação por meio de ensaio experimental, foi possível concluir que o grupo Controle apresentou melhor resultado em todos os itens avaliados, quando comparado ao grupo Lesão. Ainda são necessários mais estudos para aprimoramento das técnicas de coleta e para futuros complementos dos equipamentos desenvolvidos.

REFERÊNCIAS

- ABERNETHY, B. *et al.* **The Biophysical Foundations of Human Movement**. 2nd. ed. [s.l.]: **Human Kinetics**, 2015.
- AHUJA, C. S. *et al.* 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. *et al.* Traumatic spinal cord injury. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1-21, 2017.
- BARELA, A. M. F. *et al.* Utilização da plataforma de força para aquisição de dados cinéticos durante a marcha humana. **Brazilian Journal of Motor Behavior**, v. 6.1, p. 56-61, 2011.
- BASSO, D. M. *et al.* **MASCIS** evaluation of open field locomotor scores: effects of experience and teamwork on reliability. Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study. **J. Neurotrauma**, v. 13, n. 7, p. 343-359, 1996.
- BAKER, R. **Calculating the standard error of measurement**. [2016]. Disponível em: <https://walkingwithrichard.files.wordpress.com/2016/06/calculating-the-standard-error-of-measurement1.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2024.
- BORBÉLY, Z. *et al.* Effect of rat spinal cord injury (hemisection) on the ex vivo uptake and release of [3H] noradrenaline from a slice preparation. **Brain Research Bulletin**, v. 131, n. jan., p. 150–155, 2017.
- BEGG, R. *et al.* A Method for the reconstruction of Ground Reaction Force-Time Characteristics During Gait from Force Platform Recordings of Simultaneous Foot Falls. **IEEE transactions on Biomedical Engineering**, v. 47, n. 4, pp. 547- 551, 2000.
- BENDELLA, H. *et al.* Anatomic conditions for bypass surgery between rostral (T7 – T9) and caudal (L2 , L4 , S1) ventral roots to treat paralysis after spinal cord injury. **Annals of Anatomy**, v. 222, p. 139–145, 2018.
- CARVALHO, A. F. *et al.* The low-level laser on acute myositis in rats. **Acta Cir Bras**, v. 30, n. 12, p. 806–811, 2015.
- CASS, D. Steroids in acute spinal cord injury. **J. CMU**, v. 5, n. 1, p. 7–9, 2003.
- CASTRO, S. S. *et al.* Deficiência visual, auditiva e física: prevalência e fatores associados em estudo de base populacional. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 8, p. 1773–1782, 2008.
- CHAVES, D. C. *et al.* **Estudo pré-clínico dos efeitos da fotobiomodulação em hemissecção medular: análise histomorfométrica**. 2019.

CICCHETTI, D. V. Guidelines, criteria, and rules of thumb for evaluating normed and standardized assessment instruments in psychology. **Psychological Assessment.**, v. 6, n. 4, 1994. p. 284–290. doi:10.1037/1040-3590.6.4.284

CAUDLE, K. L. *et al.* Hindlimb stretching alters locomotor function. **Neurorehabil Neural Repair.**, v. 29, n. 3, p. 268-277, 2015.

DIOGO, C. C. *et al.*, Kinematic and kinetic gait analysis to evaluate functional recovery in thoracic spinal cord injured rats, **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 98, p. 18-28, 2019.

DUMONT, C. M. *et al.* Aligned hydrogel tubes guide regeneration following spinal cord injury. **Acta Biomaterialia**, n. 2019, 2019.

FRANCO, R. *et al.* Avaliação de método digital para análise do índice funcional do ciático em ratos. **Biosci. J.**, v. 27, n. 2, p. 305-31, 2011.

FEITOSA, M. L. T. **Terapia Celular com Células-Tronco em Coelhos com Lesão Medular Induzida e em Cães com Lesão Medular Crônica Espontânea.** 2011. Tese (doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

FREITAS, S. T. T. **Análise comparativo em dois diferentes métodos de avaliação da espasticidade em indivíduos com lesão da medula espinal:** Escala de Ashworth Modificada X Movimento Passivo Contínuo no equipamento isocinético. São José dos Campos, 2004. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2004.

HAYTA, E.; ELDEN, H. Acute spinal cord injury: A review of pathophysiology and potential of non-steroidal anti-inflammatory drugs for pharmacological intervention. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 87, p. 25–31, 2018.

HORKY, L. L. *et al.* Fate of endogenous stem/progenitor cells following spinal cord injury. **J. Comp. Neurol.**, v. 498, n. 4, p. 525-38, 2006.

IBRAHIM E, *et al.* Male fertility following spinal cord injury: an update. **Andrology**, v. 4, n. 1, p. 13-26, 2016.

JAMES, N.D. *et al.* Neuromodulation in the restoration of function after spinal cord injury. **The Lancet Neurology**, v. 17, n. 10, p. 905-917, 2018.

KHANKAN, R. R. *et al.* Olfactory ensheathing cell–neurite alignment enhances neurite outgrowth in scar-like cultures. **Exp. Neurol.**, v.269, p.93-101, 2015.

KUMAR, R. *et al.* Traumatic spinal injury: global epidemiology and worldwide volume. **World Neurosurgery**, 2018.

KWON, B. K. *et al.* Animal Models Used in Spinal Cord Regeneration **Research. Spine**, v. 27, n. 14, p. 1504–1510, 2002.

- LAI, D. T. *et al.* Detection of tripping gait patterns in the elderly using autoregressive features and support vector machines. **Journal of Biomechanics**, v. 41, n. 8, p. 1762–1772, 2018.
- LEE-LIU, D. *et al.* Spinal cord regeneration: Lessons for mammals from non-mammalian vertebrates. **Genesis**, v. 51, n. 8, p. 529-44, 2013.
- LUFT, V. C *et al.* Validation of a new method developed to measure the height of adult patients in bed. **Nutr Clin Pract.**, v. 23, n. 4, p. 424-8, 2008. doi: 10.1177/0884533608321212. PMID: 18682595.
- MARCOLINO, A. M. *et al.* Laser de baixa intensidade (830 nm) na recuperação funcional do nervo isquiático de ratos. **Acta Ortopédica Brasileira** [online], v. 18, n. 4, pp. 207-211, 2010.
- MCDONALD, J. W. *et al.* Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. **Nat Med.**, v. 5, n. 14, p. 10–12, 1999. doi:10.1038/70986
- METZ, G.A.S. *et al.* Efficient testing of motor function in spinal cord injured rats. **Brain Res.**, p. 165–177, 2000.
- MORITA, T. *et al.* Intravenous infusion of mesenchymal stem cells promotes functional recovery in a model of chronic spinal cord injury. **Neuroscience**, n. 335, p. 221–231, 2016.
- MOORE, K.; AGUR, A. M. R.; DALEY, A. F. **Anatomia orientada para a clínica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
- MUNIZ, A. M. S., *et al.* Comparison among probabilistic neural network, support vector machine and logistic regression for evaluating the effect of subthalamic stimulation in Parkinson disease on ground reaction force during gait. **Journal of Biomechanics**. v. 43, p. 720-726, 2010
- MUNIZ, A. M. S *et al.* Application of principal component analysis in vertical ground reaction force to discriminate normal and abnormal gait". **Gait & Posture**, v. 29, n. 1, pp. 31-35, 2009.
- MUNIZ, A. M. S. *et al.* Principal component Analysis of Vertical Ground Reaction Force: A Powerful Method to Discriminate Normal and Abnormal Gait and Assess Treatment. *In: IEEE EMBS ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE*, 28., 2006. **Proceedings...**, New York, 2006. p. 2683-2686.
- NAS, K. *et al.* Rehabilitation of spinal cord injuries. **World journal of orthopedics**, v. 6, n. 1, 2015.
- NATIONAL SPINAL CORD INJURY STATISTICAL CENTER. Spinal cord injury facts and figures at a glance. **Facts and Figures at a Glance**, p. 2, 2022.

NEVES, M. F. *et al.* Analysis of Movements in Spinal Cord Hemisection Treatment with Amniotic Membrane. **Preclinical Study**, v. 10, n. 1, p. 28-37, 2022.

OLIVEIRA, E. F. *et al.* Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. **J Reconstr Microsurg.**, v. 17, n. 1, p. 69–75, 2011.

ORTIZ, C. A. L. *et al.* **Classificação da força de reação do solo durante a marcha de sujeitos com fratura de membro inferior.** 2016. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

PAULA, A. A. **Efeito da terapia com laser de baixa intensidade na Recuperação de lesão medular traumática.** 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Vale do Paraíba, 2011.

PAULA, A. A. *et al.* Low-intensity laser therapy effect on the recovery of traumatic spinal cord injury. **Lasers in Medical Science**, v. 29, n. 6, p. 1849–1859, 2014.

REIS, F. *et al.* Efeito da terapia com laser de arsenieto de gálio e alumínio (660Nm) sobre a recuperação do nervo ciático de ratos após lesão por neurotome seguida de anastomose epineural: análise funcional. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 12, n. 3, p. 215–221, 2008.

RIBERTO, M. *et al.* Estudo dos determinantes dos custos no atendimento dos pacientes com lesão medular decorrente de trauma raquimedular. **Acta Fisiátr.**, v. 30, n. 1, p. 7-12, 2023.

ROUANET, C. *et al.* Traumatic spinal cord injury: current concepts and treatment update. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 75, n. 6, p. 387-393, 2017.

SCANDOLA, M. *et al.* Neurocognitive benefits of physiotherapy for spinal cord injury. **J. Neurotrauma**, v. 36, n. 12, p. 2028–2035, 2019.

SCHOELLER, S. *et al.* Abordagem multiprofissional em lesão medular: saúde, direito e tecnologia. **Publicações do IFSC**, p. 1–304, 2016

SHIN, D. C. *et al.* Induction of Endogenous Neural Stem Cells by Extracorporeal Shock Waves after Spinal Cord Injury. **Spine**, v. 43, n. 4, p. E200–E207, 2018.

SHROUT, P. E.; FLEISS, J. L. Intraclass correlations: Uses in assessing rater reliability. **Psychological Bulletin**, v. 86, n. 2, p. 420-428, 1979.

SHUAIB, A.; BOURISLY, A. K. Photobiomodulation optimization for spinal cord injury rat phantom model. **Translational Neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 67–71, 2018.

SOUZA, B. S. *et al.* Análise comparativa dos movimentos após Lesão medular experimental tratada com membrana amniótica: Estudo Piloto. *In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA*, 19., 2014, São José dos Campos. **Anais...**, São José dos Campos: Univap, 2015.

THURET, S. *et al.* Therapeutic interventions after spinal cord injury. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 7, n. 8, p. 628-43, 2006.

VAUGHAN, *et al.* **Dynamics of Human Gait**. 2. ed. Cape Town: Kiboho, 1992.

VERONEZ, S. *et al.* Effects of different fluences of low-level laser therapy in an experimental model of spinal cord injury in rats. **Lasers in Medical Science**, v. 32, n. 2, p. 343–349, 2017.

VAREJÃO, A. S. P. *et al.* Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. **J Neurosci Methods**, p. 1–9, 2001.

WANG, F. *et al.* Gait Pattern Estimation for Intelligent Bionic Leg. *In: CHINESE CONTROL AND DECISION CONFERENCE*, 2008. **Proceedings...**, Yantai, Shandong, p. 2215-2221, 2008.

WANG, Y. *et al.* Melatonin attenuates pain hypersensitivity and decreases astrocyte-mediated spinal neuroinflammation in a rat model of oxaliplatin-induced pain. **Inflammation**, v. 40, n. 6, p. 2052-2061, 2017.

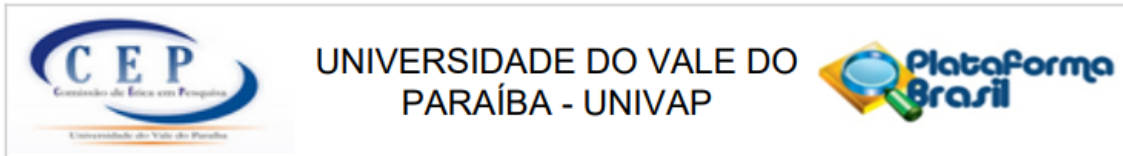
WINTER, B. *et al.* Spinal cord injury. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 18, n. 8, p. 404-409, 2017.

XU, Z. *et al.* Resident Microglia Activate before Peripheral Monocyte Infiltration and p75NTR Blockade Reduces Microglial Activation and Early Brain Injury after Subarachnoid Hemorrhage. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 10, n. 1, p. 412-423, 2018.

ZEMAN, R. J. *et al.* Stereotactic radiosurgery improves locomotor recovery after spinal cord injury in rats. **Neurosurgery**, v. 63, n. 5, p. 981-988, 2008.

ZHAO, C. *et al.* Combination of kinematic analyses and diffusion tensor tractography to evaluate the residual motor functions in spinal cord-hemisected monkeys. **Journal of Medical Primatology**, v. 46, n. 5, p. 239–247, 2017

ZHOU, J. *et al.* Identification of the spinal expression profile of non-coding RNAs involved in neuropathic pain following spared nerve injury by sequence analysis. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, 2017.

APÊNDICE I (CEP)**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Membrana amniótica e terapia a laser de baixa intensidade como opção para o tratamento da contusão medular em ratos

Pesquisador: Débora Campos Chaves

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 58916222.0.0000.5503

Instituição Proponente: Universidade do Vale do Paraíba - UNIVAP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.495.002

APÊNDICE II – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**MEMBRANA AMNIÓTICA E FOTOBIMODULAÇÃO COMO OPÇÃO PARA O TRATAMENTO DE CONTUSÃO MEDULAR EM RATOS**", registrada com o protocolo nº **A8-CEA-2022**, sob a responsabilidade de Emilia Angela Lo Schiavo Arisawa, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa- encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), em reunião de **_09 / _06 / 2022**.

APÊNDICE III (COMMAND)

Linhas de comando da programação da placa de processamento da célula de carga.

```
#include <Arduino.h>
#include "HX711.h"
#include "soc/rtc.h"

// HX711 circuit wiring
const int LOADCELL_DOUT_PIN = 16;
const int LOADCELL_SCK_PIN = 4;

HX711 scale;

void setup() {
  Serial.begin(115200);
  rtc_clk_cpu_freq_set(RTC_CPU_FREQ_80M);
  Serial.println("HX711 Demo");

  Serial.println("Initializing the scale");

  scale.begin(LOADCELL_DOUT_PIN, LOADCELL_SCK_PIN);

  Serial.println("Before setting up the scale:");
  Serial.print("read: \t\t");
  Serial.println(scale.read()); // print a raw reading from the ADC

  Serial.print("read average: \t\t");
  Serial.println(scale.read_average(20)); // print the average of 20 readings from the ADC

  Serial.print("get value: \t\t");
  Serial.println(scale.get_value(5)); // print the average of 5 readings from the ADC minus the
tare weight (not set yet)

  Serial.print("get units: \t\t");
  Serial.println(scale.get_units(5), 1); // print the average of 5 readings from the ADC minus
tare weight (not set) divided
// by the SCALE parameter (not set yet)

  scale.set_scale(INSERT YOUR CALIBRATION FACTOR);
  //scale.set_scale(-471.497); // this value is obtained by calibrating the scale with
known weights; see the README for details
  scale.tare(); // reset the scale to 0

  Serial.println("After setting up the scale:");

  Serial.print("read: \t\t");
  Serial.println(scale.read()); // print a raw reading from the ADC
```

```
Serial.print("read average: \t\t");
Serial.println(scale.read_average(20));    // print the average of 20 readings from the ADC

Serial.print("get value: \t\t");
Serial.println(scale.get_value(5)); // print the average of 5 readings from the ADC minus the
tare weight, set with tare()

Serial.print("get units: \t\t");
Serial.println(scale.get_units(5), 1);    // print the average of 5 readings from the ADC minus
tare weight, divided
        // by the SCALE parameter set with set_scale

Serial.println("Readings:");
}

void loop() {
  Serial.print("one reading:\t");
  Serial.print(scale.get_units(), 1);
  Serial.print("\t| average:\t");
  Serial.println(scale.get_units(10), 5);

  scale.power_down();    // put the ADC in sleep mode
  delay(5000);
  scale.power_up();
}
```

APÊNDICE IV (BBB TEST)

Lista de itens avaliados na análise de movimento locomotor BBB Score

- 0 Não observação de movimento nos membros posteriores (MP)
- 1 Suave movimento de uma ou duas articulações, normalmente o quadril e/ou joelho.
- 2 Extenso movimento de uma articulação ou extenso movimento de uma articulação e suave movimento de uma outra articulação
- 3 Extenso movimento de duas articulações do MP
- 4 Suave movimento de mais de três articulações MP
- 5 Suave movimento de duas articulações e extenso movimento de uma terceira
- 6 Extenso movimento de duas articulações e suave movimento de uma terceira extenso movimento em todas as três articulações do MP
- 7 Largo movimento com nenhum peso de suporte ou colocação plantar da pata com nenhum peso de suporte
- 8 Colocação plantar da pata com peso suporte em postura (quando parado) ou ocasional, frequente, ou consistente suporte de peso na passada dorsal e nenhum apoio na passada plantar, movimentos suaves sem suportar o peso do corpo.
- 9 Ocasional suporte de peso na passada plantar, nenhum MS
- 10 Frequência constante do suporte de peso na passada plantar, nenhuma MS
- 11 Frequência constante do suporte de peso na passada plantar e ocasional MS de coordenação
- 12 Frequência constante do suporte de peso na passada plantar e frequente MS
- 13 Constante suporte de peso na passada plantar, constante MS
- 14 Constante passada plantar e constante MS
- 15 Constante passada plantar constante MS Predominante posição da pata, paralela ao corpo no contato inicial
Predominante posição da pata, paralela ao corpo no contato inicial
- 16 Constante passada plantar e constante coordenação MS
Predominantemente a posição das patas estão paralelas no contato inicial e rodados ao se levantar.
- 17 Constante passada plantar e constante coordenação MS
- 18 Constante passada plantar e constante coordenação MS
- 19 Constante passada plantar e constante coordenação MS
- 20 Constante passada plantar e constante coordenação ao andar, constantes movimentos livres dos dedos dos pés; predominantemente a posição das patas estão paralelas no contato inicial e ao levantar se; e instabilidade do tronco; rabo constantemente para cima.
- 21 Constante passada plantar e andar coordenado, constantes movimentos livres dos pés, posição das patas predominantemente paralelas durante a postura, constante estabilidade de tronco, rabo constantemente para cima.