



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

EMOCIONALIDADE, COGNIÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO EM UM MODELO DE TRAUMATISMO
CRÂNIO-ENCEFÁLICO EM CAMUNDONGOS

Marcelo Liborio Schwarzbold

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Roger Walz

Co-orientador: Prof. Dr. Rui Daniel S. Prediger

Florianópolis

2010

"A imaginação humana é imensamente mais pobre que a realidade."

Cesare Pavese

AGRADECIMENTOS

Nos últimos dois anos vivenciei uma jornada de aprendizado intenso durante a qual recebi a ajuda de muitas pessoas, cada uma contribuindo a sua maneira e magnitude. Em comum, todas demonstraram o apoio crucial nos momentos mais difíceis, tornando inaceitável outra opção que não seguir em frente e transpor as adversidades típicas das épocas marcantes.

Agradeço a minha família: meus pais Maria Salete e Guido, meu irmão Fred e minha noiva Lia. A tarefa de ser um porto seguro para um viajante tantas vezes mal-humorado e apressado certamente não foi fácil.

Agradeço aos professores Roger Walz, Rui Prediger, Ana Lúcia Rodrigues, Eliane Goldfeder e Marcelo Farina, autênticos cientistas e mentores, exemplos do mais alto nível de contribuição para o desenvolvimento do país.

Agradeço aos colegas dos Departamentos de Farmacologia, Clínica Médica e Bioquímica, em especial ao Daniel Rial, João Carlos Xicota, Cláudia Pinto Figueiredo, Tatiana de Bem, Alexandre Diaz, Maurício Cunha, Daniele Machado, Alessandra dos Santos, Danúbia dos Santos, Eliziane Patricio, Aderbal Aguiar, Maria Emília Thais e Alexandre Hohl. Conviver com pessoas tão dedicadas ao que fazem foi um privilégio.

Agradeço às instituições que me acolheram e forneceram suporte logístico para pesquisa: Universidade Federal de Santa Catarina, através do Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Hospital Universitário e Departamentos de Clínica Médica, Farmacologia e Bioquímica, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Hospital Governador Celso Ramos.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES	5
LISTA DE TABELAS E FIGURAS	6
RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	9
1.1 Definição de traumatismo crânio-encefálico.....	9
1.2 Epidemiologia do traumatismo crânio-encefálico.....	10
1.3 Fisiopatologia do traumatismo crânio-encefálico	12
1.3.1 Lesão primária	14
1.3.2 Lesão secundária	15
1.4 Seqüelas do traumatismo crânio-encefálico	18
1.4.1 Prejuízos cognitivos.....	18
1.4.2 Transtornos psiquiátricos.....	20
1.5 Modelos animais de traumatismo crânio-encefálico	22
2 OBJETIVOS	25
2.1 Objetivo geral	25
2.2 Objetivos específicos.....	25
3 MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1 Animais	26
3.2 TCE experimental.....	26
3.3 Visão geral dos experimentos.....	28
3.4 Avaliação neurológica	29
3.5 Teste do campo aberto.....	31
3.6 Teste do labirinto em cruz elevado.....	31
3.7 Teste do nado forçado	32
3.8 Teste da suspensão pela cauda	32
3.9 Esquiva inibitória do tipo step down.....	32
3.10 Teste da sensibilidade ao choque	33
3.11 Análise histológica qualitativa	33
3.12 Mensuração de parâmetros de estresse oxidativo.....	34
3.13 Análise estatística	35

4 RESULTADOS	35
4.1 Avaliação neurológica	35
4.2 Teste do campo aberto	36
4.3 Teste do labirinto em cruz elevado	37
4.4 Teste do nado forçado	38
4.5 Teste da suspensão pela cauda	39
4.6 Esquiva inibitória do tipo step down	40
4.7 Teste da sensibilidade ao choque	40
4.8 Análise histológica qualitativa	41
4.9 Mensuração de parâmetros de estresse oxidativo	43
5 DISCUSSÃO	45
6 CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS	52

LISTA DE ABREVIACOES

DLPC	córtex pré-frontal dorsolateral
DTNB	5,5-ditiobis 2-nitrobenzoato
EDTA	cido etilenodiaminotetraacético
GCS	Escala de Coma de Glasgow
GPx	glutaciona peroxidase
GR	glutaciona redutase
GSH	glutaciona reduzida
GSSG	glutaciona oxidada
HEPES	sdico-ácido etanosulfonico 4-2 hidroxietil piperazina-1
i. p.	intraperitoneal
MDA	malondialdeído
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NPSH	tióis não-proteicos
NSS	escore neurológico de severidade
OFC	córtex orbitofrontal
TBARS	espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCE	traumatismo crânio-encefálico

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Escala de Coma de Glasgow.....	9
Tabela 2. Principais transtornos psiquiátricos após traumatismo crânio-encefálico.....	21
Tabela 3. Cronologia dos experimentos.....	28
Tabela 4. Parâmetros avaliados no escore neurológico de severidade.....	30
Tabela 5. Parâmetros de estresse oxidativo em córtex e hipocampo esquerdos.....	44
Tabela 6. Parâmetros de estresse oxidativo em córtex e hipocampo direitos.....	45
Figura 1. Hospitalizações por traumatismo crânio-encefálico nos Estados Unidos.....	11
Figura 2. Participação relativa de diferentes mecanismos na lesão secundária.....	12
Figura 3. História natural do traumatismo crânio-encefálico.....	13
Figura 4. Principais modelos animais traumatismo crânio-encefálico.....	24
Figura 5. Aparato de traumatismo crânio-encefálico experimental.....	27
Figura 6. Bateria de testes comportamentais.....	29
Figura 7. Aparato utilizado na avaliação do escore neurológico de severidade.....	30
Figura 8. Resultados do escore neurológico de severidade.....	36
Figura 9. Resultados do teste do campo aberto.....	37
Figura 10. Resultados do teste do labirinto em cruz elevado.....	38
Figura 11. Resultados do teste do nado forçado.....	39
Figura 12. Resultados do teste da suspensão pela cauda.....	39
Figura 13. Resultados da esquiva inibitória do tipo step down.....	40
Figura 14. Resultados do teste da sensibilidade ao choque.....	41
Figura 15. Histologia dos animais submetidos ao impacto com projétil de 10 g.....	42
Figura 16. Histologia dos animais submetidos ao impacto com projétil de 12,5 g.....	42
Figura 17. Histologia dos animais submetidos ao impacto com projétil de 15 g.....	43

RESUMO

Introdução: o traumatismo crânio-encefálico (TCE) é caracterizado por elevadas taxas de incidência, mortalidade e morbidade. Prejuízos cognitivos e síndromes psiquiátricas se destacam entre as seqüelas do TCE. Evidências indicam que os danos secundários têm um importante papel na evolução do TCE e na gênese das seqüelas. **Objetivos:** padronizar um modelo de TCE em camundongos e investigar seus efeitos na emocionalidade, cognição, histologia e estresse oxidativo. **Materiais e métodos:** um aparato de queda de peso foi desenvolvido para indução de TCE em camundongos utilizando projéteis de massa 10 g, 12,5 g e 15 g. Após avaliação neurológica em fase aguda, os animais se recuperaram por 10 dias e foram submetidos a uma bateria de testes comportamentais relacionados à emocionalidade e cognição. Parâmetros de estresse oxidativo foram mensurados em córtex cerebral e hipocampo nos períodos de 2 h, 24 h e 14 dias após o trauma. Uma análise histológica qualitativa também foi realizada. **Resultados:** projéteis de maior massa induziram maior gravidade de trauma. Os camundongos submetidos ao trauma com o projétil de 10 g apresentaram aumento no comportamento tipo-ansioso e depressivo. Os camundongos dos grupos 12,5 g e 15 g apresentaram prejuízos de memória. Esse último grupo também apresentou aumento na atividade locomotora. Na análise histológica, os camundongos do grupo 10 g não tiveram anormalidades aparentes e os camundongos dos grupos 12,5 g e 15 g mostraram dano tecidual extensivo. Alterações indicativas de estresse oxidativo foram observadas nos animais do grupo 12,5 g nos períodos de 24 h e 14 dias. **Conclusões:** o modelo foi capaz de gerar em camundongos alterações comportamentais e bioquímicas comparáveis às observadas em pacientes com TCE. O modelo demonstrou potencial para uso em futuros estudos abordando os mecanismos e o tratamento do TCE e suas seqüelas.

ABSTRACT

Introduction: traumatic brain injury (TBI) is characterized by high rates of incidence, mortality and morbidity. Cognitive deficits and psychiatric syndromes stand out among TBI sequelae. Evidences indicate that secondary injury plays an important role in the evolution of TBI and in the genesis of its sequelae. **Objectives:** to standardize a model of TBI in mice and investigate its effects on emotionality, cognition, histology and oxidative stress. **Materials and methods:** a weight-drop device was developed to induce TBI in mice using projectiles of 10 g, 12.5 g and 15 g. After acute neurological evaluation, mice recovered for 10 days and then were subjected to a behavioral test battery related to emotionality and cognition. Parameters of oxidative stress were measured in the prefrontal cortex and hippocampus at 2 h, 24 h and 14 days after trauma. A histological analysis was also performed. **Results:** projectiles of greater mass induced greater severity of trauma. Mice subjected to trauma with the 10 g projectile showed increased anxiety- and depression-like behavior. Mice of 12.5 g and 15 g groups showed robust memory deficits. The latter group also presented increased locomotor activity. In the qualitative histological analysis, mice of 10 g group did not show obvious abnormalities and mice of 12.5 g and 15 g groups showed extensive tissue damage. Changes indicating oxidative stress were found in mice of 12.5 g group at 24 h and 14 days after trauma. **Conclusions:** the model was able to generate in mice behavioral and biochemical changes comparable to those seen patients with TBI. The model demonstrated potential for use in future studies approaching mechanisms and treatment of TBI and its sequelae.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Definição de traumatismo crânio-encefálico (TCE)

O TCE é uma perturbação funcional ou dano do encéfalo diretamente causado por forças mecânicas externas. Um simples impacto na cabeça não configura um TCE, pois a definição clínico-epidemiológica exige manifestações de acometimento encefálico tais como alteração do nível de consciência, amnésia, desorientação, prejuízos neurológicos, anormalidades em exames de neuroimagem, ou mesmo morte imediata (MAAS et al., 2008). A gravidade do TCE é usualmente definida pelo nível de consciência do paciente na avaliação inicial. Uma das classificações mais utilizadas se baseia na Escala de Coma de Glasgow (GCS), que examina a resposta do paciente a níveis crescentes de estímulo (TEASDALE e JENNETT, 1974) (**Tabela 1**).

Tabela 1. Escala de Coma de Glasgow (TEASDALE e JENNETT, 1974).

Resposta ocular	Resposta verbal	Resposta motora
4 - Espontânea	5 - Orientado	6 - Obedece comandos
3 - Por comando verbal	4 - Desorientado, apropriado	5 - Localiza dor
2 - Por estímulo doloroso	3 - Palavras inapropriadas	4 - Retirada inespecífica
1 - Ausente	2 - Fala incompreensível	3 - Flexão anormal
	1 - Ausente	2 - Extensão anormal
		1 - Ausente

O TCE leve é definido por um escore na CGS de 13 a 15, moderado de 9 a 12, e severo de 3 a 8. Aproximadamente 60% dos casos de TCE são leves, 20% são moderados e 20% graves (TAGLIAFERRI et al., 2006; LANGLOIS et al., 2006). TCE grave e leve diferem em vários aspectos de apresentação clínica, abordagem médica, e prognóstico geral. Pacientes com TCE grave apresentam coma e requerem intervenção imediata para suporte de

vida e controle de complicações. Pacientes com TCE leve mostram comprometimento de consciência transitório e menos intenso, e a abordagem inicial envolve uma avaliação neurológica minuciosa e algumas vezes exames de neuroimagem (VOS et al., 2002). Alguns pacientes com sintomatologia inicial leve podem evoluir em questão de horas para deterioração neurológica em consequência de hemorragia intracraniana e edema cerebral (GOLDSCHLAGER et al., 2007).

O TCE grave é caracterizado por um prognóstico ruim no que diz respeito à mortalidade e seqüelas. Estudos freqüentemente descrevem taxas de mortalidade acima de 30% mesmo com intervenções de alta complexidade em unidade de terapia intensiva (UTI) (MARMAROU et al., 2007; MARTINS et al., 2009). Aproximadamente metade dos sobreviventes de TCE grave apresenta seqüelas de longo prazo que levam ao comprometimento funcional (JIANG et al., 2002; MARMAROU et al., 2007). O prognóstico do TCE leve é mais controverso, com resultados heterogêneos entre os estudos. Em geral, a maioria dos pacientes se recupera em um prazo de 3 a 12 meses (CARROLL et al., 2004). No entanto, para muitos indivíduos esse período é marcado por problemas emocionais, cognitivos e sociais. Em alguns pacientes, o comprometimento se torna crônico (PETCHPRAPAI e WINKELMAN, 2007).

1.2 Epidemiologia do TCE

Em várias regiões do mundo, o TCE figura como uma das causas mais importantes de morte e invalidez. No Brasil, estudos epidemiológicos abordando o tema são raros, mas os dados disponíveis indicam taxas elevadas de incidência e mortalidade. Masini et al. (1994) calcularam uma incidência anual de 341 casos por 100 mil habitantes na cidade de Brasília. Koizumi et al. (2000) estimaram uma taxa de mortalidade entre 26 e 39 mortes por 100 mil habitantes na cidade de São Paulo. Na Europa e Estados Unidos, uma quantidade maior de

estudos epidemiológicos está disponível. Uma revisão sistemática com dados de vários países europeus calculou uma incidência anual de 235 casos por 100 mil habitantes e uma mortalidade de 15,4 mortes por 100 mil habitantes (TAGLIAFERRI et al., 2006). Nos Estados Unidos pelo menos 1,4 milhões de casos ocorrem a cada ano, resultando em mais de 50 mil mortes. Aproximadamente 5,3 milhões de pessoas vivem com seqüelas de longo prazo decorrentes de TCE nesse país, e o custo anual da doença ultrapassa os 56 bilhões de dólares (BINDER et al., 2005). Na população dos Estados Unidos cerca de 70% dos casos de TCE ocorrem em homens. Crianças, adolescentes e adultos jovens são os grupos etários mais afetados, porém um segundo pico de incidência ocorre em idosos. A principal causa de TCE em crianças e idosos são as quedas. Acidentes de trânsito e violência são as causas mais freqüentes em adultos jovens (LANGLOIS et al., 2006) (**Figura 1**). Um perfil epidemiológico similar ocorre na população brasileira (MASINI, 1994; KOIZUMI et al., 2000; MARTINS et al., 2009; FARIA et al., 2008). O típico paciente de TCE no Brasil é homem com idade entre 20 e 30 anos, envolvido em acidente de trânsito (MELO et al., 2004).

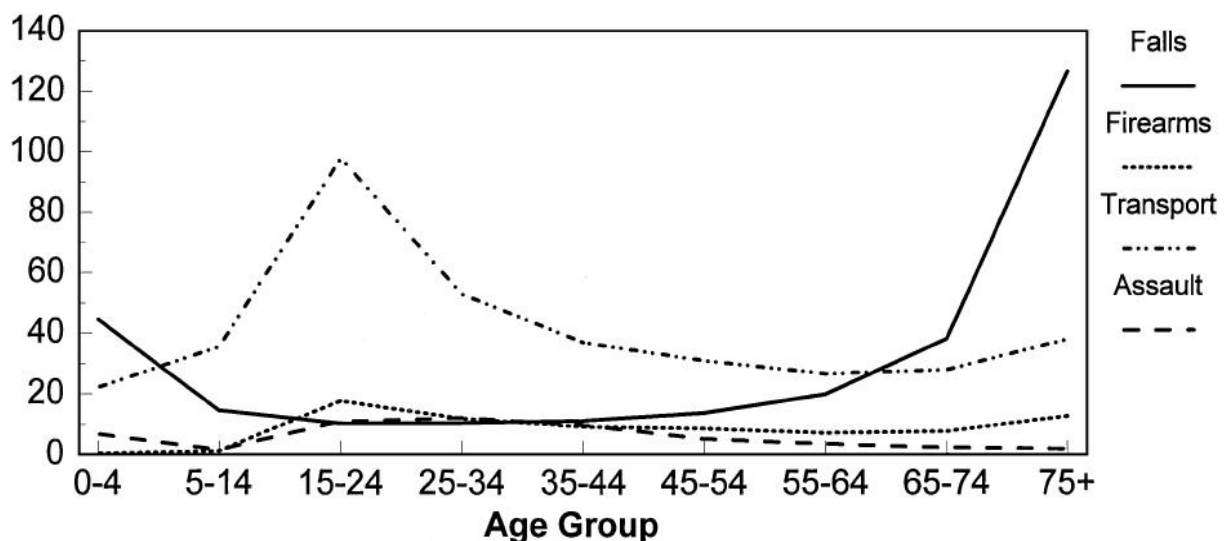


Figura 1. Hospitalizações por traumatismo crânio-encefálico nos Estados Unidos por causa e faixa etária, a cada 100 mil habitantes. Adaptado de Thurman et al. (1999).

1.3 Fisiopatologia do TCE

Os danos cerebrais que ocorrem durante a evolução do TCE podem ser divididos em lesão primária e secundária. A lesão primária ocorre no momento do trauma e corresponde ao dano diretamente causado pelas forças mecânicas aplicadas no encéfalo. A lesão secundária é um conjunto heterogêneo e interligado de eventos patológicos celulares que desenvolvem-se em resposta à lesão primária. A lesão secundária se inicia imediatamente após o trauma, e alguns de seus mecanismos podem durar meses ou anos (IWATA et al., 2002; GENTLEMAN et al., 2004; NAGAMOTO-COMBS et al., 2007). Os mecanismos mais estudados na lesão secundária são disfunção do fluxo sanguíneo e isquemia cerebral, excitotoxicidade, estresse oxidativo, e inflamação. A contribuição desses mecanismos no desenvolvimento da lesão secundária sofre variações de acordo com o tipo de lesão primária (**Figura 2**) (MAAS et al., 2008).

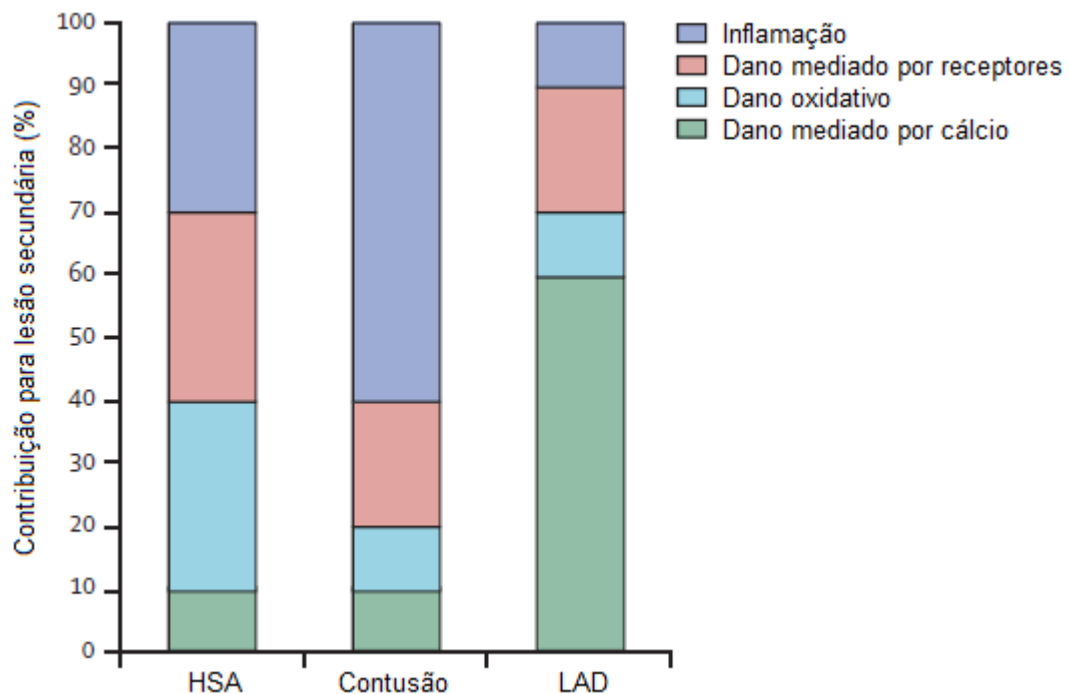


Figura 2. Participação relativa de diferentes mecanismos de lesão secundária de acordo com o tipo de lesão primária (HSA: hematoma subdural agudo; LAD: lesão axonal difusa). Adaptado de Maas et al. (2008).

Considera-se que as seqüelas do TCE são amplamente determinadas pela lesão primária e secundária. Essa grande variedade de mecanismos e tipos de danos cerebrais, associada a outras condições freqüentemente concomitantes (trauma não-cerebral, infecção, tromboembolismo, choque, etc.) tornam o TCE uma entidade clínica altamente heterogênea tanto em fase aguda como crônica. Os estudos atuais sobre a terapêutica do TCE têm focado atenção na lesão secundária, uma vez que a lesão primária só pode ser minimizada por intervenções preventivas e, em alguns casos, neurocirúrgicas (WERNER e ENGELHARD, 2007). Apesar da pesquisa intensa realizada nas últimas duas décadas, estratégias de neuroproteção capazes de melhorar o prognóstico no longo prazo ainda não estão disponíveis na prática clínica (JAIN, 2008). A **Figura 3** ilustra a história natural do TCE, com ênfase no perfil temporal dos fenômenos de excitotoxicidade, estresse oxidativo e inflamação, e das seqüelas cognitivas e psiquiátricas.

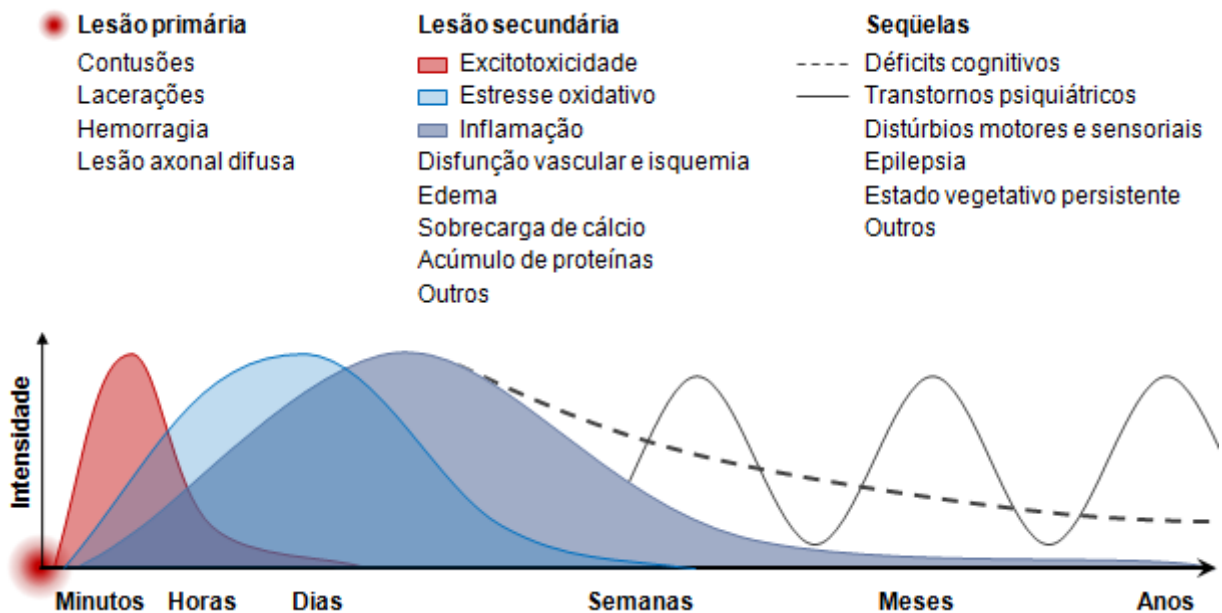


Figura 3. História natural do traumatismo crânio-encefálico, com ênfase nos perfil temporal dos fenômenos de excitotoxicidade, estresse oxidativo e inflamação, e das seqüelas cognitivas e psiquiátricas. Veja o texto para referências.

1.3.1 Lesão primária

Fatores biomecânicos são os principais determinantes da lesão primária. Um impacto de alta energia sobre o crânio pode produzir danos focais como contusão cerebral, lacerações e hemorragia (WERNER e ENGELHARD, 2007). Forças inerciais de desaceleração que ocorrem durante a colisão da cabeça podem provocar compressão de estruturas cerebrais contra superfícies ósseas, levando a contusões remotas por golpe e contragolpe. Esse mecanismo é mais comum quando altas velocidades estão envolvidas no trauma, como no caso de quedas e acidentes de trânsito (DREW e DREW, 2004). A deformação do cérebro por forças inerciais pode induzir lesão axonal difusa, um tipo de dano no qual os axônios são estirados e sofrem comprometimento funcional ou mesmo axotomia primária (SAHUQUILLO et al., 2001). Estudos experimentais com primatas não-humanos e não-primatas mostraram que dano cerebral pode ser induzido exclusivamente por forças inerciais, na ausência de um impacto craniano direto (GENNARELLI et al., 1981; CHEN et al., 2004). No entanto, o TCE sem impacto não é comum na população civil. A maioria dos casos envolve uma colisão do crânio produzindo diferentes graus de danos focais e difusos (EISENBERG et al., 1990). A deformação dos neurônios por forças mecânicas provoca abertura de poros na membrana celular, um fenômeno denominado mecanoporação (BARBEE, 2005; FARKAS et al., 2006). O aumento inespecífico na permeabilidade da membrana permite o vazamento de íons, provocando despolarização. O influxo massivo de cálcio desencadeia a ativação anômala de uma ampla gama de vias intracelulares (BARBEE, 2005; STRONG e DARDIS, 2005). As forças mecânicas também afetam diretamente o citoesqueleto neuronal, causando comprometimento do transporte axonal, acúmulo de proteínas, e mesmo axotomia secundária (FITZPATRICK et al., 1998; KELLEY et al., 2006). Neste ponto, as alterações fisiopatológicas são mais bem descritas como lesão secundária.

Outra classificação da lesão primária considera a integridade do crânio e dura-máter, classificando o TCE como fechado ou penetrante. O TCE fechado é o mais prevalente. O TCE penetrante tem um perfil particularmente grave e está associado a altas taxas de complicações (PEEK-ASA et al., 2001; BLACK et al., 2002). Uma forma específica de lesão primária associada a um quadro clínico de intensidade leve a grave tem sido cada vez mais descrita em populações militares. O chamado "TCE de explosão" não envolve impacto direto sobre o crânio, sendo provavelmente causado por ondas mecânicas de choque que se propagam nos tecidos durante a exposição a uma explosão. Apenas recentemente essa forma de TCE começou a ser investigada (LING et al., 2009).

1.3.2 Lesão secundária

Disfunção do fluxo sangüíneo e isquemia: as altas necessidades metabólicas do cérebro são supridas fisiologicamente por um fluxo sangüíneo constante que é mantido por um rigoroso controle da resistência vascular principalmente em resposta a mudanças na pressão de perfusão cerebral e concentração de dióxido de carbono (JONES et al., 1989). No TCE esse controle é precocemente perdido, resultando em fluxo sangüíneo inadequado e hipóxia (BOUMA et al., 1991; GREVE e ZINK, 2009). Em situação extrema, a disfunção vascular leva ao vasoespasmó pós-traumático, no qual ocorre constrição intensa e sustentada de grandes artérias da base do cérebro (ARMIN et al., 2008). Os mecanismos da disfunção vascular no TCE são pouco conhecidos e possivelmente envolvem mudanças na morfologia dos vasos decorrentes do trauma, inflamação, quebra da barreira hematoencefálica, e perturbações no metabolismo do óxido nítrico e acetilcolina (DEWITT e PROUGH, 2003; WERNER e ENGELHARD, 2007). Em tecidos isquêmicos, os níveis extracelulares de glutamato aumentam rapidamente, causando excitotoxicidade (BENVENISTE et al., 1984).

Excitotoxicidade: o glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do cérebro. A estimulação neuronal excessiva por glutamato desencadeia um conjunto de eventos patológicos conhecidos como excitotoxicidade (CHOI, 1992). O processo excitotóxico inclui uma sobrecarga intracelular de cálcio e sódio através da ativação dos receptores glutamatérgicos ionotrópicos, resultando na ativação deletéria de vias enzimáticas que em última instância leva à morte celular (OLNEY et al., 1986; SATTLER e TYMIANSKI, 2000). Fisiologicamente, o excesso de glutamato na fenda sináptica é evitado por um sistema de recaptação astrocitário (ANDERSON e SWANSON, 2000). Imediatamente após o TCE, ocorre um aumento nos níveis extracelulares de glutamato que pode durar de minutos a dias (OBRENOVITCH e URENJAK, 1997). Com base nesses achados, foi cogitado que excitotoxicidade seria um mecanismo importante na lesão secundária. De fato, muitas drogas que limitam a neurotransmissão glutamatérgica mostraram resultados positivos em modelos animais (SMITH et al., 1993; RAO et al., 2001; KUO et al., 2007). Ensaios clínicos com antagonistas glutamatérgicos, no entanto, não foram bem sucedidos (JAIN, 2008). As causas hipotéticas para o aumento do glutamato após TCE são variadas: vazamento decorrente da mecanoporação, entrada do aminoácido a partir do plasma devido à quebra da barreira hematoencefálica, excitose excessiva associada à despolarização anômala, e alterações na expressão dos transportadores do aminoácido nos astrócitos (YI e HAZELL, 2006).

Inflamação: o TCE desencadeia uma ampla resposta inflamatória no cérebro. Logo após o trauma, a micróglia se torna ativada, iniciando fagocitose e secreção de citocinas inflamatórias (ENGEL et al., 2000; KOSHINAGA et al., 2007). A ativação microglial pode durar de meses a anos (GENTLEMAN et al., 2004; NAGAMOTO-COMBS et al., 2007). Quimiocinas secretadas pela glia promovem a migração de leucócitos dos vasos para o tecido cerebral (GHIRNIKAR et al., 1998; HOLMIN et al., 1998). A passagem dos leucócitos pela barreira hematoencefálica é mediada por mudanças na expressão de moléculas de adesão

celular (CARLOS et al., 1997; WHALEN et al., 1998). O acúmulo de leucócitos expande a atividade fagocítica e secreção de citocinas nos tecidos danificados, contribuindo para o desenvolvimento do edema cerebral (SCHOETTLE et al., 1990; WHALEN et al., 2000). Os astrócitos respondem ao trauma secretando mediadores inflamatórios e fatores de crescimento, e iniciando astrocitose reativa, um processo que inclui hipertrofia e hiperplasia (LAIRD et al., 2008). Fator de necrose tumoral- α , interleucina-1, interleucina-6 e proteínas do sistema complemento figuram como os mediadores inflamatórios mais estudados no TCE (GHIRNIKAR et al., 1998; BELLANDER et al., 2001; SCHMIDT et al., 2005). Alguns autores sugerem que danos focais e difusos têm perfis inflamatórios diferentes (MORGANTI-KOSSMANN et al., 2007).

Estresse oxidativo: o estresse oxidativo é uma via comum de vários mecanismos de dano tecidual durante a evolução do TCE. Disfunção vascular e edema cerebral são considerados causas de fenômenos de isquemia e reperfusão, onde há aumento na produção de radicais livres (BROWN et al., 1998; MUIZELAAR, 1993). Um conceito similar ao da penumbra isquêmica do acidente vascular encefálico foi proposto para o TCE (ASTRUP et al., 1981; COLES et al., 2004; CUNNINGHAM et al., 2005). A "penumbra traumática" consistiria em áreas de tecido afetadas pelo trauma que estão sob isquemia, mas permanecem viáveis. Como na penumbra isquêmica, o estresse oxidativo seria um componente fisiopatológico importante da penumbra traumática (MUIZELAAR, 1993; BROUNS e DE DEYN, 2009). A sobrecarga de cálcio intracelular que acompanha o TCE modifica o gradiente eletroquímico da cadeia transportadora de elétrons, levando à disfunção mitocondrial e aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (LEWEN et al., 2000). Produção de radicais livres também ocorre durante o processo inflamatório e em consequência da ativação anômala de enzimas induzida pelo cálcio (ARUNDINE e TYMIANSKI, 2004; SCHMIDT et al., 2005). A quantidade excessiva de radicais livres

promove oxidação de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, resultando em danos ultraestruturais que levam à disfunção e morte celular. Esses fenômenos são mais intensos no período de horas a dias após o trauma. Um importante tipo de dano molecular produzido por estresse oxidativo em neurônios é a peroxidação lipídica. Na peroxidação lipídica, radicais livres reagem com fosfolipídeos de membrana produzindo radicais de ácidos graxos que por sua vez desestabilizam fosfolipídeos da vizinhança, gerando uma reação em cadeia. O fenômeno compromete a integridade da membrana alterando a fluidez, ancoragem de proteínas e permeabilidade (HALLIWELL e CHIRICO, 1993).

1.4 Seqüelas do TCE

As seqüelas do TCE são bastante heterogêneas e freqüentemente persistentes. Crises epilépticas, parestias, espasticidade e distúrbios da fala, coordenação, equilíbrio, sentidos especiais e sono são exemplos dessas seqüelas (KHAN et al., 2003). Uma condição extrema, porém rara, é o estado vegetativo persistente. Na última década, a literatura tem dado destaque para as perturbações cognitivas e psiquiátricas que seguem o TCE, em função da elevada prevalência e impacto na vida de pacientes e familiares (HIMANEN et al., 2006; SCHWARZBOLD et al., 2008; KREUTZER et al., 2009). Essas seqüelas podem não ser óbvias em uma avaliação mais superficial e muitas vezes ocorrem em indivíduos sem prejuízos neurológicos grosseiros, contribuindo para justificar a denominação do TCE como uma "epidemia silenciosa" (VAISHNAVI et al., 2009). Atualmente o conhecimento específico sobre a fisiopatologia e tratamento dessas síndromes é bastante limitado.

1.4.1 Prejuízos cognitivos

Na fase aguda do TCE, a alteração da consciência é acompanhada de perturbação cognitiva generalizada, na forma de *delirium* e amnésia pós-traumática. Mesmo após a

recuperação completa da consciência, que pode levar de minutos a meses dependendo da gravidade do trauma, uma proporção considerável de pacientes apresenta prejuízos cognitivos específicos. Esses prejuízos tendem a melhorar nos primeiros meses, mas podem persistir cronicamente, principalmente no TCE grave (VAKIL, 2005). Em amostras de TCE moderado e grave usualmente metade dos pacientes apresenta comprometimento cognitivo acentuado no longo prazo (KERSEL et al., 2001; VAKIL, 2005). No caso do TCE leve, estudos mostram resultados mais heterogêneos, com comprometimento cognitivo persistente afetando de 1 a 20% dos indivíduos (ARCINIEGAS et al., 2005; DIKMEN et al., 2009). Não existe um padrão claro para os prejuízos cognitivos após TCE, mas os domínios usualmente comprometidos são atenção, velocidade de processamento (MATHIAS e WHEATON, 2007), memória de trabalho (MCALLISTER et al., 1999) e função executiva (FORTIN et al., 2003). Em termos de neuroanatomia funcional, as explicações para esses prejuízos envolvem o acometimento de regiões específicas do cérebro que têm um papel conhecido em um determinado aspecto da cognição, como por exemplo, o córtex pré-frontal dorsolateral (DLPC) na função executiva ou o córtex orbitofrontal (OFC) na tomada de decisões (CUMMINGS, 1993; BECHARA et al., 2000). No entanto, o TCE é diferente de uma lesão cirúrgica delimitada, freqüentemente envolvendo danos difusos ou em áreas remotas ao ponto de impacto. Além disso, a lesão secundária se estende por um período muito além daquele em que cérebro é submetido à força mecânica. Desse modo, mecanismos adicionais têm sido sugeridos para explicar os prejuízos cognitivos após TCE. Exemplos desses mecanismos são perda neuronal e alterações na eletrofisiologia do hipocampo (CHEN et al., 1996; WITGEN et al., 2005), perturbação na formação de potenciação de longo prazo (SCHWARZBACH et al., 2006), disfunção na neurotransmissão dopaminérgica e colinérgica (ARCINIEGAS, 2003; GORMAN et al., 1996; BALES et al., 2009), toxicidade por acúmulo de β -amilóide (IWATA et al., 2002; LOANE et al., 2009), entre outros.

1.4.2 Transtornos psiquiátricos

Em comparação com outros tipos de seqüelas, é mais difícil estabelecer uma relação causal entre TCE e síndromes psiquiátricas. Prejuízos motores e cognitivos, por exemplo, surgem precocemente na evolução do TCE e não ocorrem na população geral sem causas aparentes. Já os transtornos psiquiátricos na população geral constituem entidades nosológicas independentes que usualmente não são concomitantes a danos cerebrais grosseiros. Mesmo assim, uma quantidade substancial de evidências indica que o TCE é capaz de causar diretamente síndromes psiquiátricas (ROSENTHAL et al., 1998; VAN REEKUM et al., 2000; KIM et al., 2007; SCHWARZBOLD et al., 2008). Evidências também sugerem que o TCE aumenta o risco de transtornos psiquiátricos no longo prazo (ACHTE et al., 1991; KOPONEN et al., 2002; HOLSINGER et al., 2002). Os transtornos psiquiátricos pós-TCE mais comuns são depressão, transtornos de ansiedade, alterações de personalidade e psicose (KIM et al., 2007; SCHWARZBOLD et al., 2008). A **Tabela 2** mostra as taxas de prevalência e os principais fatores associados a esses transtornos. Os pacientes afetados com freqüência não têm história psiquiátrica e apresentam idade de início e sintomas atípicos em relação aos transtornos primários. Depressão, transtornos de ansiedade e psicose têm sido descritos após períodos variáveis de latência, afetando indivíduos com trauma de diferentes gravidades (JORGE et al., 2004; HIOTT e LABBATE, 2002; ZHANG e SACHDEV, 2003). As alterações de personalidade, incluindo sintomas de apatia, desinibição comportamental, agressividade e labilidade afetiva, parecem seguir um perfil mais parecido com o dos prejuízos cognitivos, surgindo precocemente após TCE severo (PELEGRIN-VALERO et al., 2001; GOLDEN e GOLDEN, 2003).

Tabela 2. Prevalência e fatores associados aos principais transtornos psiquiátricos após traumatismo crânio-encefálico. Adaptado de Schwarzbald et al. (2008).

Depressão

Prevalência 7,1 a 36%
 Co-morbidade com ansiedade, agressividade
 Problemas psicossociais
 Mais prejuízos cognitivos
 Danos no DLPC, OFC, córtex cingulado anterior, hipocampo

Mania

Prevalência 9%
 Co-morbidade com agressividade, convulsões
 Danos na região basotemporal

Transtorno do estresse pós-traumático

Prevalência 5,6 a 18,2%
 Co-morbidade com depressão, dor crônica
 TCE leve como um fator de risco
Fatores protetores:
 Período mais longo de amnésia pós-traumática
 Danos no córtex pré-frontal, amígdala

Transtorno obsessivo-compulsivo

Prevalência 1 a 4,7%
 Em crianças e adolescentes: problemas psicossociais, sexo feminino
 Danos no lobo temporal anterior, córtex pré-frontal

Psicose

Prevalência 0,1 a 9,8%
 História familiar
 Maior gravidade de TCE
 Predominância de sintomas positivos
 Danos no lobo frontal, lobo temporal

Alterações de personalidade

Incluem apatia, desinibição comportamental, agressividade e labilidade afetiva
 Prevalência em sobreviventes de TCE severo de aproximadamente 60%
 Maior gravidade de TCE
 Comprometimento do funcionamento social
 Danos no lobo frontal

O conhecimento sobre a fisiopatologia dos transtornos psiquiátricos pós-TCE é incipiente, e suas relações com os mecanismos da lesão primária e secundária são pouco conhecidas. É possível conjecturar que mecanismos envolvidos nos prejuízos cognitivos também contribuam na gênese dos transtornos psiquiátricos pós-TCE, mas evidências diretas são escassas. As informações atualmente disponíveis sobre a fisiopatologia dos transtornos psiquiátricos pós-TCE foram fornecidas essencialmente por estudos de neuroimagem, que em conjunto, sugerem um comprometimento do córtex pré-frontal e áreas límbicas do lobo temporal (JORGE et al., 1993; KOENIGS et al., 2008; CHEN et al., 2008).

1.5 Modelos animais de TCE

Muito do que se conhece sobre a fisiopatologia do TCE provém de estudos pré-clínicos. Inúmeras metodologias têm sido utilizadas para modelar os diferentes aspectos do TCE em laboratório. A biomecânica da colisão da cabeça pode ser abordada por protocolos não-biológicos como, como por exemplo, modelos matemáticos ou em gel (VOO et al., 1996; ZHANG et al., 2007). Protocolos *in vitro* podem ser empregados no estudo do estiramento axonal e início da lesão secundária (BARBEE, 2005; GEDDES-KLEIN et al., 2006). No entanto, os modelos animais são os mais utilizados, pois proporcionam oportunidades ímpares no estudo da fisiopatologia e tratamento do TCE. A pesquisa dos mecanismos da lesão primária com frequência emprega modelos com primatas não-humanos devido a suas similaridades anatômicas com os humanos (OMMAYA e HIRSCH, 1971; GENNARELLI et al., 1981; VANDER VORST et al., 2007). Mais recentemente, o reconhecimento do papel da lesão secundária na fisiopatologia do TCE acompanhou-se de uma expansão da pesquisa, levando à necessidade de modelos que empregassem animais mais amplamente disponíveis e de manejo mais fácil, tais como roedores. Outra vantagem dos roedores é a possibilidade do

uso de camundongos geneticamente modificados, permitindo o estudo do papel de genes específicos no TCE (SCHERBEL et al., 1999; NATHOO et al., 2003).

Os modelos de TCE mais utilizados na atualidade são o de impacto cortical controlado, percussão por fluido, queda de peso e aceleração por impacto (MORALES et al., 2005) (**Figura 4**). O modelo do impacto cortical controlado consiste na trepanação do crânio seguida do impacto direto no córtex de um pistão de metal impulsionado pneumáticamente (DIXON et al., 1991). O modelo da percussão por fluido também envolve a trepanação craniana, mas o impacto é realizado por um jato de fluido em alta velocidade (DIXON et al., 1987). O modelo de queda de peso consiste no impacto direto sobre o crânio de um projétil guiado em queda livre (FEENEY et al., 1981; FLIERL et al., 2009). No modelo de aceleração por impacto, um projétil em queda livre também é utilizado, mas o crânio é protegido por uma placa de metal e o animal é posicionado sobre uma superfície elástica, privilegiando a ocorrência de dano por forças inerciais (MARMAROU et al., 1994). Cada modelo tem características específicas, como por exemplo, facilidade de implementação, predomínio de dano focal ou difuso e diferentes taxas de mortalidade (MORALES et al., 2005). O modelo de queda de peso já foi apontado como um dos que mais se aproximam da realidade clínica (FLIERL et al., 2009). Nenhum modelo, no entanto, é considerado capaz de reproduzir amplamente os aspectos conhecidos da clínica do TCE em termos de manifestações aparentes, mecanismos e resposta aos tratamentos (isto é, validade de face, de construto e preditiva, respectivamente) (LAURER e MCINTOSH, 1999).

Além do estudo dos mecanismos de lesão primária e secundária, modelos animais também têm sido utilizados na investigação das seqüelas tardias do TCE. O trauma experimental é capaz de induzir prejuízos cognitivos e da função sensório-motora em roedores. Essas alterações têm sido utilizadas como medidas de resultado na literatura desde o estabelecimento dos modelos. Os protocolos mais empregados para avaliação da função

sensorio-motora são os escores neurológicos e os testes de equilíbrio e marcha em barras. Os testes mais empregados para avaliação da cognição são os labirintos de Lashley III, de Barnes, radial de 8 braços e principalmente o labirinto aquático de aquático de Morris (FUJIMOTO et al., 2004). A avaliação de parâmetros de emocionalidade após TCE experimental é recente na literatura. Os poucos estudos disponíveis têm mostrado alterações no comportamento tipo-ansioso e depressivo (TAYLOR et al., 2006; SHAPIRA et al., 2007; TWEEDIE et al., 2007; MILMAN et al., 2008; JONES et al., 2008; PANDEY et al., 2009). No entanto, a maioria dos estudos investigou exclusivamente o trauma de gravidade leve, e alguns deles mostraram resultados relativamente contraditórios para um mesmo paradigma (JONES et al., 2008; PANDEY et al., 2009).

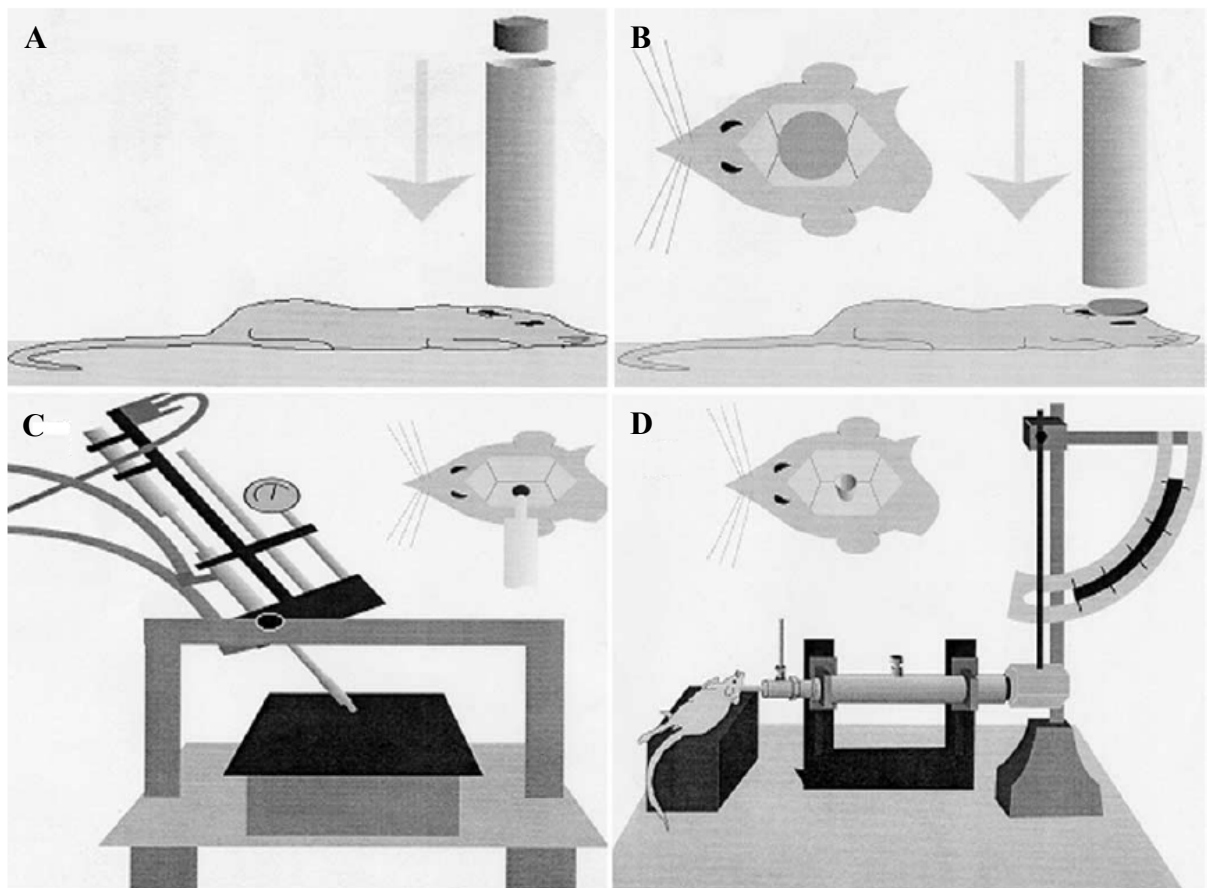


Figura 4. Principais modelos animais de traumatismo crânio-encefálico utilizados na atualidade. (A) Queda de peso. (B) Aceleração por impacto. (C) Impacto cortical controlado. (D) Percussão por fluido. Adaptado de Morales et al. (2005).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Caracterizar um modelo de TCE experimental por queda de peso em camundongos utilizando parâmetros comportamentais com ênfase em emocionalidade e cognição, e parâmetros de estresse oxidativo.

2.2 Objetivos específicos

- Aprimorar um aparato capaz de induzir TCE em camundongos com projéteis de diferentes massas de modo prático, preciso e consistente.
- Avaliar o estado neurológico dos animais na fase aguda do trauma através de metodologia específica, definindo a capacidade do modelo em produzir diferentes gravidades de trauma.
- Após fase aguda, avaliar os efeitos do TCE experimental sobre parâmetros de emocionalidade e cognição através de paradigmas comportamentais amplamente reconhecidos.
- Avaliar os efeitos do TCE experimental sobre parâmetros de estresse oxidativo em córtex e hipocampo, em diferentes períodos após o trauma.
- Realizar uma análise histológica qualitativa do cérebro dos animais.
- Iniciar uma linha de pesquisa em TCE experimental junto ao Núcleo de Pesquisas em Neurologia Clínica e Experimental e ao Laboratório Experimental de Doenças Neurodegenerativas da Universidade Federal de Santa Catarina.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados camundongos da linhagem swiss machos de 3 a 5 meses de idade pesando entre 30 e 40 g provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. Os animais foram mantidos no biotério setorial sob temperatura controlada ($23 \pm 1^\circ$ C) em ciclo de luz de 12 h, com comida e água à vontade, em um número máximo de 20 animais por caixa. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (PP00362, 23080.025622/2009-40).

3.3 TCE experimental

O TCE experimental foi induzido através de um modelo de queda de peso. O aparato, inicialmente desenvolvido junto à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, foi aprimorado no presente estudo (**Figura 5**). Cada camundongo foi anestesiado com isoflurano inalatório (0,96%; Laboratórios Abbott, SP, São Paulo) e posicionado manualmente sobre uma superfície emborrachada sob um cano vertical de 120 cm de comprimento. Um projétil de alumínio foi solto em queda livre através do tubo, provocando um impacto direto na região frontoparietal esquerda. A superfície de contato do projétil era plana, livre de irregularidades, com 3 mm de diâmetro. Um feixe luminoso indicou o local do impacto. As massas dos projéteis (10 g, 12,5 g e 15 g) definiram os grupos experimentais. Imediatamente após o impacto, cada animal recebeu oxigênio (100%, 5 l por min via máscara para roedores) até recuperação espontânea da respiração. A seguir, analgesia foi realizada através da administração de fentanil (0,05 mg/kg inicial seguido de 0,01 mg/kg a cada 12 h por 72 h, i. p.; Janssen-Cilag Farmacêutica, SP, São Paulo), conforme descrito na literatura do modelo de

queda de peso (FLIERL et al., 2009) e requisitado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais. Os animais controle foram submetidos a todos os procedimentos, exceto o impacto do projétil.

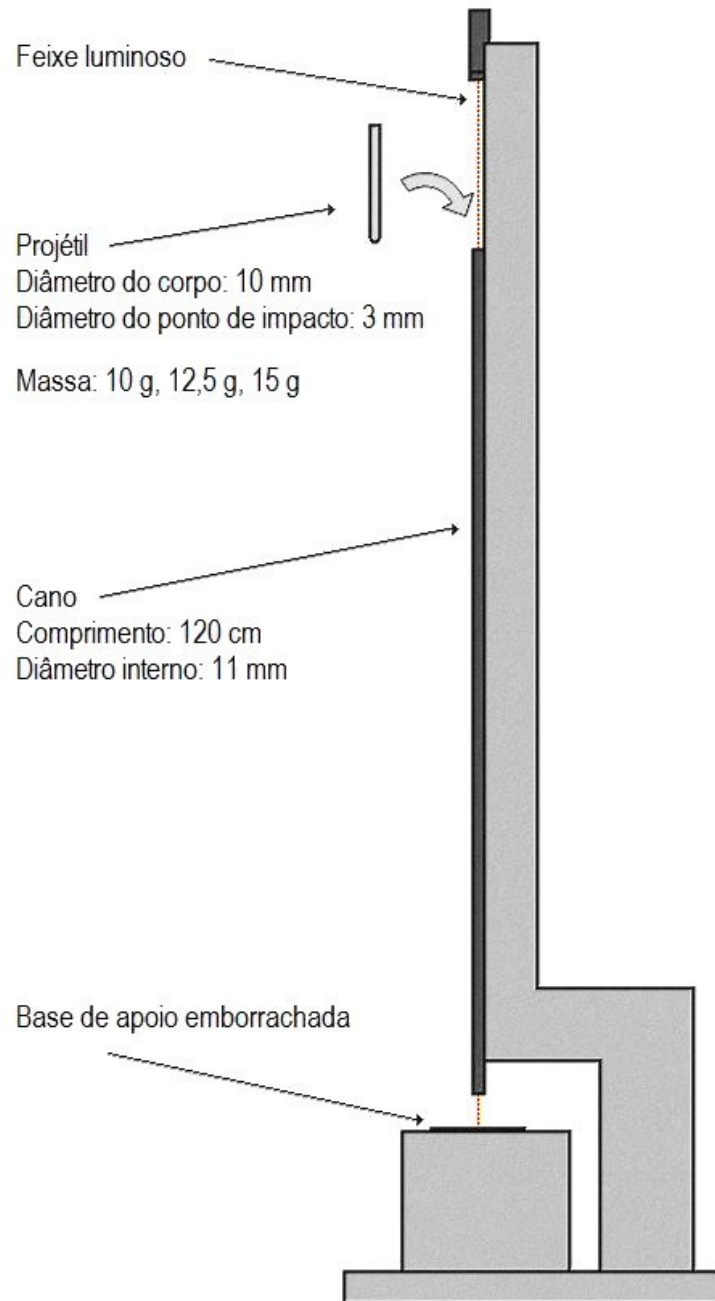


Figura 5. Aparato de traumatismo crânio-encefálico experimental.

3.2 Visão geral dos experimentos

A **Tabela 3** descreve a cronologia dos experimentos. Uma hora após o trauma os animais foram submetidos à avaliação neurológica. Após 10 dias de recuperação em condições normais, os animais iniciaram uma bateria de testes comportamentais (**Figura 6**). Os testes foram realizados sob filmagem em uma sala de baixa luminosidade (12 lux) e baixo ruído. A ordem dos testes foi do menos aversivo ao mais aversivo, com um intervalo de 24 h entre cada um, objetivando a minimização de interferências (MCILWAIN et al., 2001; PAYLOR et al., 2006). Ao final da bateria comportamental, os animais foram perfundidos e o cérebro foi retirado para análise histológica. A avaliação da sensibilidade ao choque foi realizada em um grupo independente de animais. Também em grupos independentes de animais, córtex e hipocampo foram dissecados nos períodos de 2 h, 24 h e 14 dias após o trauma, para mensuração de parâmetros de estresse oxidativo.

Tabela 3. Cronologia dos experimentos.

Experimento	Período
Traumatismo crânio-encefálico experimental.....	0
Escore neurológico de severidade.....	1 h
<i>Bateria de testes comportamentais</i>	
Teste do campo aberto.....	10 dias
Teste do labirinto em cruz elevado.....	11 dias
Teste do nado forçado.....	12 dias
Teste da suspensão pela cauda.....	13 dias
Esquiva inibitória do tipo step down.....	14 dias
Perfusão para análise histológica.....	15 dias
Teste da sensibilidade ao choque.....	14 dias
Retirada do córtex e hipocampo	
para medidas de estresse oxidativo.....	2 h
	24 h
	14 dias

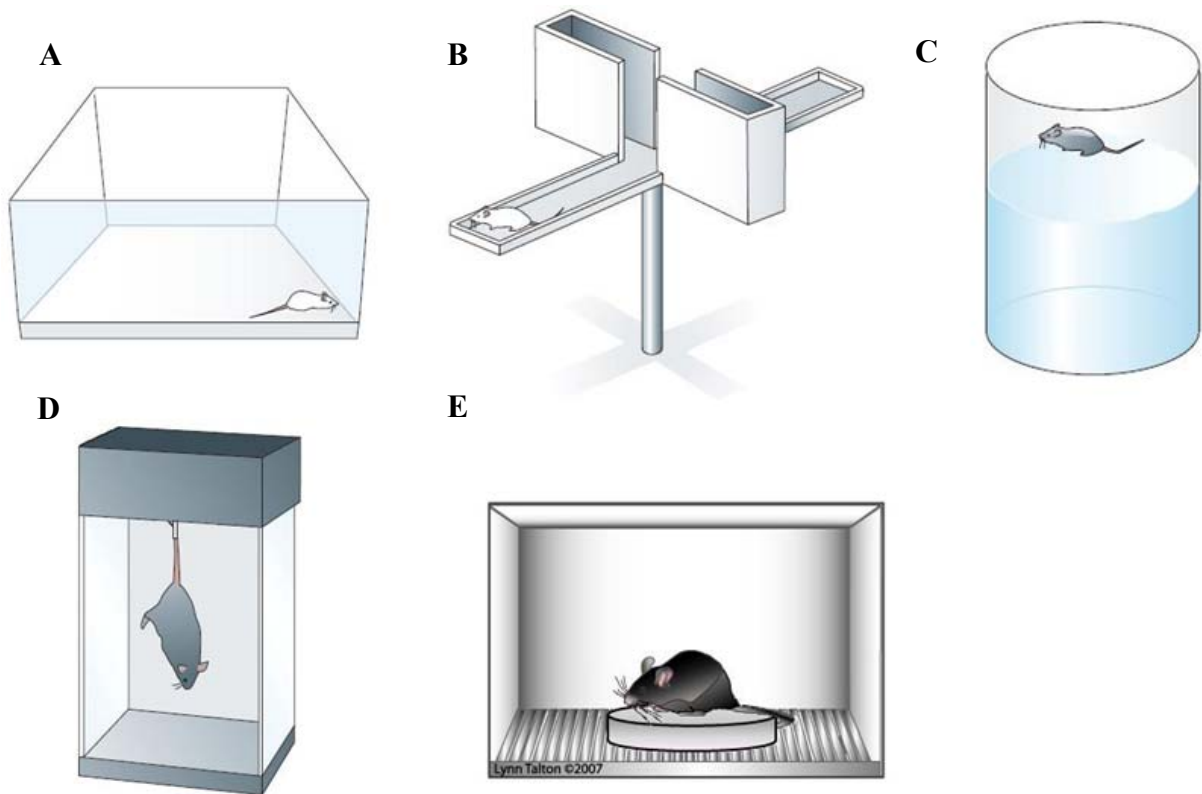


Figura 6. Ilustração da bateria de testes comportamentais. (A) Teste do campo aberto. (B) Teste do labirinto em cruz elevado. (C) Teste do nado forçado. (D) Teste da suspensão pela cauda. (E) Esquiva inibitória do tipo step down. Adaptado de Cryan e Holmes (2005), e Talton (2007).

3.4 Avaliação neurológica

Uma hora após o trauma, os camundongos foram avaliados através do escore neurológico de severidade (NSS). Trata-se de uma escala de avaliação comportamental bastante utilizada para medir o estado neurológico geral de camundongos no contexto do TCE experimental (STAHEL et al., 2000). O teste é realizado em um aparato específico descrito na literatura (FLIERL et al., 2009). Trata-se de um círculo plástico (diâmetro 30 cm, altura 20 cm) com uma abertura de saída (5 x 5 cm), e um conjunto de traves paralelas de diferentes larguras, posicionadas a 20 cm do chão ligando duas plataformas (**Figura 7**). Os parâmetros avaliados no NSS estão descritos na **Tabela 4**. Para cada item, uma resposta positiva vale 1 ponto, e uma resposta negativa vale 0 ponto. Uma maior pontuação total no NSS indica um maior comprometimento neurológico, até o máximo de 10 pontos. Os camundongos que

tiveram NSS de 9 ou 10 foram imediatamente sacrificados. Esse procedimento está descrito na literatura do modelo de queda de peso como medida de limitação de sofrimento (FLIERL et al., 2009), tendo sido requisitado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais.

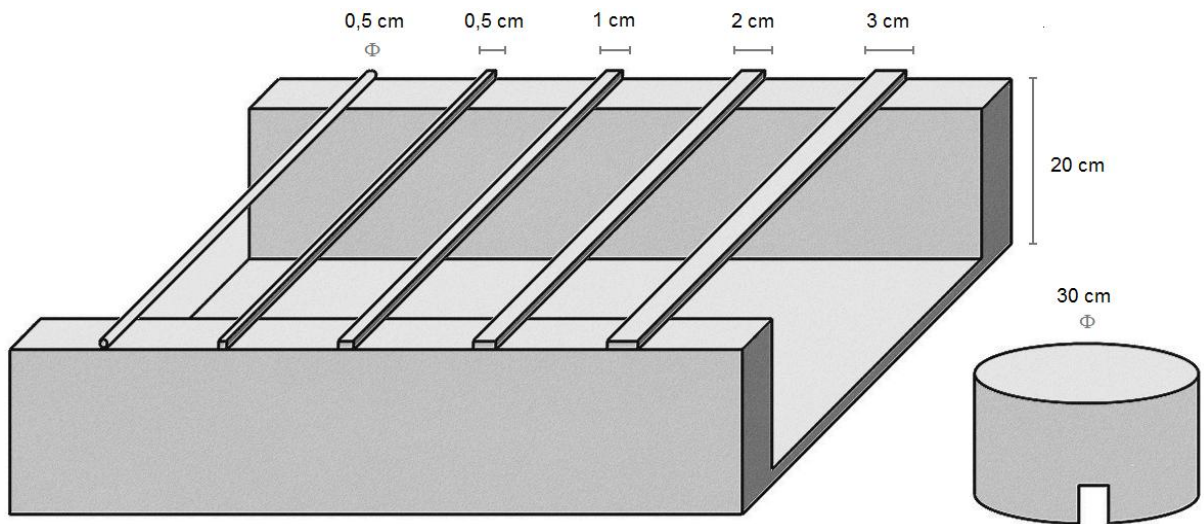


Figura 7. Aparato utilizado na avaliação do escore neurológico de severidade.

Tabela 4. Parâmetros avaliados no escore neurológico de severidade (NSS).

-
1. Presença de paresia
 2. Inabilidade em andar em linha reta
 3. Perda do comportamento exploratório
 4. Falha em sair do círculo (até 3 min)
 5. Inabilidade em andar na trave de 3 cm (até 2 min)
 6. Inabilidade em andar na trave de 2 cm (até 2 min)
 7. Inabilidade em andar na trave de 1 cm (até 2 min)
 8. Inabilidade em se equilibrar na trave 0,7 cm (até 10 s)
 9. Inabilidade em se equilibrar na trave redonda (até 10 s, 3 tentativas)
 10. Perda do reflexo de sobressalto
-

3.5 Teste do campo aberto

Para mensurar possíveis alterações locomotoras associadas ao TCE experimental, foi utilizado o paradigma do campo aberto. O teste foi realizado 10 dias após o trauma, empregando metodologia padrão do laboratório (RIAL et al., 2009). O aparato do teste consiste em uma arena acrílica de chão cinza (30 x 30 cm) e paredes transparentes. Cada camundongo foi colocado no centro da arena e explorou livremente o aparato durante 5 min. As filmagens foram analisadas através do software ANY-Maze® (Stoelting Co., Wood Dale, IL, Estados Unidos) para determinação dos parâmetros de distância percorrida, entradas na região central da arena, e tempo de permanência na região central da arena. O parâmetro de comportamento de levantar foi avaliado visualmente.

3.6 Teste do labirinto em cruz elevado

O paradigma do labirinto em cruz elevado é um protocolo reconhecido para avaliação dos efeitos ansiolíticos e ansiogênicos de fármacos e procedimentos (LISTER, 1987). O teste foi realizado 11 dias após o trauma, utilizando metodologia padronizada (RIAL et al., 2009). O aparato consistiu em um labirinto de madeira recoberto por fórmica preta, composto por dois braços (18 x 6 cm) opostos fechados, isto é, cercados de paredes, e dois braços opostos abertos, unidos por uma plataforma elevada a 60 cm do chão. Cada camundongo foi colocado na plataforma com a cabeça voltada para um braço fechado e explorou livremente o aparato durante 5 min. As filmagens foram analisadas visualmente. O número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos e fechados foram usados para o cálculo das porcentagens de entradas e permanência em braço aberto. Uma maior exploração dos braços abertos é considerada indicativa de menor ansiedade. O número de entradas em braço fechado é a medida de locomoção do teste.

3.7 Teste do nado forçado

O teste do nado forçado é um método clássico para avaliação de desespero comportamental em roedores (PORSOLT et al., 1977). Nos paradigmas de desespero comportamental, os animais mostram um presumido comportamento tipo-depressão quando submetidos a uma situação aversiva inescapável. O teste foi realizado 12 dias após o trauma, conforme metodologia previamente descrita (ZOMKOWSKI et al., 2004). O aparato consistiu em um tubo plástico (diâmetro 10 cm, altura 25 cm), preenchido com água a $25 \pm 1^\circ \text{C}$ até 19 cm. Cada camundongo foi forçado a nadar no tubo por 6 min. O comportamento tipo-depressão é o tempo de imobilidade, definido pela ausência de nado ativo, quando o animal faz apenas os movimentos necessários para manter a cabeça sobre a água.

3.8 Teste da suspensão pela cauda

O teste da suspensão pela cauda também se baseia no paradigma do desespero comportamental (STERU et al., 1985). O teste foi realizado 13 dias após o trauma, utilizando metodologia padronizada (CUNHA et al., 2008). Cada camundongo foi suspenso pela cauda a 50 cm do chão durante 6 min, através de uma fita adesiva aplicada de modo suave. O comportamento tipo-depressão é o tempo de imobilidade, definido pela ausência de movimentos ativos, quando o animal permanece apenas suspenso passivamente.

3.9 Esquiva inibitória do tipo step down

A esquiva inibitória do tipo step down é um paradigma de condicionamento aversivo no qual o roedor aprende a associar a descida de uma plataforma com um choque elétrico leve nas patas. O teste foi realizado 14 e 15 dias após o trauma, utilizando metodologia previamente descrita (RIAL et al., 2009). O aparato consiste em uma caixa acrílica (50 x 25 x 25 cm) com chão formado por uma grade de barras metálicas paralelas com 0,1 cm de

diâmetro cada, separadas em 1 cm. Uma plataforma acrílica (10 x 10 x 2 cm) foi posicionada firmemente sobre o chão em grade. Na sessão de treino, cada camundongo foi colocado sobre a plataforma e o tempo para descida na grade foi anotado. Quando o animal colocou as quatro patas sobre a grade, um choque elétrico de 0,3 mA com duração de 2 s foi aplicado nas patas. As sessões de teste foram realizadas em 1,5 e 24 h após o treino. Cada camundongo foi colocado na plataforma e o tempo para descida foi anotado, até um limite de 180 s. Nas sessões de teste não foi aplicado choque. A retenção de memória é medida pela comparação do tempo para descida da plataforma entre as sessões de treino e testes.

3.10 Teste da sensibilidade ao choque

O limiar de sensibilidade ao choque foi avaliado em um grupo independente de camundongos 14 dias após o trauma, utilizando metodologia similar à descrita previamente (REISS et al., 2008), com modificações. O mesmo aparato da esquiva inibitória do tipo step down foi utilizado, sem a plataforma. Cada animal foi colocado sobre a grade e, após um período de ambientação de 2 min, foram aplicados choques consecutivos em um nível crescente de intensidade. Os choques duraram 2 s e iniciaram em 0,1 mA, aumentando em 0,1 mA a cada 30 s. Três padrões comportamentais de resposta foram avaliados: correr, pular e vocalizar. O choque máximo foi definido como aquele capaz de induzir vocalização, até um teto de 0,5 mA.

3.11 Análise histológica qualitativa

Após completarem os testes comportamentais 15 dias após o TCE experimental, 3 animais de cada grupo foram escolhidos aleatoriamente para perfusão. Cada camundongo foi anestesiado com hidrato de cloral (400 mg/kg, i. p.) e perfundido por via transcardíaca com solução salina 0,9%, seguida de tampão de fosfato contendo paraformaldeído 4% em solução.

Os cérebros foram removidos e mantidos nessa última solução durante 24 h. O hemisfério direito (contralateral ao trauma) foi marcado com nanquim para posterior identificação. Os cérebros foram seccionados na altura da região central do hipocampo, processados com técnicas histológicas padrão, embebidos em parafina e submetidos à microtomia para obtenção de cortes de 5 μm de espessura. Os cortes foram montados em lâminas, desparafinizados, corados com técnica padrão de hematoxilina-eosina e analisados em por microscopia de luz (Nikon Eclipse 50i, Nikon Inc., New York, NY, Estados Unidos).

3.12 Mensuração de parâmetros de estresse oxidativo

Grupos independentes de camundongos foram sacrificados nos períodos de 2 h, 24 h e 14 dias após TCE experimental. Para cada animal, córtex e hipocampo esquerdo e direito foram dissecados separadamente para mensuração dos seguintes parâmetros relacionados a estresse oxidativo:

Níveis de glutathiona reduzida (GSH) na forma de tióis não-protéicos (NPSH): as amostras foram misturadas com ácido tricloroacético 10% e centrifugadas a 16000 x g por 10 min. O sobrenadante ácido foi adicionado em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0) e DTNB 10 mM. O resultante da reação (90% GSH) foi monitorado por medida de absorbância em 405 nm (ELLMAN, 1959).

Níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS): as atividades enzimáticas e os produtos de peroxidação lipídica foram determinados por espectrofotometria no sobrenadante dos homogenatos centrifugados a 20000 x g por 30 min a 4° C contendo tampão de HEPES a 20 mM (pH 7,4). As TBARS foram mensuradas pelo método de Ohkawa et al. (1979), no qual o MDA, um produto da peroxidação de ácidos graxos, reage com ácido tiobarbitúrico. Os valores foram determinados pelo coeficiente de absorbância do complexo MDA-ácido tiobarbitúrico em 532 nm.

Ensaio enzimático: a atividade da glutathiona redutase (GR) foi determinada pelo método de Carlberg and Mannervik (1985). O consumo de NADPH na redução do GSSG foi medido por espectrofotometria a 340 nm. A atividade da glutathiona peroxidase (GPx) foi medida pelo método de Wendel (1981), utilizando tert-butil hidroperóxido como substrato. O desaparecimento do NADPH foi monitorado por espectrofotometria a 340 nm. As proteínas foram quantificadas utilizando albumina de soro bovino como padrão (BRADFORD, 1976).

3.13 Análise estatística

Os dados não-paramétricos foram analisados através do teste de Kruskal-Wallis seguido por análise *post hoc* com o teste de Dunn ou Wilcoxon, quando apropriado. Os dados paramétricos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida por análise *post hoc* com o teste de Newman-Keuls ou Tukey, quando apropriado. O softwares empregados foram o GraphPad Prism 4 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, Estados Unidos).

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação neurológica

Até 1 h após o trauma foram observadas as seguintes taxas de mortalidade: grupo controle 0%, grupo 10 g 9%, grupo 12,5 g 51,2% e grupo 15 g 72,2%. Os animais que sobreviveram realizaram o NSS (**Figura 8**). O grupo 12,5 g teve um escore significativamente maior que o grupo controle, e o grupo 15 g teve um escore significativamente maior que os grupos controle e 10 g [Kruskal-Wallis test ($P < 0,0001$), *post hoc* Dunn; n = mínimo de 17 animais por grupo; medianas: grupo controle 1,0, grupo 10 g 1,5, grupo 12,5 g 4,0 e grupo 15 g 8,0]. As seguintes porcentagens de animais atingiram escore 9 ou 10 e foram excluídas

conforme descrito anteriormente: grupos controle e 10 g 0%, grupo 12,5 g 5,1% e grupo 15 g 6,9%. A mortalidade em período posterior à realização do NSS foi muito baixa (1,3% de todos os animais que morreram).

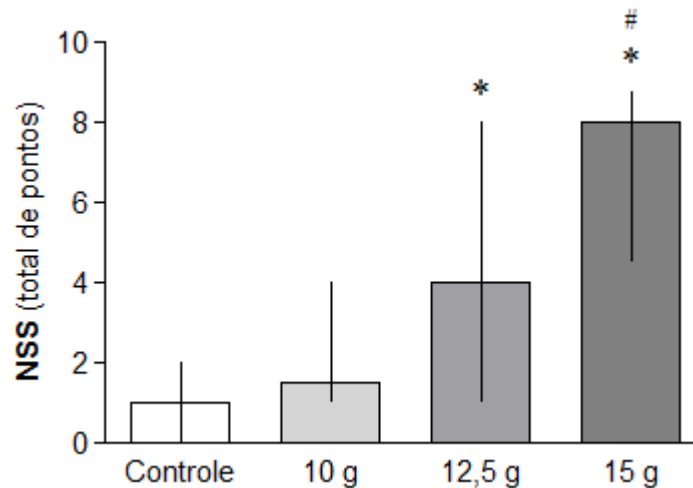


Figura 8. Efeitos do traumatismo crânio-encefálico experimental sobre o escore neurológico de severidade (NSS) em camundongos. O teste foi realizado 1 h após o trauma. Os dados estão representados por mediana e intervalo interquartil para o grupo controle e os grupos submetidos ao impacto com o projétil de 10 g, 12,5 g e 15 g. Um maior escore indica um maior comprometimento neurológico, até o máximo de 10 pontos. O grupo 12,5 g teve escore superior ao grupo controle, e o grupo 15 g teve escore superior aos grupos controle e 10 g (*post hoc* Dunn: * $P < 0,05$ vs. controle; # $P < 0,05$ vs. 10 g).

4.2 Teste do campo aberto

A **Figura 9** mostra os resultados do teste do campo aberto. O grupo 15 g percorreu uma distância total maior que os demais grupos [ANOVA de uma via ($F(3, 45) = 4.72$, $P = 0.006$), *post hoc* Newman-Keuls; $n =$ mínimo de 9 animais por grupo]. Não houve diferença entre os grupos no comportamento de levantar, nos cruzamentos centrais e no tempo despendido no centro do campo aberto.

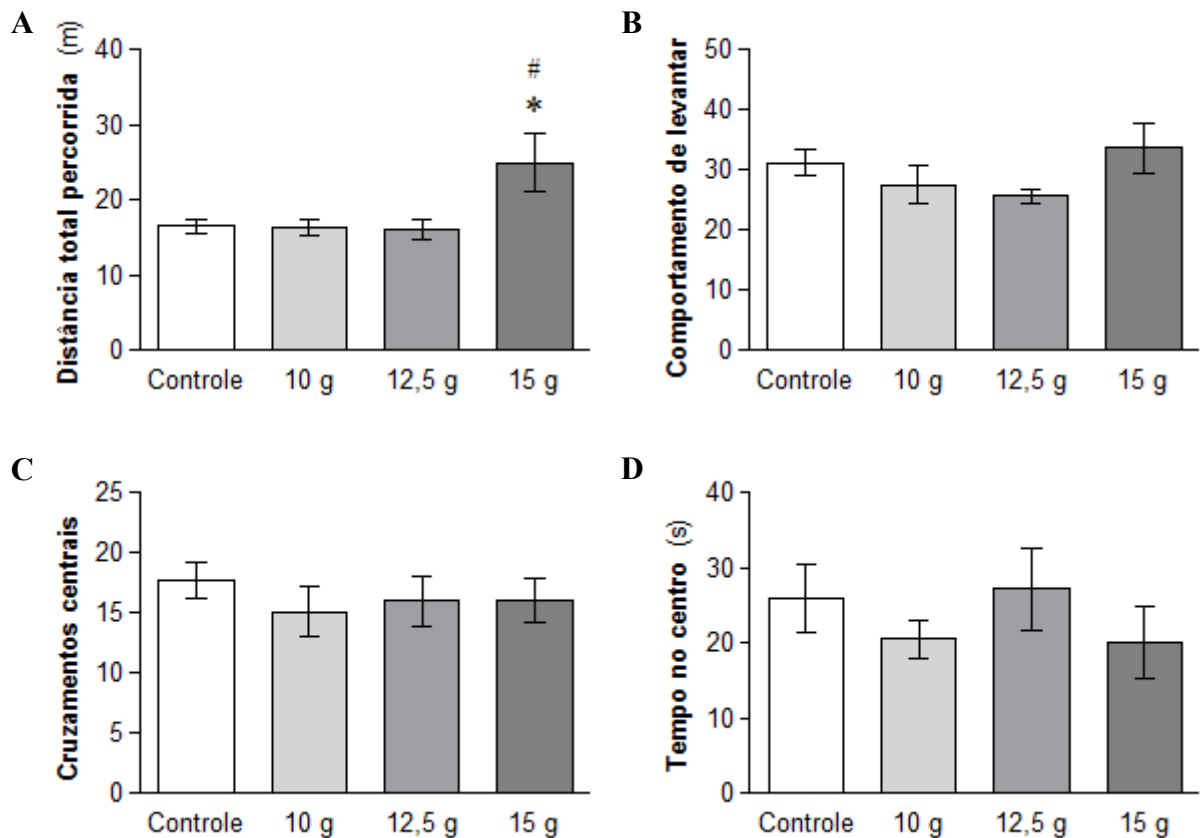


Figura 9. Efeitos do traumatismo crânio-encefálico experimental sobre o teste do campo aberto em camundongos. O teste foi realizado 10 dias após o trauma. Os dados estão representados por média \pm EPM para o grupo controle e os grupos submetidos ao impacto com o projétil de 10 g, 12,5 g e 15 g. (A) O grupo 15 g percorreu maior distância total que os demais grupos (*post hoc* Newman-Keuls: * $P < 0,05$ vs. controle; # $P < 0,05$ vs. 10 g e 12,5 g). (B), (C) e (D) Não houve diferença entre os grupos no comportamento de levantar, nos cruzamentos centrais e no tempo despendido no centro do campo aberto (*post hoc* Newman-Keuls: $P > 0,05$).

4.3 Teste do labirinto em cruz elevado

A **Figura 10** mostra os resultados do teste do labirinto em cruz elevado. O grupo 10 g apresentou menor porcentagem de entradas em braços abertos que os demais grupos [ANOVA de uma via ($F(3, 45) = 6.06, P = 0.0015$), *post hoc* Newman-Keuls; $n =$ mínimo de 9 animais por grupo]. O grupo 10 g também apresentou menor porcentagem de tempo despendido em braços abertos em relação aos grupos 12,5 g e 15 g [ANOVA de uma via ($F(3, 45) = 5.64, P = 0.0023$), *post hoc* Newman-Keuls]. O grupo 15 g apresentou mais entradas

em braços fechados que os demais grupos [ANOVA de uma via ($F(3, 45) = 5.64$, $P = 0.0009$), *post hoc* Newman-Keuls].

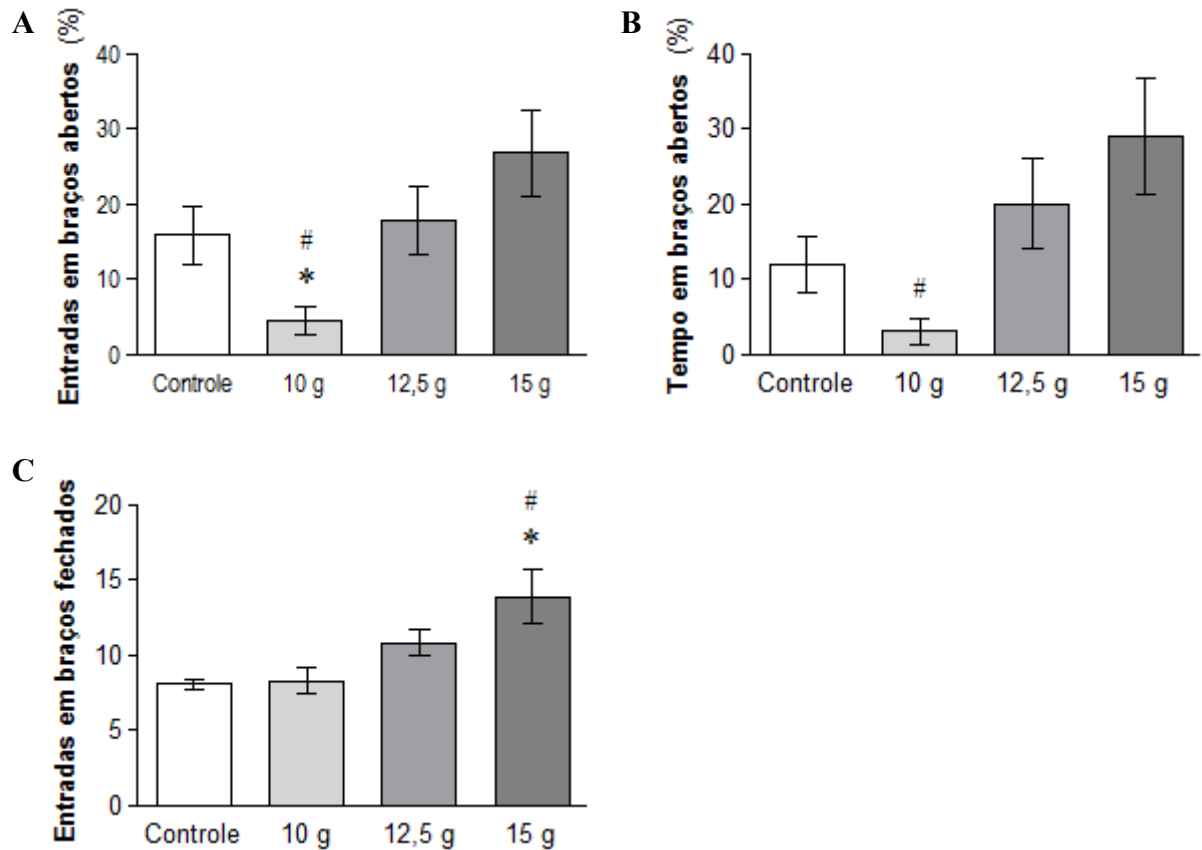


Figura 10. Efeitos do traumatismo crânio-encefálico experimental sobre o teste do labirinto em cruz elevado em camundongos. O teste foi realizado 11 dias após o trauma. Os dados estão representados por média \pm EPM para o grupo controle e os grupos submetidos ao trauma com projétil de 10 g, 12,5 g e 15 g. (A) O grupo 10 g apresentou menor porcentagem de entradas em braço aberto que os demais grupos (*post hoc* Newman-Keuls: * $P < 0,05$ vs. controle; # $P < 0,05$ vs. 12,5 g e 15 g). (B) O grupo 10 g apresentou menor porcentagem de tempo de permanência em braço aberto que os grupos 12,5 g e 15 g (*post hoc* Newman-Keuls: # $P < 0,05$ vs. 12,5 g e 15 g). (C) O grupo 15 g apresentou mais entradas em braço fechado que os demais grupos (*post hoc* Newman-Keuls: * $P < 0,05$ vs. controle; # $P < 0,05$ vs. 10 g e 12,5 g).

4.4 Teste do nado forçado

A **Figura 11** mostra os resultados do teste do nado forçado. Não houve diferença entre os grupos no tempo de imobilidade [ANOVA de uma via ($F(3, 43) = 1.20$, $P = 0.32$); $n = 12$ para controle, $n = 16$ para 10 g, $n = 12$ para 12,5 g, $n = 7$ para 15 g].

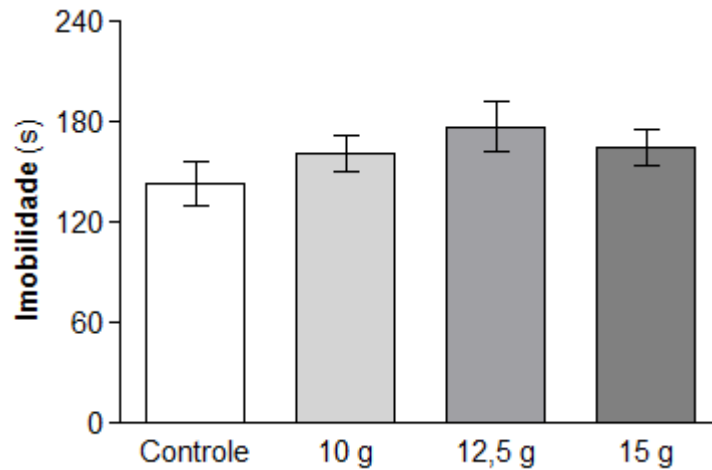


Figura 11. Efeitos do traumatismo crânio-encefálico experimental sobre o teste do nado forçado em camundongos. O teste foi realizado 12 dias após o trauma. Os dados estão representados por média \pm EPM para o grupo controle e os grupos submetidos ao trauma com projétil de 10 g, 12,5 g e 15 g. Não houve diferenças entre os grupos (*post hoc* Newman-Keuls: $P > 0,05$).

4.5 Teste da suspensão pela cauda

A **Figura 12** mostra os resultados do teste da suspensão pela cauda. O grupo 10 g apresentou maior tempo de imobilidade que os grupos controle e 12,5 g [ANOVA de uma via ($F(3, 33) = 5.69$, $P = 0.0029$), *post hoc* Newman-Keuls; $n =$ mínimo de 9 animais por grupo].

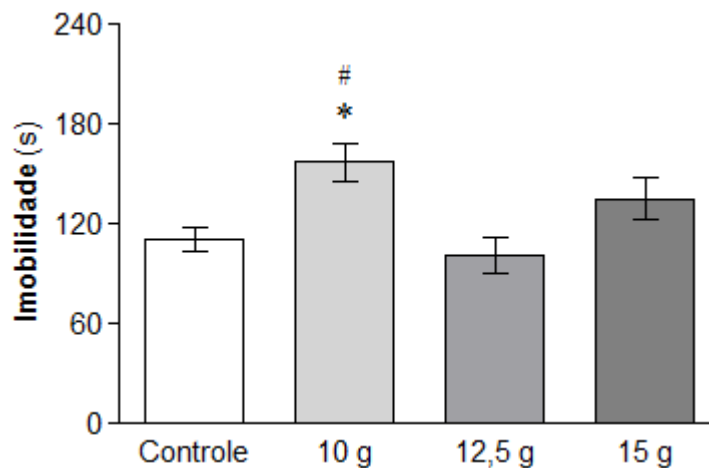


Figura 12. Efeitos do traumatismo crânio-encefálico experimental sobre o teste da suspensão pela cauda em camundongos. O teste foi realizado 13 dias após o trauma. Os dados estão representados por média \pm EPM para o grupo controle e os grupos submetidos ao trauma com projétil de 10 g, 12,5 g e 15 g. O grupo de 10 g apresentou maior tempo de imobilidade que os grupos controle e 12,5 g (*post hoc* Newman-Keuls: * $P < 0,05$ vs. controle; # $P < 0,05$ vs. 12,5 g).

4.6 Esquiva inibitória do tipo step down

A **Figura 13** mostra os resultados da esquiva inibitória do tipo step down. O grupo controle apresentou maior latência para descida da plataforma nas sessões de teste de 1,5 h e 24 h em relação à sessão de treino. O grupo 10 g teve um perfil similar. Os grupos 12,5 g e 15 g não apresentaram diferenças na latência para descida entre treino e testes [Kruskal-Wallis ($P < 0.0001$), *post hoc* Wilcoxon; n = mínimo de 8 animais por grupo].

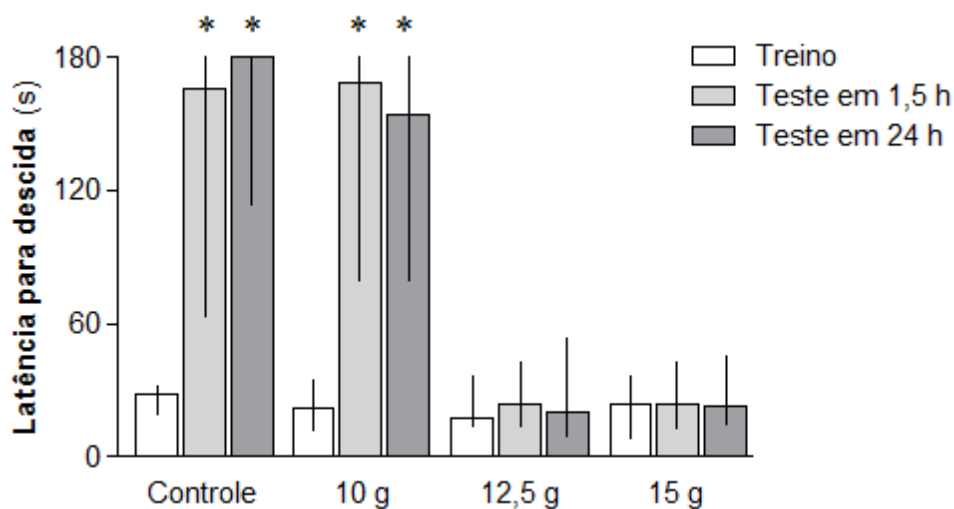


Figura 13. Efeitos do traumatismo crânio-encefálico experimental sobre a esquiva inibitória do tipo step down em camundongos. A testagem foi realizada 14 e 15 dias após o trauma. Os dados estão representados por mediana e intervalo interquartil para o grupo controle e os grupos submetidos ao impacto com o projétil de 10 g, 12,5 g e 15 g. Os grupos controle e 10 g apresentaram maior latência para descida da plataforma nos testes de 1,5 h e 24 h em relação ao treino (*post hoc* Wilcoxon: * $P < 0,05$ vs. treino no mesmo grupo). Os grupos 12,5 g e 15 g não apresentaram diferenças na latência para descida entre treino e testes (*post hoc* Wilcoxon: $P > 0,05$).

4.7 Teste da sensibilidade ao choque

A **Figura 14** mostra os resultados do teste da sensibilidade ao choque. Todos os grupos apresentaram um perfil similar nas diferenças de limiar de sensibilidade para os comportamentos de correr, pular e vocalizar [Kruskal-Wallis ($P < 0.0001$), *post hoc* Dunn; n = 7 para controle, n = 10 para 10 g, n = 9 para 12,5 g, n = 5 para 15 g]. Não houve diferenças entres os grupos para cada comportamento (*post hoc* Dunn: $P > 0,05$).

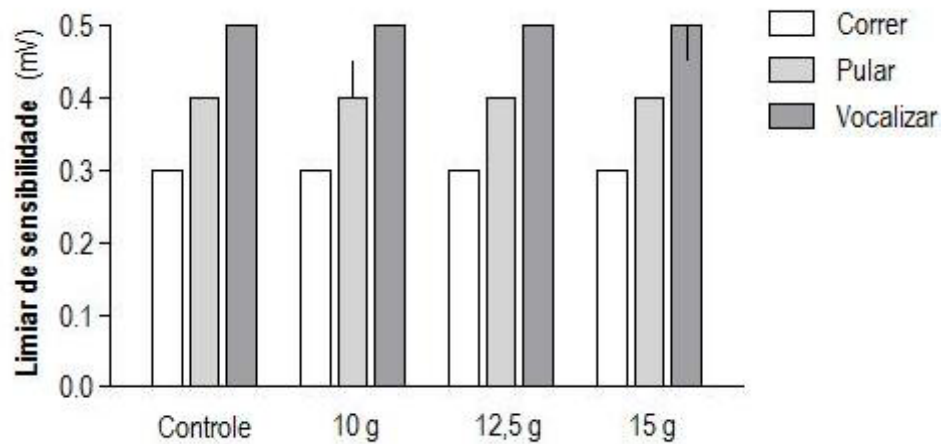


Figura 14. Efeitos do traumatismo crânio-encefálico experimental sobre o teste da sensibilidade ao choque em camundongos. O teste foi realizado 14 dias após o trauma. Os dados estão representados por mediana e intervalo interquartil para o grupo controle e os grupos submetidos ao impacto com o projétil de 10 g, 12,5 g e 15 g. Não houve diferença entre os grupos em relação ao limiar de sensibilidade ao choque para cada tipo de comportamento (correr, pular, vocalizar) (*post hoc* Dunn: $P > 0,05$).

4.8 Análise histológica qualitativa

A análise histológica qualitativa revelou que os encéfalos dos animais do grupo 10 g não apresentaram alterações histológicas aparentes, enquanto que os animais dos grupos 12,5 g e 15 g apresentaram extenso dano tecidual com perda da arquitetura normal do córtex cerebral. Também foram observadas nos grupos 12,5 g e 15 g grupos celulares com características morfológicas sugestivas de células inflamatórias no local do dano, isto é, formato arredondado, citoplasma escasso e cromatina compacta. As **Figuras 15, 16 e 17** mostram imagens representativas da análise histológica de cada grupo experimental.

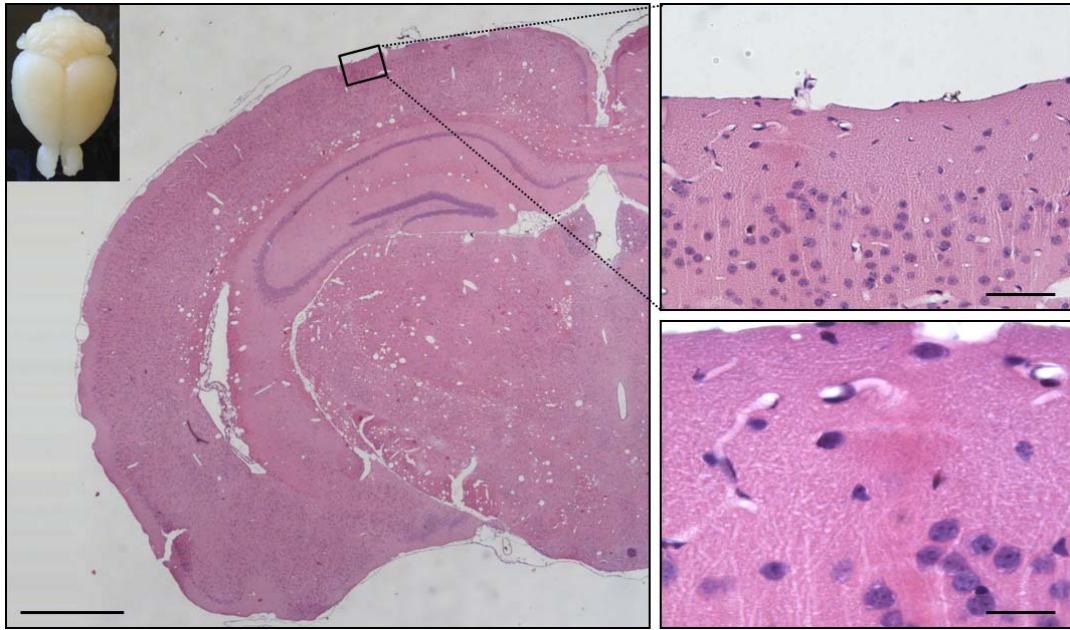


Figura 15. Imagem representativa dos efeitos do traumatismo crânio-encefálico com projétil de 10 g na histologia do encéfalo de camundongos. Os cérebros foram extraídos 15 dias após o trauma e foi realizada coloração com hematoxilina-eosina. (A) Secção coronal mostrando córtex cerebral (Cx), hipocampo (Hp) e tálamo (Ta) ipsilaterais ao impacto do projétil (escala = 1000 μ m). (B) Ampliação da região delimitada no painel A (escala = 50 μ m). (C) Maior ampliação (escala = 20 μ m). Não foram observadas anormalidades.

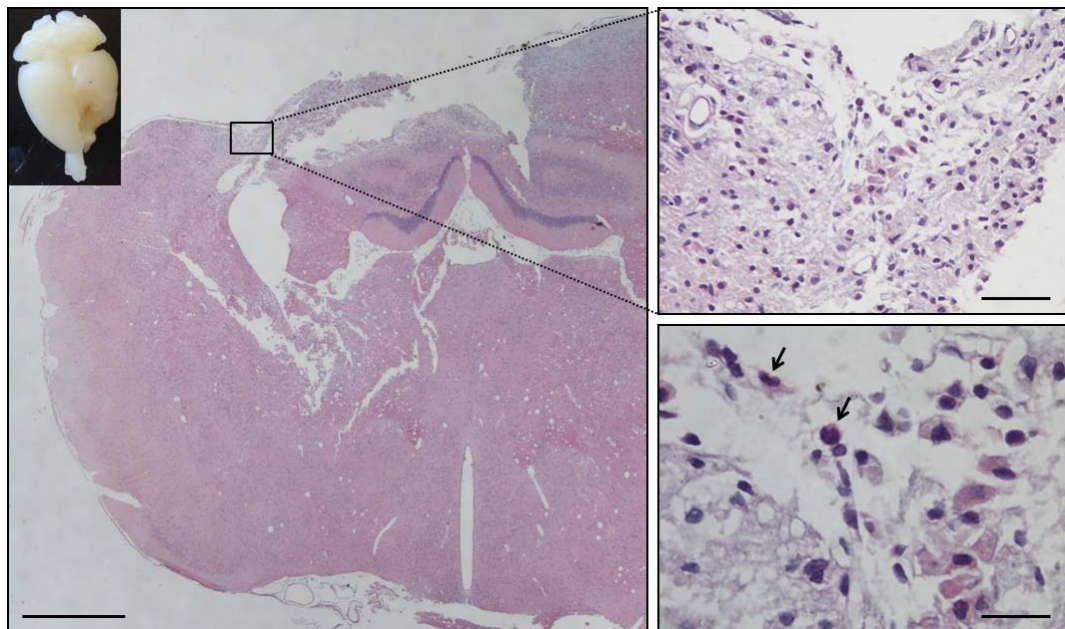


Figura 16. Imagem representativa dos efeitos do traumatismo crânio-encefálico com projétil de 12,5 g na histologia do encéfalo de camundongos. Os cérebros foram extraídos 15 dias após o trauma e foi realizada coloração com hematoxilina-eosina. (A) Secção coronal mostrando córtex (Cx), hipocampo (Hp) e tálamo (Ta) ipsilaterais ao impacto do projétil (escala = 1000 μ m). (B) Ampliação da região delimitada no painel A (escala = 50 μ m). (C) Maior ampliação (escala = 20 μ m). É possível observar dano tecidual extenso com perda da arquitetura cortical e células com aspecto morfológico sugestivo de células inflamatórias (setas).

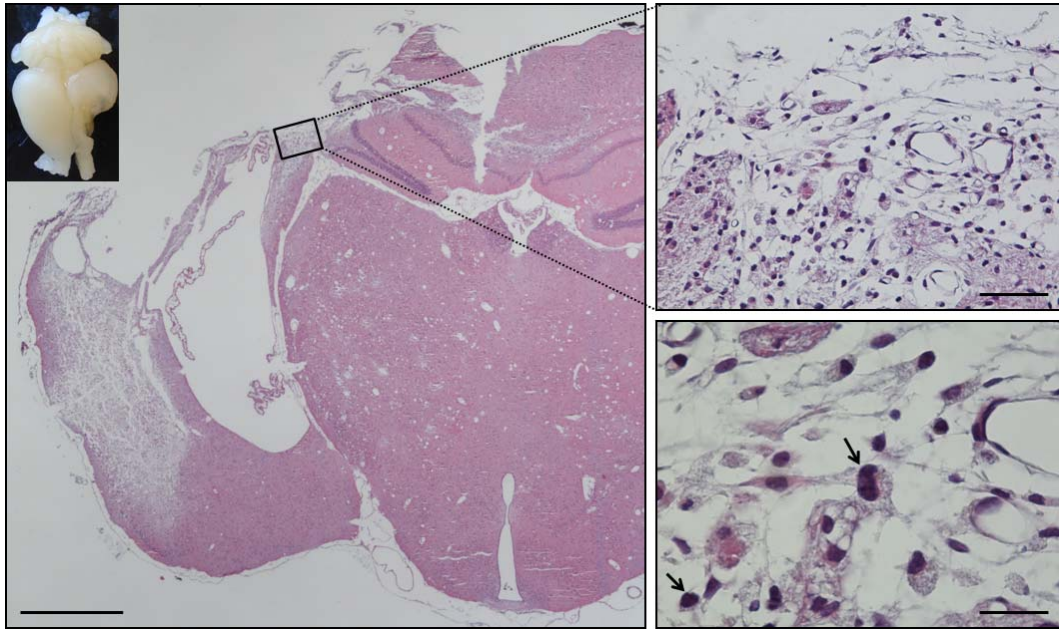


Figura 17. Imagem representativa dos efeitos do traumatismo crânio-encefálico com projétil de 15 g na histologia do encéfalo de camundongos. Os cérebros foram extraídos 15 dias após o trauma e foi realizada coloração com hematoxilina-eosina. **(A)** Secção coronal mostrando córtex (Cx), hipocampo (Hp) e tálamo (Ta) ipsilaterais ao impacto do projétil (escala = 1000 μ m). **(B)** Ampliação da região delimitada no painel A (escala = 50 μ m). **(C)** Maior ampliação (escala = 20 μ m). É possível observar dano tecidual extenso com perda da arquitetura cortical e células com aspecto morfológico sugestivo de células inflamatórias (setas).

4.9 Mensuração de parâmetros de estresse oxidativo

No período de 24 h após TCE experimental, foi observado aumento dos níveis de TBARS no grupo 12,5 g em relação ao grupo controle no córtex esquerdo, isto é, ipsilateral ao impacto do projétil [ANOVA de uma via ($F(3, 11) = 3,71, P = 0,0458$), *post hoc* Tukey; $n = 3$ para controle, $n = 5$ para 10 g, $n = 4$ para 12,5 g, $n = 4$ para 15 g]. No período de 14 dias após TCE experimental, houve aumento da atividade da GPx no hipocampo esquerdo no grupo 12,5 g em relação aos grupos controle e 15 g no período de 14 dias [ANOVA de uma via ($F(3, 25) = 5,52, P = 0,0047$), *post hoc* Tukey; $n =$ mínimo de 6 animais por grupo]. Não foram observadas outras diferenças entre os grupos nos demais parâmetros, períodos e estruturas. A **Tabela 5** e a **Tabela 6** mostram os resultados nas estruturas esquerdas e direitas, respectivamente, na forma de porcentagem dos respectivos controles. Os valores específicos (média \pm SEM) dos parâmetros analisados nas estruturas esquerdas e direitas juntas foram os

seguintes para córtex cerebral e hipocampo, respectivamente: níveis de NPSH $17,9 \pm 2,3$ e $43,7 \pm 3,4$ nmol/mg de proteínas, atividade da GPx $12,3 \pm 1,6$ e $16,1 \pm 1,2$ nmol de NADPH oxidado/min/mg de proteínas, atividade da GR $23,2 \pm 2,1$ e $31,0 \pm 3,1$ nmol de NADPH oxidado/min/mg de proteínas, níveis de TBARS $10,9 \pm 0,9$ e $18,3 \pm 2,1$ nmol de MDA/mg de proteínas. Não houve diferenças significantes entre estruturas direitas e esquerdas no grupo controle nos parâmetros avaliados.

Tabela 5. Efeitos do traumatismo crânio-encefálico em camundongos sobre parâmetros de estresse oxidativo em córtex cerebral e hipocampo esquerdos, isto é, ipsilaterais ao trauma. Os parâmetros foram avaliados em 2 h, 24 h e 14 dias após o trauma. Os dados estão representados como porcentagem dos respectivos controles na forma de média \pm EPM para os grupos submetidos ao impacto com o projétil de 10 g, 12,5 g e 15 g. No grupo 12,5 g, foi observado aumento nos níveis de TBARS no córtex em relação ao grupo controle no período de 24 h e aumento da atividade da GPx no hipocampo em relação aos grupos controle e 15 g no período de 14 dias (*post hoc* Tukey: * $P < 0,05$ vs. controle no mesmo parâmetro e período; # $P < 0,05$ vs. grupo 15 g no mesmo parâmetro e período).

		Córtex cerebral esquerdo			Hipocampo esquerdo		
		10 g	12,5 g	15 g	10 g	12,5 g	15 g
NPSH (%)	2 h	94,1 \pm 12,3	97,9 \pm 9,4	81,1 \pm 6,3	91,4 \pm 5,4	88,1 \pm 7,4	79,2 \pm 7,1
	24 h	107,9 \pm 7,8	114,4 \pm 6,4	99,1 \pm 6,2	118,7 \pm 16,7	100,0 \pm 17,9	89,7 \pm 2,9
	14 dias	108,0 \pm 11,3	109,3 \pm 7,5	93,6 \pm 7,9	108,5 \pm 15,0	95,3 \pm 7,8	98,9 \pm 10,6
GPx (%)	2 h	122,3 \pm 15,1	122,5 \pm 5,9	137,1 \pm 7,1	112,4 \pm 5,6	102,7 \pm 6,9	109,1 \pm 8,8
	24 h	120,5 \pm 15,6	120,3 \pm 13,0	134,8 \pm 18,0	116,0 \pm 17,6	110,8 \pm 19,4	103,6 \pm 4,5
	14 dias	102,3 \pm 10,1	106,8 \pm 9,2	97,7 \pm 14,4	129,6 \pm 9,3	169,9 \pm 16*#	116,8 \pm 12,5
GR (%)	2 h	100,4 \pm 7,7	93,6 \pm 4,3	106,1 \pm 6,8	88,0 \pm 2,9	97,7 \pm 12,6	101,7 \pm 10,0
	24 h	111,4 \pm 15,8	106,6 \pm 5,4	95,6 \pm 9,6	104,8 \pm 12,0	101,9 \pm 15,3	84,4 \pm 17,4
	14 dias	84,3 \pm 10,6	101,4 \pm 7,1	92,7 \pm 10,7	99,4 \pm 16,7	148,1 \pm 9,6	94,1 \pm 19,0
TBARS (%)	2 h	156,4 \pm 19,2	104,9 \pm 17,5	92,2 \pm 13,6	108,3 \pm 10,8	109,7 \pm 24,2	91,2 \pm 14,8
	24 h	177,6 \pm 16,5	219,0 \pm 35,5*	130,2 \pm 33,6	114,8 \pm 25,8	107,0 \pm 29,3	129,8 \pm 41,0
	14 dias	109,2 \pm 25,2	133,5 \pm 4	93,5 \pm 17,1	108,7 \pm 12,9	135,9 \pm 19,4	127,9 \pm 22,1

Tabela 6. Efeitos do traumatismo crânio-encefálico em camundongos sobre parâmetros de estresse oxidativo em córtex cerebral e hipocampo direitos, isto é, contralaterais ao trauma. Os parâmetros foram avaliados em 2 h, 24 h e 14 dias após o trauma. Os dados estão representados como porcentagem dos respectivos controles na forma de média \pm EPM para os grupos submetidos ao impacto com o projétil de 10 g, 12,5 g e 15 g. Não foram observadas diferenças entre os grupos nas estruturas, parâmetros e períodos avaliados (*post hoc* Tukey: $P > 0,05$).

		Córtex cerebral direito			Hipocampo direito		
		10 g	12,5 g	15 g	10 g	12,5 g	15 g
NPSH (%)	2 h	103,2 \pm 9,1	85,1 \pm 6,6	105,8 \pm 11,0	105,8 \pm 3,5	97,1 \pm 4,1	99,4 \pm 12,8
	24 h	118,1 \pm 10,0	110,9 \pm 7,1	113,2 \pm 16,8	86,8 \pm 8,3	100,2 \pm 10,9	97,0 \pm 20,5
	14 dias	97,0 \pm 13,6	100,2 \pm 9,5	81,2 \pm 5,4	111,6 \pm 6,9	94,8 \pm 8,5	101,6 \pm 7,6
GPx (%)	2 h	90,6 \pm 7,3	84,3 \pm 4,0	93,0 \pm 3,4	104,1 \pm 9,9	107,2 \pm 6,4	121,0 \pm 11,6
	24 h	97,2 \pm 5,5	100,3 \pm 5,0	91,4 \pm 4,5	93,2 \pm 6,9	112,0 \pm 10,7	114,3 \pm 24,4
	14 dias	90,0 \pm 10,4	80,1 \pm 8,6	84,9 \pm 4,4	126,8 \pm 37,8	99,5 \pm 16,4	108,8 \pm 12,4
GR (%)	2 h	89,3 \pm 4,8	86,5 \pm 6,2	91,8 \pm 3,3	108,8 \pm 5,7	99,9 \pm 6,0	98,8 \pm 3,6
	24 h	97,8 \pm 5,3	99,6 \pm 4,4	90,5 \pm 1,8	94,3 \pm 7,1	111,5 \pm 11,5	110,2 \pm 26,4
	14 dias	86,1 \pm 10,0	87,3 \pm 8,9	84,0 \pm 5,8	117,7 \pm 9,3	103,1 \pm 12,4	69,0 \pm 21,0
TBARS (%)	2 h	85,6 \pm 14,5	87,9 \pm 13,6	89,0 \pm 17,1	92,2 \pm 16,4	78,3 \pm 8,3	86,6 \pm 15,2
	24 h	88,0 \pm 20,8	104,0 \pm 30,2	134,2 \pm 25,8	83,1 \pm 3,9	108,7 \pm 6,8	97,9 \pm 35,9
	14 dias	87,4 \pm 9,9	80,1 \pm 12,4	76,2 \pm 4,5	73,93 \pm 8,5	73,57 \pm 10,1	66,14 \pm 16,3

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, TCE foi induzido em camundongos adultos machos da linhagem swiss através de um modelo de queda de peso utilizando projéteis de diferentes massas. Em fase aguda, os animais apresentaram níveis crescentes de mortalidade e gravidade de trauma conforme a massa do projétil. Em fase tardia, o grupo submetido ao trauma com projétil de 10 g apresentou aumento no comportamento tipo-ansioso e depressivo. Os grupos submetidos ao trauma com projéteis de 12,5 g e 15 g apresentaram prejuízos de memória. O grupo 15 g apresentou ainda aumento da atividade locomotora. Na avaliação histológica qualitativa, o

grupo 10 g não mostrou anormalidades aparentes, enquanto os grupos 12,5 g e 15 g mostraram dano tecidual extenso. Na avaliação bioquímica, os animais submetidos ao trauma com projétil de 12,5 g apresentaram alterações indicativas de aumento no estresse oxidativo.

Segundo Tsenter et al. (2008), a gravidade do TCE em camundongos pode ser definida pelo NSS no período de 1 h após o trauma. O trauma leve corresponde a um escore menor que 5, moderado 5 a 6, grave 7 a 8, e quase-fatal ou fatal 9 a 10. Aplicando esses critérios às medianas do NSS encontradas no presente estudo, os grupos 10 g e 12,5 g (medianas = 1,5 e 4,0, respectivamente) corresponderam a um trauma leve e o grupo 15 g (mediana = 8,0) a um trauma grave. No entanto, como discutido adiante, a mortalidade no grupo 12,5 g foi bem mais elevada que no grupo 10 g, e as alterações comportamentais tardias se aproximaram daquelas observadas no grupo 15 g. Desse modo, parece que o trauma com o projétil de 12,5 g no presente modelo representou um TCE de gravidade intermediária. A metodologia utilizada por Tsenter et al. (2008) difere do presente modelo quanto à linhagem de camundongos e indução do trauma, apesar de também consistir em uma adaptação do modelo de queda de peso. Na literatura, várias adaptações do modelo de queda de peso têm se mostrado capazes de induzir trauma de diferentes gravidades (TANG et al., 1997; ZOHAR et al., 2003; FLIERL et al., 2009), uma característica considerada um critério de validade para modelos de TCE em geral (CERNAK, 2005), visto que na clínica TCE leve e grave diferem em inúmeros aspectos.

As taxas de mortalidade do presente modelo, crescentes de acordo com a massa do projétil, também são indicativas de uma graduação de trauma. A maioria das mortes ocorreu na primeira hora após a indução do trauma, ou seja, antes da realização da avaliação neurológica. Essa previsibilidade é útil no planejamento dos experimentos. Estudos clínicos mostram de modo consistente que o TCE grave é acompanhado de elevadas taxas de mortalidade, mesmo com intervenções de alta complexidade, como neurocirurgia e assistência

em UTI (MARMAROU et al., 2007; MARTINS et al., 2009). É presumível que a mortalidade do TCE seria ainda maior na ausência de tais intervenções (como é o caso do presente modelo). Desse modo, a presença de mortalidade não deixa de conferir certa validade de face para modelos de TCE em geral (MORALES et al., 2005). No entanto, a mortalidade elevada pode ser um problema de ordem logística. A redução da mortalidade é um objetivo futuro para o presente modelo.

É razoável cogitar que o TCE experimental poderia causar prejuízos grosseiros e persistentes de motricidade levando a uma redução geral da locomoção capaz de interferir nos testes comportamentais subseqüentes. No entanto, os resultados do teste do campo aberto não indicam essa situação, uma vez que nenhum dos grupos de trauma apresentou diminuição da locomoção em relação ao grupo controle. O presente estudo não realizou avaliação neurológica no período tardio, de modo a permitir a comparação do estado neurológico geral com a fase aguda. Entretanto, a recuperação sensório-motora evidenciada pela redução gradual do NSS ao longo de poucos dias é um fenômeno conhecido (FLIERL et al., 2009).

Na realidade, o grupo 15 g apresentou aumento da atividade locomotora no teste do campo aberto em comparação com os demais grupos. A indução de aumento na atividade locomotora por TCE experimental já havia sido descrita em gerbilos e camundongos jovens (LI et al., 2006; PULLELA et al., 2006). Li et al. (2006) sugeriram que essa alteração comportamental refletiria prejuízos da memória espacial e de trabalho, comprometendo a formação de mapas espaciais e a ocorrência de habituação. Como mencionado por esses autores, associações entre esses tipos de prejuízos e aumento na locomoção têm sido descritas em modelos de isquemia cerebral (WANG e CORBETT, 1990; BABCOCK et al., 1993). Viggiano (2008) revisou detalhadamente a literatura envolvendo aumento da locomoção em roedores e descreveu que a indução desse tipo de comportamento é mais comum que a indução de diminuição da locomoção, ocorrendo em uma ampla gama de manipulações

genéticas, tratamentos farmacológicos e lesões focais experimentais, incluindo lesões no córtex frontal e hipocampo. Com base nesses achados, o autor sugeriu a existência de um sistema de controle que inibe continuamente um tônus hiperativo basal. O comprometimento desse sistema por fatores de natureza diversa induziria aumento de atividade locomotora.

Os resultados da esquiiva inibitória do tipo step down confirmam a ocorrência de prejuízos cognitivos nos traumas de maior gravidade. Os animais dos grupos controle e 10 g apresentaram latência para descida da plataforma nos testes de 1,5 h e 24 h superiores à latência no treino, indicando formação adequada de memória espacial de natureza aversiva de curto e longo prazo. Os animais do grupo 12,5 g e 15 g, no entanto, apresentaram latência para descida da plataforma similar entre treino e testes, indicando prejuízo de memória. Eventuais diferenças no limiar de sensibilidade foram descartadas pelo teste de sensibilidade ao choque. Na clínica, o TCE moderado e grave está associado a prejuízos cognitivos persistentes, enquanto o TCE leve mostra boa recuperação cognitiva na grande maioria dos pacientes (CARROLL et al., 2004). Uma primeira explicação para a presença de prejuízos cognitivos nos grupos 12,5 g e 15 g seria o comprometimento de áreas importantes no processamento da memória, tais como hipocampo e córtex frontal, já que os animais desses grupos apresentaram dano tecidual extensivo em contraponto aos animais do grupo 10 g. Outros estudos, no entanto, demonstraram prejuízos cognitivos mais discretos utilizando outros paradigmas comportamentais (SCHEFF et al., 1997; MILMAN et al., 2008).

Na análise dos parâmetros do teste do labirinto em cruz elevado, o trauma com o projétil de 10 g foi ansiogênico, induzindo uma menor exploração dos braços abertos nos animais. Recentemente, outros autores obtiveram resultados similares em camundongos submetidos ao modelo de queda de peso (PICK et al., 2009) e em ratos submetidos ao modelo de percussão por fluido (JONES et al., 2008). Como já discutido, os transtornos de ansiedade são uma seqüela freqüente do TCE. Os grupos 12,5 g e 15 g, no entanto, não apresentaram

mudanças nos parâmetros de exploração dos braços abertos em relação ao grupo controle. Do mesmo modo que no teste do campo aberto, o grupo 15 g apresentou aumento da atividade locomotora, evidenciado por um número maior de entradas nos braços fechados.

O grupo 10 g também apresentou aumento no comportamento tipo-depressivo, evidenciado por um maior tempo de imobilidade no teste da suspensão pela cauda. A depressão é uma das principais seqüelas do TCE, e a co-morbidade com ansiedade é comum tanto na população geral como em pacientes com TCE. De nosso conhecimento, o presente estudo é o primeiro a empregar o teste da suspensão pela cauda no contexto do TCE experimental. Outros estudos descreveram aumento no comportamento tipo-depressivo no teste do nado forçado em camundongos no modelo de queda de peso (TWEEDIE et al., 2007; SHAPIRA et al., 2007; MILMAN et al., 2008) e em ratos no modelo de impacto cortical controlado (TAYLOR et al., 2006). Prejuízos de interação sexual reversíveis por antidepressivo também foram descritos em ratos submetidos ao modelo de desaceleração por impacto (PANDEY et al., 2009). No presente estudo, não foi reproduzido o achado de aumento no tempo de imobilidade no teste do nado forçado. Talvez a explicação para isso repouse em diferenças de sensibilidade entre os testes. Por exemplo, o teste da suspensão pela cauda pode ser mais sensível que o teste do nado forçado na detecção de efeitos antidepressivos de algumas drogas (MCARTHUR e BORSINI, 2006).

Ao contrario dos prejuízos de memória, apenas o trauma com projétil de 10 g induziu aumento do comportamento tipo-ansioso e depressivo. No que diz respeito ao grupo 15 g, é possível que o aumento na atividade locomotora tenha interferido nos testes. No entanto, o grupo 12,5 g não apresentou aumento na locomoção e teve um perfil similar ao grupo 15 g em termos de emocionalidade e cognição. Em geral, os estudos clínicos não mostram uma relação consistente entre a gravidade do TCE e as seqüelas de depressão e ansiedade. Uma exceção é

o transtorno do estresse pós-traumático, para o qual uma maior gravidade de trauma tende a ser protetora (GLAESSER et al., 2004; GIL et al., 2005).

Apenas o grupo 12,5 g apresentou alterações nos parâmetros de estresse oxidativo, com aumento de TBARS no córtex ipsilateral ao trauma no período de 24 h, indicando aumento da peroxidação lipídica, e aumento da atividade da enzima GPx no hipocampo ipsilateral ao trauma no período de 14 dias, indicando uma maior ativação do sistema da glutathione, possivelmente como uma resposta a um aumento de radicais livres. Esses achados são similares aos de outros estudos de TCE experimental, embora mais discretos e pontuais (GOSS et al., 1997; TYURIN et al., 2000; ANSARI et al., 2008). Considerando que o presente estudo avaliou pontos relativamente espaçados no tempo, não se pode descartar que alterações mais proeminentes tenham ocorrido em períodos não avaliados. A ausência de aumento do estresse oxidativo no grupo 15 g é particularmente notável, pois se trata do trauma de maior gravidade. Achados similares foram descritos por um estudo prévio (PETRONILHO et al., 2009), no qual trauma de maior intensidade gerou um aumento menor e menos consistente do estresse oxidativo na comparação com trauma de menor intensidade. Se o aumento no estresse oxidativo foi de fato discreto e pontual no modelo utilizado no presente estudo, então outros mecanismos tiveram maior importância na gênese dos danos cerebrais que presumivelmente levaram às alterações comportamentais observadas.

Em conjunto, os resultados do presente estudo são consistentes com a literatura do TCE experimental, evidenciando a presença de alterações comportamentais em fase aguda e tardia que foram análogas às manifestações clínicas do TCE, assim como aumento do estresse oxidativo, um reconhecido mecanismo de lesão secundária. O presente estudo contribui de modo mais original no que diz respeito às alterações de emocionalidade, cuja investigação é recente e pouco explorada. Embora fatores de natureza psicossocial se mostrem importantes na depressão e ansiedade pós-TCE, a presença de alterações de emocionalidade em modelos

animais é uma evidência para a existência de bases neurobiológicas diretamente relacionadas a danos cerebrais. O aprofundamento no conhecimento das alterações de emocionalidade no TCE experimental pode abrir caminho para futuros estudos abordando os mecanismos e a terapêutica específica dos transtornos psiquiátricos pós-TCE.

6 CONCLUSÕES

- O modelo de TCE por queda de peso utilizado no presente estudo mostrou boa validade de face, pois gerou alterações comportamentais em fase aguda e tardia comparáveis às observadas em pacientes com TCE.
- O modelo também foi capaz de induzir alterações bioquímicas indicativas de aumento de estresse oxidativo, um conhecido mecanismo de dano secundário.
- Desse modo, o modelo demonstrou potencial para o uso futuro em estudos que investiguem mecanismos e tratamentos do TCE e suas seqüelas.
- Alterações de emocionalidade podem constituir uma medida de resultado útil em estudos de TCE experimental, de modo similar ao que ocorre com prejuízos cognitivos e motores.

REFERÊNCIAS

- ACHTE, K., JARHO, L., KYKKKA, T. e VESTERINEN, E. Paranoid disorders following war brain damage. Preliminary report. *Psychopathology*, v.24, n.5, p.309-15. 1991.
- ANDERSON, C. M. e SWANSON, R. A. Astrocyte glutamate transport: review of properties, regulation, and physiological functions. *Glia*, v.32, n.1, Oct, p.1-14. 2000.
- ANSARI, M. A., ROBERTS, K. N. e SCHEFF, S. W. A time course of contusion-induced oxidative stress and synaptic proteins in cortex in a rat model of TBI. *J Neurotrauma*, v.25, n.5, May, p.513-26. 2008.
- ARCINIEGAS, D. B. The cholinergic hypothesis of cognitive impairment caused by traumatic brain injury. *Curr Psychiatry Rep*, v.5, n.5, Oct, p.391-9. 2003.
- ARCINIEGAS, D. B., ANDERSON, C. A., TOPKOFF, J. e MCALLISTER, T. W. Mild traumatic brain injury: a neuropsychiatric approach to diagnosis, evaluation, and treatment. *Neuropsychiatr Dis Treat*, v.1, n.4, Dec, p.311-27. 2005.
- ARMIN, S. S., COLOHAN, A. R. e ZHANG, J. H. Vasospasm in traumatic brain injury. *Acta Neurochir Suppl*, v.104, n.13, Aug 1, p.421-425. 2008.
- ARUNDINE, M. e TYMIANSKI, M. Molecular mechanisms of glutamate-dependent neurodegeneration in ischemia and traumatic brain injury. *Cell Mol Life Sci*, v.61, n.6, Mar, p.657-68. 2004.
- ASTRUP, J., SIESJO, B. K. e SYMON, L. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke*, v.12, n.6, Nov-Dec, p.723-5. 1981.
- BABCOCK, A. M., BAKER, D. A. e LOVEC, R. Locomotor activity in the ischemic gerbil. *Brain Res*, v.625, n.2, Oct 22, p.351-4. 1993.
- BALES, J. W., WAGNER, A. K., KLINE, A. E. e DIXON, C. E. Persistent cognitive dysfunction after traumatic brain injury: A dopamine hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev*, v.33, n.7, Jul, p.981-1003. 2009.
- BARBEE, K. A. Mechanical cell injury. *Ann N Y Acad Sci*, v.1066, Dec, p.67-84. 2005.
- BECHARA, A., DAMASIO, H. e DAMASIO, A. R. Emotion, decision making and the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex*, v.10, n.3, Mar, p.295-307. 2000.
- BELLANDER, B. M., SINGHRAO, S. K., OHLSSON, M., MATTSSON, P. e SVENSSON, M. Complement activation in the human brain after traumatic head injury. *J Neurotrauma*, v.18, n.12, Dec, p.1295-311. 2001.
- BENVENISTE, H., DREJER, J., SCHOUSBOE, A. e DIEMER, N. H. Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J Neurochem*, v.43, n.5, Nov, p.1369-74. 1984.
- BINDER, S., CORRIGAN, J. D. e LANGLOIS, J. A. The public health approach to traumatic brain injury: an overview of CDC's research and programs. *J Head Trauma Rehabil*, v.20, n.3, May-Jun, p.189-95. 2005.

- BLACK, K. L., HANKS, R. A., WOOD, D. L., ZAFONTE, R. D., CULLEN, N., CIFU, D. X., ENGLANDER, J. e FRANCISCO, G. E. Blunt versus penetrating violent traumatic brain injury: frequency and factors associated with secondary conditions and complications. *J Head Trauma Rehabil*, v.17, n.6, Dec, p.489-96. 2002.
- BOUMA, G. J., MUIZELAAR, J. P., CHOI, S. C., NEWLON, P. G. e YOUNG, H. F. Cerebral circulation and metabolism after severe traumatic brain injury: the elusive role of ischemia. *J Neurosurg*, v.75, n.5, Nov, p.685-93. 1991.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, v.72, May 7, p.248-54. 1976.
- BROUNS, R. e DE DEYN, P. P. The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke. *Clin Neurol Neurosurg*, v.111, n.6, Jul, p.483-95. 2009.
- BROWN, J. I., MOULTON, R. J., KONASIEWICZ, S. J. e BAKER, A. J. Cerebral oxidative metabolism and evoked potential deterioration after severe brain injury: new evidence of early posttraumatic ischemia. *Neurosurgery*, v.42, n.5, May, p.1057-63; discussion 1063-4. 1998.
- CARLBERG, I. e MANNERVIK, B. Glutathione reductase. *Methods Enzymol*, v.113, p.484-90. 1985.
- CARLOS, T. M., CLARK, R. S., FRANICOLA-HIGGINS, D., SCHIDING, J. K. e KOCHANNEK, P. M. Expression of endothelial adhesion molecules and recruitment of neutrophils after traumatic brain injury in rats. *J Leukoc Biol*, v.61, n.3, Mar, p.279-85. 1997.
- CARROLL, L. J., CASSIDY, J. D., PELOSO, P. M., BORG, J., VON HOLST, H., HOLM, L., PANIAK, C. e PEPIN, M. Prognosis for mild traumatic brain injury: results of the WHO Collaborating Centre Task Force on Mild Traumatic Brain Injury. *J Rehabil Med*, n.43 Suppl, Feb, p.84-105. 2004.
- CERNAK, I. Animal models of head trauma. *NeuroRx*, v.2, n.3, Jul, p.410-22. 2005.
- CHEN, J. K., JOHNSTON, K. M., PETRIDES, M. e PTITO, A. Neural substrates of symptoms of depression following concussion in male athletes with persisting postconcussion symptoms. *Arch Gen Psychiatry*, v.65, n.1, Jan, p.81-9. 2008.
- CHEN, X. H., SIMAN, R., IWATA, A., MEANEY, D. F., TROJANOWSKI, J. Q. e SMITH, D. H. Long-term accumulation of amyloid-beta, beta-secretase, presenilin-1, and caspase-3 in damaged axons following brain trauma. *Am J Pathol*, v.165, n.2, Aug, p.357-71. 2004.
- CHEN, Y., CONSTANTINI, S., TREMBOVLER, V., WEINSTOCK, M. e SHOHAMI, E. An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits. *J Neurotrauma*, v.13, n.10, Oct, p.557-68. 1996.
- CHOI, D. W. Excitotoxic cell death. *J Neurobiol*, v.23, n.9, Nov, p.1261-76. 1992.
- COLES, J. P., FRYER, T. D., SMIELEWSKI, P., CHATFIELD, D. A., STEINER, L. A., JOHNSTON, A. J., DOWNEY, S. P., WILLIAMS, G. B., AIGBIRHIO, F., HUTCHINSON, P. J., RICE, K., CARPENTER, T. A., CLARK, J. C., PICKARD, J. D. e MENON, D. K. Incidence and mechanisms of cerebral ischemia in early clinical head injury. *J Cereb Blood Flow Metab*, v.24, n.2, Feb, p.202-11. 2004.

CRYAN, J. F. e HOLMES, A. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nat Rev Drug Discov*, v.4, n.9, Sep, p.775-90. 2005.

CUMMINGS, J. L. Frontal-subcortical circuits and human behavior. *Arch Neurol*, v.50, n.8, Aug, p.873-80. 1993.

CUNHA, M. P., MACHADO, D. G., BETTIO, L. E., CAPRA, J. C. e RODRIGUES, A. L. Interaction of zinc with antidepressants in the tail suspension test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v.32, n.8, Dec 12, p.1913-20. 2008.

CUNNINGHAM, A. S., SALVADOR, R., COLES, J. P., CHATFIELD, D. A., BRADLEY, P. G., JOHNSTON, A. J., STEINER, L. A., FRYER, T. D., AIGBIRHIO, F. I., SMIELEWSKI, P., WILLIAMS, G. B., CARPENTER, T. A., GILLARD, J. H., PICKARD, J. D. e MENON, D. K. Physiological thresholds for irreversible tissue damage in contusional regions following traumatic brain injury. *Brain*, v.128, n.Pt 8, Aug, p.1931-42. 2005.

DEWITT, D. S. e PROUGH, D. S. Traumatic cerebral vascular injury: the effects of concussive brain injury on the cerebral vasculature. *J Neurotrauma*, v.20, n.9, Sep, p.795-825. 2003.

DIKMEN, S. S., CORRIGAN, J. D., LEVIN, H. S., MACHAMER, J., STIERS, W. e WEISSKOPF, M. G. Cognitive outcome following traumatic brain injury. *J Head Trauma Rehabil*, v.24, n.6, Nov-Dec, p.430-8. 2009.

DIXON, C. E., CLIFTON, G. L., LIGHTHALL, J. W., YAGHMAI, A. A. e HAYES, R. L. A controlled cortical impact model of traumatic brain injury in the rat. *J Neurosci Methods*, v.39, n.3, Oct, p.253-62. 1991.

DIXON, C. E., LYETH, B. G., POVLISHOCK, J. T., FINDLING, R. L., HAMM, R. J., MARMAROU, A., YOUNG, H. F. e HAYES, R. L. A fluid percussion model of experimental brain injury in the rat. *J Neurosurg*, v.67, n.1, Jul, p.110-9. 1987.

DREW, L. B. e DREW, W. E. The contrecoup-coup phenomenon: a new understanding of the mechanism of closed head injury. *Neurocrit Care*, v.1, n.3, p.385-90. 2004.

EISENBERG, H. M., GARY, H. E., JR., ALDRICH, E. F., SAYDJARI, C., TURNER, B., FOULKES, M. A., JANE, J. A., MARMAROU, A., MARSHALL, L. F. e YOUNG, H. F. Initial CT findings in 753 patients with severe head injury. A report from the NIH Traumatic Coma Data Bank. *J Neurosurg*, v.73, n.5, Nov, p.688-98. 1990.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, v.82, n.1, May, p.70-7. 1959.

ENGEL, S., SCHLUESENER, H., MITTELBRONN, M., SEID, K., ADJODAH, D., WEHNER, H. D. e MEYERMANN, R. Dynamics of microglial activation after human traumatic brain injury are revealed by delayed expression of macrophage-related proteins MRP8 and MRP14. *Acta Neuropathol*, v.100, n.3, Sep, p.313-22. 2000.

FARIA, J. W., NISHIOKA SDE, A., ARBEX, G. L., ALARCAO, G. G. e FREITAS, W. B. Occurrence of severe and moderate traumatic brain injury in patients attended in a Brazilian Teaching Hospital: epidemiology and dosage of alcoholism. *Arq Neuropsiquiatr*, v.66, n.1, Mar, p.69-73. 2008.

- FARKAS, O., LIFSHITZ, J. e POVLISHOCK, J. T. Mechanoporation induced by diffuse traumatic brain injury: an irreversible or reversible response to injury? *J Neurosci*, v.26, n.12, Mar 22, p.3130-40. 2006.
- FEENEY, D. M., BOYESON, M. G., LINN, R. T., MURRAY, H. M. e DAIL, W. G. Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions in the rat. *Brain Res*, v.211, n.1, Apr 27, p.67-77. 1981.
- FITZPATRICK, M. O., DEWAR, D., TEASDALE, G. M. e GRAHAM, D. I. The neuronal cytoskeleton in acute brain injury. *Br J Neurosurg*, v.12, n.4, Aug, p.313-7. 1998.
- FLIERL, M. A., STAHEL, P. F., BEAUCHAMP, K. M., MORGAN, S. J., SMITH, W. R. e SHOHAMI, E. Mouse closed head injury model induced by a weight-drop device. *Nat Protoc*, v.4, n.9, p.1328-37. 2009.
- FORTIN, S., GODBOUT, L. e BRAUN, C. M. Cognitive structure of executive deficits in frontally lesioned head trauma patients performing activities of daily living. *Cortex*, v.39, n.2, Apr, p.273-91. 2003.
- FUJIMOTO, S. T., LONGHI, L., SAATMAN, K. E., CONTE, V., STOCCHETTI, N. e MCINTOSH, T. K. Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury. *Neurosci Biobehav Rev*, v.28, n.4, Jul, p.365-78. 2004.
- GEDDES-KLEIN, D. M., SCHIFFMAN, K. B. e MEANEY, D. F. Mechanisms and consequences of neuronal stretch injury in vitro differ with the model of trauma. *J Neurotrauma*, v.23, n.2, Feb, p.193-204. 2006.
- GENNARELLI, T. A., ADAMS, J. H. e GRAHAM, D. I. Acceleration induced head injury in the monkey.I. The model, its mechanical and physiological correlates. *Acta Neuropathol Suppl*, v.7, p.23-5. 1981.
- GENTLEMAN, S. M., LECLERCQ, P. D., MOYES, L., GRAHAM, D. I., SMITH, C., GRIFFIN, W. S. e NICOLL, J. A. Long-term intracerebral inflammatory response after traumatic brain injury. *Forensic Sci Int*, v.146, n.2-3, Dec 16, p.97-104. 2004.
- GHIRNIKAR, R. S., LEE, Y. L. e ENG, L. F. Inflammation in traumatic brain injury: role of cytokines and chemokines. *Neurochem Res*, v.23, n.3, Mar, p.329-40. 1998.
- GIL, S., CASPI, Y., BEN-ARI, I. Z., KOREN, D. e KLEIN, E. Does memory of a traumatic event increase the risk for posttraumatic stress disorder in patients with traumatic brain injury? A prospective study. *Am J Psychiatry*, v.162, n.5, May, p.963-9. 2005.
- GLAESSER, J., NEUNER, F., LUTGEHETMANN, R., SCHMIDT, R. e ELBERT, T. Posttraumatic Stress Disorder in patients with traumatic brain injury. *BMC Psychiatry*, v.4, Mar 9, p.5. 2004.
- GOLDEN, Z. e GOLDEN, C. J. Impact of brain injury severity on personality dysfunction. *Int J Neurosci*, v.113, n.5, May, p.733-45. 2003.
- GOLDSCHLAGER, T., ROSENFELD, J. V. e WINTER, C. D. 'Talk and die' patients presenting to a major trauma centre over a 10 year period: a critical review. *J Clin Neurosci*, v.14, n.7, Jul, p.618-23; discussion 624. 2007.

- GORMAN, L. K., FU, K., HOVDA, D. A., MURRAY, M. e TRAYSTMAN, R. J. Effects of traumatic brain injury on the cholinergic system in the rat. *J Neurotrauma*, v.13, n.8, Aug, p.457-63. 1996.
- GOSS, J. R., TAFFE, K. M., KOCHANNEK, P. M. e DEKOSKY, S. T. The antioxidant enzymes glutathione peroxidase and catalase increase following traumatic brain injury in the rat. *Exp Neurol*, v.146, n.1, Jul, p.291-4. 1997.
- GREVE, M. W. e ZINK, B. J. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Mt Sinai J Med*, v.76, n.2, Apr, p.97-104. 2009.
- HALLIWELL, B. e CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr*, v.57, n.5 Suppl, May, p.715S-724S; discussion 724S-725S. 1993.
- HIMANEN, L., PORTIN, R., ISONIEMI, H., HELENIUS, H., KURKI, T. e TENOVUO, O. Longitudinal cognitive changes in traumatic brain injury: a 30-year follow-up study. *Neurology*, v.66, n.2, Jan 24, p.187-92. 2006.
- HIOTT, D. W. e LABBATE, L. Anxiety disorders associated with traumatic brain injuries. *NeuroRehabilitation*, v.17, n.4, p.345-55. 2002.
- HOLMIN, S., SODERLUND, J., BIBERFELD, P. e MATHIESEN, T. Intracerebral inflammation after human brain contusion. *Neurosurgery*, v.42, n.2, Feb, p.291-8; discussion 298-9. 1998.
- HOLSINGER, T., STEFFENS, D. C., PHILLIPS, C., HELMS, M. J., HAVLIK, R. J., BREITNER, J. C., GURALNIK, J. M. e PLASSMAN, B. L. Head injury in early adulthood and the lifetime risk of depression. *Arch Gen Psychiatry*, v.59, n.1, Jan, p.17-22. 2002.
- IWATA, A., CHEN, X. H., MCINTOSH, T. K., BROWNE, K. D. e SMITH, D. H. Long-term accumulation of amyloid-beta in axons following brain trauma without persistent upregulation of amyloid precursor protein genes. *J Neuropathol Exp Neurol*, v.61, n.12, Dec, p.1056-68. 2002.
- JAIN, K. K. Neuroprotection in traumatic brain injury. *Drug Discov Today*, v.13, n.23-24, Dec, p.1082-9. 2008.
- JIANG, J. Y., GAO, G. Y., LI, W. P., YU, M. K. e ZHU, C. Early indicators of prognosis in 846 cases of severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, v.19, n.7, Jul, p.869-74. 2002.
- JONES, N. C., CARDAMONE, L., WILLIAMS, J. P., SALZBERG, M. R., MYERS, D. e O'BRIEN, T. J. Experimental traumatic brain injury induces a pervasive hyperanxious phenotype in rats. *J Neurotrauma*, v.25, n.11, Nov, p.1367-74. 2008.
- JONES, S. C., BOSE, B., FURLAN, A. J., FRIEL, H. T., EASLEY, K. A., MEREDITH, M. P. e LITTLE, J. R. CO₂ reactivity and heterogeneity of cerebral blood flow in ischemic, border zone, and normal cortex. *Am J Physiol*, v.257, n.2 Pt 2, Aug, p.H473-82. 1989.
- JORGE, R. E., ROBINSON, R. G., MOSER, D., TATENO, A., CRESPO-FACORRO, B. e ARNDT, S. Major depression following traumatic brain injury. *Arch Gen Psychiatry*, v.61, n.1, Jan, p.42-50. 2004.

- JORGE, R. E., ROBINSON, R. G., STARKSTEIN, S. E., ARNDT, S. V., FORRESTER, A. W. e GEISLER, F. H. Secondary mania following traumatic brain injury. *Am J Psychiatry*, v.150, n.6, Jun, p.916-21. 1993.
- KELLEY, B. J., FARKAS, O., LIFSHITZ, J. e POVLISHOCK, J. T. Traumatic axonal injury in the perisomatic domain triggers ultrarapid secondary axotomy and Wallerian degeneration. *Exp Neurol*, v.198, n.2, Apr, p.350-60. 2006.
- KERSEL, D. A., MARSH, N. V., HAVILL, J. H. e SLEIGH, J. W. Neuropsychological functioning during the year following severe traumatic brain injury. *Brain Inj*, v.15, n.4, Apr, p.283-96. 2001.
- KHAN, F., BAGULEY, I. J. e CAMERON, I. D. 4: Rehabilitation after traumatic brain injury. *Med J Aust*, v.178, n.6, Mar 17, p.290-5. 2003.
- KIM, E., LAUTERBACH, E. C., REEVE, A., ARCINIEGAS, D. B., COBURN, K. L., MENDEZ, M. F., RUMMANS, T. A. e COFFEY, E. C. Neuropsychiatric complications of traumatic brain injury: a critical review of the literature (a report by the ANPA Committee on Research). *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, v.19, n.2, Spring, p.106-27. 2007.
- KOENIGS, M., HUEY, E. D., RAYMONT, V., CHEON, B., SOLOMON, J., WASSERMANN, E. M. e GRAFMAN, J. Focal brain damage protects against post-traumatic stress disorder in combat veterans. *Nat Neurosci*, v.11, n.2, Feb, p.232-7. 2008.
- KOIZUMI, M. S., LEBRAO, M. L., MELLO-JORGE, M. H. e PRIMERANO, V. Morbimortalidade por traumatismo crânio-encefálico no município de São Paulo, 1997. *Arq Neuropsiquiatr*, v.58, n.1, Mar, p.81-9. 2000.
- KOPONEN, S., TAIMINEN, T., PORTIN, R., HIMANEN, L., ISONIEMI, H., HEINONEN, H., HINKKA, S. e TENOVUO, O. Axis I and II psychiatric disorders after traumatic brain injury: a 30-year follow-up study. *Am J Psychiatry*, v.159, n.8, Aug, p.1315-21. 2002.
- KOSHINAGA, M., SUMA, T., FUKUSHIMA, M., TSUBOI, I., AIZAWA, S. e KATAYAMA, Y. Rapid microglial activation induced by traumatic brain injury is independent of blood brain barrier disruption. *Histol Histopathol*, v.22, n.2, Feb, p.129-35. 2007.
- KOTAPKA, M. J., GENNARELLI, T. A., GRAHAM, D. I., ADAMS, J. H., THIBAUT, L. E., ROSS, D. T. e FORD, I. Selective vulnerability of hippocampal neurons in acceleration-induced experimental head injury. *J Neurotrauma*, v.8, n.4, Winter, p.247-58. 1991.
- KOTAPKA, M. J., GRAHAM, D. I., ADAMS, J. H. e GENNARELLI, T. A. Hippocampal pathology in fatal non-missile human head injury. *Acta Neuropathol*, v.83, n.5, p.530-4. 1992.
- KREUTZER, J. S., RAPPORT, L. J., MARWITZ, J. H., HARRISON-FELIX, C., HART, T., GLENN, M. e HAMMOND, F. Caregivers' well-being after traumatic brain injury: a multicenter prospective investigation. *Arch Phys Med Rehabil*, v.90, n.6, Jun, p.939-46. 2009.
- KUO, J. R., LO, C. J., CHIO, C. C., CHANG, C. P. e LIN, M. T. Resuscitation from experimental traumatic brain injury by agmatine therapy. *Resuscitation*, v.75, n.3, Dec, p.506-14. 2007.

- LAIRD, M. D., VENDER, J. R. e DHANDAPANI, K. M. Opposing roles for reactive astrocytes following traumatic brain injury. *Neurosignals*, v.16, n.2-3, p.154-64. 2008.
- LANGLOIS, J. A., RUTLAND-BROWN, W. e WALD, M. M. The epidemiology and impact of traumatic brain injury: a brief overview. *J Head Trauma Rehabil*, v.21, n.5, Sep-Oct, p.375-8. 2006.
- LAURER, H. L. e MCINTOSH, T. K. Experimental models of brain trauma. *Curr Opin Neurol*, v.12, n.6, Dec, p.715-21. 1999.
- LEWEN, A., MATZ, P. e CHAN, P. H. Free radical pathways in CNS injury. *J Neurotrauma*, v.17, n.10, Oct, p.871-90. 2000.
- LI, S., KUROIWA, T., KATSUMATA, N., ISHIBASHI, S., SUN, L. Y., ENDO, S. e OHNO, K. Transient versus prolonged hyperlocomotion following lateral fluid percussion injury in mongolian gerbils. *J Neurosci Res*, v.83, n.2, Feb 1, p.292-300. 2006.
- LING, G., BANDAK, F., ARMONDA, R., GRANT, G. e ECKLUND, J. Explosive blast neurotrauma. *J Neurotrauma*, v.26, n.6, Jun, p.815-25. 2009.
- LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)*, v.92, n.2, p.180-5. 1987.
- LOANE, D. J., POCIVAVSEK, A., MOUSSA, C. E., THOMPSON, R., MATSUOKA, Y., FADEN, A. I., REBECK, G. W. e BURNS, M. P. Amyloid precursor protein secretases as therapeutic targets for traumatic brain injury. *Nat Med*, v.15, n.4, Apr, p.377-9. 2009.
- MAAS, A. I., STOCCHETTI, N. e BULLOCK, R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *Lancet Neurol*, v.7, n.8, Aug, p.728-41. 2008.
- MARMAROU, A., FODA, M. A., VAN DEN BRINK, W., CAMPBELL, J., KITA, H. e DEMETRIADOU, K. A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg*, v.80, n.2, Feb, p.291-300. 1994.
- MARMAROU, A., LU, J., BUTCHER, I., MCHUGH, G. S., MUSHKUDIANI, N. A., MURRAY, G. D., STEYERBERG, E. W. e MAAS, A. I. IMPACT database of traumatic brain injury: design and description. *J Neurotrauma*, v.24, n.2, Feb, p.239-50. 2007.
- MARTINS, E. T., LINHARES, M. N., SOUSA, D. S., SCHROEDER, H. K., MEINERZ, J., RIGO, L. A., BERTOTTI, M. M., GULLO, J., HOHL, A., DAL-PIZZOL, F. e WALZ, R. Mortality in severe traumatic brain injury: a multivariate analysis of 748 Brazilian patients from Florianopolis City. *J Trauma*, v.67, n.1, Jul, p.85-90. 2009.
- MASINI, M. Perfil epidemiológico do traumatismo crânio-encefálico no Distrito Federal em 1991. *J Bras Neurocirurg*, v.5, p.61-8. 1994.
- MATHIAS, J. L. e WHEATON, P. Changes in attention and information-processing speed following severe traumatic brain injury: a meta-analytic review. *Neuropsychology*, v.21, n.2, Mar, p.212-23. 2007.
- MCALLISTER, T. W., SAYKIN, A. J., FLASHMAN, L. A., SPARLING, M. B., JOHNSON, S. C., GUERIN, S. J., MAMOURIAN, A. C., WEAVER, J. B. e YANOFSKY, N. Brain activation during

working memory 1 month after mild traumatic brain injury: a functional MRI study. *Neurology*, v.53, n.6, Oct 12, p.1300-8. 1999.

MCARTHUR, R. e BORSINI, F. Animal models of depression in drug discovery: a historical perspective. *Pharmacol Biochem Behav*, v.84, n.3, Jul, p.436-52. 2006.

MCCARTHY, M. M. Stretching the truth. Why hippocampal neurons are so vulnerable following traumatic brain injury. *Exp Neurol*, v.184, n.1, Nov, p.40-3. 2003.

MCILWAIN, K. L., MERRIWEATHER, M. Y., YUVA-PAYLOR, L. A. e PAYLOR, R. The use of behavioral test batteries: effects of training history. *Physiol Behav*, v.73, n.5, Aug, p.705-17. 2001.

MELO, J. R., SILVA, R. A. e MOREIRA, E. D., JR. Características dos pacientes com trauma cranioencefálico na cidade do Salvador, Bahia, Brasil. *Arq Neuropsiquiatr*, v.62, n.3A, Sep, p.711-4. 2004.

MILMAN, A., ZOHAR, O., MAAYAN, R., WEIZMAN, R. e PICK, C. G. DHEAS repeated treatment improves cognitive and behavioral deficits after mild traumatic brain injury. *Eur Neuropsychopharmacol*, v.18, n.3, Mar, p.181-7. 2008.

MORALES, D. M., MARKLUND, N., LEBOLD, D., THOMPSON, H. J., PITKANEN, A., MAXWELL, W. L., LONGHI, L., LAURER, H., MAEGELE, M., NEUGEBAUER, E., GRAHAM, D. I., STOCCHETTI, N. e MCINTOSH, T. K. Experimental models of traumatic brain injury: do we really need to build a better mousetrap? *Neuroscience*, v.136, n.4, p.971-89. 2005.

MORGANTI-KOSSMANN, M. C., SATGUNASEELAN, L., BYE, N. e KOSSMANN, T. Modulation of immune response by head injury. *Injury*, v.38, n.12, Dec, p.1392-400. 2007.

MUIZELAAR, J. P. Cerebral ischemia-reperfusion injury after severe head injury and its possible treatment with polyethyleneglycol-superoxide dismutase. *Ann Emerg Med*, v.22, n.6, Jun, p.1014-21. 1993.

NAGAMOTO-COMBS, K., MCNEAL, D. W., MORECRAFT, R. J. e COMBS, C. K. Prolonged microgliosis in the rhesus monkey central nervous system after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, v.24, n.11, Nov, p.1719-42. 2007.

NATHOO, N., CHETTY, R., VAN DELLEN, J. R. e BARNETT, G. H. Genetic vulnerability following traumatic brain injury: the role of apolipoprotein E. *Mol Pathol*, v.56, n.3, Jun, p.132-6. 2003.

OBRENOVITCH, T. P. e URENJAK, J. Is high extracellular glutamate the key to excitotoxicity in traumatic brain injury? *J Neurotrauma*, v.14, n.10, Oct, p.677-98. 1997.

OHKAWA, H., OHISHI, N. e YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, v.95, n.2, Jun, p.351-8. 1979.

OLNEY, J. W., PRICE, M. T., SAMSON, L. e LABRUYERE, J. The role of specific ions in glutamate neurotoxicity. *Neurosci Lett*, v.65, n.1, Mar 28, p.65-71. 1986.

OMMAYA, A. K. e HIRSCH, A. E. Tolerances for cerebral concussion from head impact and whiplash in primates. *J Biomech*, v.4, n.1, Jan, p.13-21. 1971.

- PANDEY, D. K., YADAV, S. K., MAHESH, R. e RAJKUMAR, R. Depression-like and anxiety-like behavioural aftermaths of impact accelerated traumatic brain injury in rats: a model of comorbid depression and anxiety? *Behav Brain Res*, v.205, n.2, Dec 28, p.436-42. 2009.
- PAYLOR, R., SPENCER, C. M., YUVA-PAYLOR, L. A. e PIEKE-DAHL, S. The use of behavioral test batteries, II: effect of test interval. *Physiol Behav*, v.87, n.1, Jan 30, p.95-102. 2006.
- PEEK-ASA, C., MCARTHUR, D., HOVDA, D. e KRAUS, J. Early predictors of mortality in penetrating compared with closed brain injury. *Brain Inj*, v.15, n.9, Sep, p.801-10. 2001.
- PELEGRIN-VALERO, C. A., GOMEZ-HERNANDEZ, R., MUNOZ-CESPEDES, J. M., FERNANDEZ-GUINEA, S. D. e TIRAPU-USTARROZ, J. [Nosologic aspects of personality change due to head trauma]. *Rev Neurol*, v.32, n.7, Apr 1-15, p.681-7. 2001.
- PETCHPRAPAI, N. e WINKELMAN, C. Mild traumatic brain injury: determinants and subsequent quality of life. A review of the literature. *J Neurosci Nurs*, v.39, n.5, Oct, p.260-72. 2007.
- PETRONILHO, F., FEIER, G., DE SOUZA, B., GUGLIELMI, C., CONSTANTINO, L. S., WALZ, R., QUEVEDO, J. e DAL-PIZZOL, F. Oxidative Stress in Brain According to Traumatic Brain Injury Intensity. *J Surg Res*, May 19. 2009.
- PICK, C. G., BARATZ, R., RUBOVITCH, V. e FRENK, H. The Influence of Alcohol on behavioral recovery following mTBI in mice. *J Neurotrauma*, Dec 11. 2009.
- PORSOLT, R. D., BERTIN, A. e JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, v.229, n.2, Oct, p.327-36. 1977.
- PULLELA, R., RABER, J., PFANKUCH, T., FERRIERO, D. M., CLAUS, C. P., KOH, S. E., YAMAUCHI, T., ROLA, R., FIKE, J. R. e NOBLE-HAEUSSLEIN, L. J. Traumatic injury to the immature brain results in progressive neuronal loss, hyperactivity and delayed cognitive impairments. *Dev Neurosci*, v.28, n.4-5, p.396-409. 2006.
- RAO, V. L., DOGAN, A., TODD, K. G., BOWEN, K. K. e DEMPSEY, R. J. Neuroprotection by memantine, a non-competitive NMDA receptor antagonist after traumatic brain injury in rats. *Brain Res*, v.911, n.1, Aug 17, p.96-100. 2001.
- REISS, D., WICHMANN, J., TEKESHIMA, H., KIEFFER, B. L. e OUAGAZZAL, A. M. Effects of nociceptin/orphanin FQ receptor (NOP) agonist, Ro64-6198, on reactivity to acute pain in mice: comparison to morphine. *Eur J Pharmacol*, v.579, n.1-3, Jan 28, p.141-8. 2008.
- RIAL, D., DUARTE, F. S., XIKOTA, J. C., SCHMITZ, A. E., DAFRE, A. L., FIGUEIREDO, C. P., WALZ, R. e PREDIGER, R. D. Cellular prion protein modulates age-related behavioral and neurochemical alterations in mice. *Neuroscience*, v.164, n.3, Dec 15, p.896-907. 2009.
- ROSENTHAL, M., CHRISTENSEN, B. K. e ROSS, T. P. Depression following traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil*, v.79, n.1, Jan, p.90-103. 1998.
- SAHUQUILLO, J., POCA, M. A. e AMOROS, S. Current aspects of pathophysiology and cell dysfunction after severe head injury. *Curr Pharm Des*, v.7, n.15, Oct, p.1475-503. 2001.

- SATTLER, R. e TYMIANSKI, M. Molecular mechanisms of calcium-dependent excitotoxicity. *J Mol Med*, v.78, n.1, p.3-13. 2000.
- SCHEFF, S., BALDWIN, S., BROWN, R. e KRAEMER P. Morris water maze deficits in rats following traumatic brain injury: lateral controlled cortical impact. *J Neurotrauma*, v.14, n.9, p.615-27. 1997.
- SCHERBEL, U., RAGHUPATHI, R., NAKAMURA, M., SAATMAN, K. E., TROJANOWSKI, J. Q., NEUGEBAUER, E., MARINO, M. W. e MCINTOSH, T. K. Differential acute and chronic responses of tumor necrosis factor-deficient mice to experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.96, n.15, Jul 20, p.8721-6. 1999.
- SCHMIDT, O. I., HEYDE, C. E., ERTEL, W. e STAHEL, P. F. Closed head injury--an inflammatory disease? *Brain Res Brain Res Rev*, v.48, n.2, Apr, p.388-99. 2005.
- SCHOETTLE, R. J., KOCHANNEK, P. M., MAGARGEE, M. J., UHL, M. W. e NEMOTO, E. M. Early polymorphonuclear leukocyte accumulation correlates with the development of posttraumatic cerebral edema in rats. *J Neurotrauma*, v.7, n.4, Winter, p.207-17. 1990.
- SCHWARZBACH, E., BONISLAWSKI, D. P., XIONG, G. e COHEN, A. S. Mechanisms underlying the inability to induce area CA1 LTP in the mouse after traumatic brain injury. *Hippocampus*, v.16, n.6, p.541-50. 2006.
- SCHWARZBOLD, M., DIAZ, A., MARTINS, E. T., RUFINO, A., AMANTE, L. N., THAIS, M. E., QUEVEDO, J., HOHL, A., LINHARES, M. N. e WALZ, R. Psychiatric disorders and traumatic brain injury. *Neuropsychiatr Dis Treat*, v.4, n.4, Aug, p.797-816. 2008.
- SCHWARZBOLD, M., RIAL, D., DIAZ, A., THAIS, M. E., XIKOTA, J. C., PREDIGER, R. D. e WALZ, R. Phenomenology, pathophysiology and pharmacotherapy of psychiatric disorders after traumatic brain injury. *CNS Neurosci Ther*. 2010 submitted.
- SHAPIRA, M., LICHT, A., MILMAN, A., PICK, C. G., SHOHAMI, E. e ELDAR-FINKELMAN, H. Role of glycogen synthase kinase-3beta in early depressive behavior induced by mild traumatic brain injury. *Mol Cell Neurosci*, v.34, n.4, Apr, p.571-7. 2007.
- SMITH, D. H., OKIYAMA, K., GENNARELLI, T. A. e MCINTOSH, T. K. Magnesium and ketamine attenuate cognitive dysfunction following experimental brain injury. *Neurosci Lett*, v.157, n.2, Jul 23, p.211-4. 1993.
- STAHEL, P. F., SHOHAMI, E., YOUNIS, F. M., KARIYA, K., OTTO, V. I., LENZLINGER, P. M., GROSJEAN, M. B., EUGSTER, H. P., TRENTZ, O., KOSSMANN, T. e MORGANTI-KOSSMANN, M. C. Experimental closed head injury: analysis of neurological outcome, blood-brain barrier dysfunction, intracranial neutrophil infiltration, and neuronal cell death in mice deficient in genes for pro-inflammatory cytokines. *J Cereb Blood Flow Metab*, v.20, n.2, Feb, p.369-80. 2000.
- STERU, L., CHERMAT, R., THIERRY, B. e SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)*, v.85, n.3, p.367-70. 1985.
- STRONG, A. J. e DARDIS, R. Depolarisation phenomena in traumatic and ischaemic brain injury. *Adv Tech Stand Neurosurg*, v.30, p.3-49. 2005.

- TAGLIAFERRI, F., COMPAGNONE, C., KORSIC, M., SERVADEI, F. e KRAUS, J. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. *Acta Neurochir (Wien)*, v.148, n.3, Mar, p.255-68; discussion 268. 2006.
- TALTON, L.: University of California Los Angeles Behavioral Testing Core Facility. 2008 2007.
- TANG, Y. P., NODA, Y., HASEGAWA, T. e NABESHIMA, T. A concussive-like brain injury model in mice (I): impairment in learning and memory. *J Neurotrauma*, v.14, n.11, Nov, p.851-62. 1997.
- TAYLOR, A. N., RAHMAN, S. U., TIO, D. L., SANDERS, M. J., BANDO, J. K., TRUONG, A. H. e PROLO, P. Lasting neuroendocrine-immune effects of traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma*, v.23, n.12, Dec, p.1802-13. 2006.
- TEASDALE, G. e JENNETT, B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet*, v.2, n.7872, Jul 13, p.81-4. 1974.
- THURMAN, D. J., ALVERSON, C., DUNN, K. A., GUERRERO, J. e SNIEZEK, J. E. Traumatic brain injury in the United States: A public health perspective. *J Head Trauma Rehabil*, v.14, n.6, Dec, p.602-15. 1999.
- TSENER, J., BENI-ADANI, L., ASSAF, Y., ALEXANDROVICH, A. G., TREMBOVLER, V. e SHOHAMI, E. Dynamic changes in the recovery after traumatic brain injury in mice: effect of injury severity on T2-weighted MRI abnormalities, and motor and cognitive functions. *J Neurotrauma*, v.25, n.4, Apr, p.324-33. 2008.
- TWEEDIE, D., MILMAN, A., HOLLOWAY, H. W., LI, Y., HARVEY, B. K., SHEN, H., PISTELL, P. J., LAHIRI, D. K., HOFFER, B. J., WANG, Y., PICK, C. G. e GREIG, N. H. Apoptotic and behavioral sequelae of mild brain trauma in mice. *J Neurosci Res*, v.85, n.4, Mar, p.805-15. 2007.
- TYURIN, V. A., TYURINA, Y. Y., BORISENKO, G. G., SOKOLOVA, T. V., RITOV, V. B., QUINN, P. J., ROSE, M., KOCHANNEK, P., GRAHAM, S. H. e KAGAN, V. E. Oxidative stress following traumatic brain injury in rats: quantitation of biomarkers and detection of free radical intermediates. *J Neurochem*, v.75, n.5, Nov, p.2178-89. 2000.
- VAISHNAVI, S., RAO, V. e FANN, J. R. Neuropsychiatric problems after traumatic brain injury: unraveling the silent epidemic. *Psychosomatics*, v.50, n.3, May-Jun, p.198-205. 2009.
- VAKIL, E. The effect of moderate to severe traumatic brain injury (TBI) on different aspects of memory: a selective review. *J Clin Exp Neuropsychol*, v.27, n.8, Nov, p.977-1021. 2005.
- VAN REEKUM, R., COHEN, T. e WONG, J. Can traumatic brain injury cause psychiatric disorders? *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, v.12, n.3, Summer, p.316-27. 2000.
- VANDER VORST, M., ONO, K., CHAN, P. e STUHMILLER, J. Correlates to traumatic brain injury in nonhuman primates. *J Trauma*, v.62, n.1, Jan, p.199-206. 2007.
- VIGGIANO, D. The hyperactive syndrome: metanalysis of genetic alterations, pharmacological treatments and brain lesions which increase locomotor activity. *Behav Brain Res*, v.194, n.1, Dec 1, p.1-14. 2008.

- VOO, K., KUMARESAN, S., PINTAR, F. A., YOGANANDAN, N. e SANCES, A., JR. Finite-element models of the human head. *Med Biol Eng Comput*, v.34, n.5, Sep, p.375-81. 1996.
- VOS, P. E., BATTISTIN, L., BIRBAMER, G., GERSTENBRAND, F., POTAPOV, A., PREVEC, T., STEPAN CH, A., TRAUBNER, P., TWIJNSTR, A., VECSEI, L. e VON WILD, K. EFNS guideline on mild traumatic brain injury: report of an EFNS task force. *Eur J Neurol*, v.9, n.3, May, p.207-19. 2002.
- WANG, D. e CORBETT, D. Cerebral ischemia, locomotor activity and spatial mapping. *Brain Res*, v.533, n.1, Nov 12, p.78-82. 1990.
- WENDEL, A. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, v.77, p.325-33. 1981.
- WERNER, C. e ENGELHARD, K. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Br J Anaesth*, v.99, n.1, Jul, p.4-9. 2007.
- WHALEN, M. J., CARLOS, T. M., DIXON, C. E., ROBICHAUD, P., CLARK, R. S., MARION, D. W. e KOCHANNEK, P. M. Reduced brain edema after traumatic brain injury in mice deficient in P-selectin and intercellular adhesion molecule-1. *J Leukoc Biol*, v.67, n.2, Feb, p.160-8. 2000.
- WHALEN, M. J., CARLOS, T. M., KOCHANNEK, P. M. e HEINEMAN, S. Blood-brain barrier permeability, neutrophil accumulation and vascular adhesion molecule expression after controlled cortical impact in rats: a preliminary study. *Acta Neurochir Suppl*, v.71, p.212-4. 1998.
- WITGEN, B. M., LIFSHITZ, J., SMITH, M. L., SCHWARZBACH, E., LIANG, S. L., GRADY, M. S. e COHEN, A. S. Regional hippocampal alteration associated with cognitive deficit following experimental brain injury: a systems, network and cellular evaluation. *Neuroscience*, v.133, n.1, p.1-15. 2005.
- YI, J. H. e HAZELL, A. S. Excitotoxic mechanisms and the role of astrocytic glutamate transporters in traumatic brain injury. *Neurochem Int*, v.48, n.5, Apr, p.394-403. 2006.
- ZHANG, J., YOGANANDAN, N., PINTAR, F. A., GUAN, Y. e GENNARELLI, T. A. Experimental model for civilian ballistic brain injury biomechanics quantification. *J Biomech*, v.40, n.10, p.2341-6. 2007.
- ZHANG, Q. e SACHDEV, P. S. Psychotic disorder and traumatic brain injury. *Curr Psychiatry Rep*, v.5, n.3, Jul, p.197-201. 2003.
- ZOHAR, O., SCHREIBER, S., GETSLEV, V., SCHWARTZ, J. P., MULLINS, P. G. e PICK, C. G. Closed-head minimal traumatic brain injury produces long-term cognitive deficits in mice. *Neuroscience*, v.118, n.4, p.949-55. 2003.
- ZOMKOWSKI, A., OSCAR ROSA, A., LIN, J., SANTOS, A. R., CALIXTO, J. B. e LUCIA SEVERO RODRIGUES, A. Evidence for serotonin receptor subtypes involvement in agmatine antidepressant like-effect in the mouse forced swimming test. *Brain Res*, v.1023, n.2, Oct 15, p.253-63. 2004.