



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS UFSCar/UNESP**



Via Washington Luiz, km 235 – Caixa Postal 676
Fone/Fax: (016) 3351-8328 – e-mail: ppgcf@ufscar.br
CEP: 13565-905 – São Carlos, SP – Brasil.

**CARACTERIZAÇÃO DO COMPORTAMENTO DA
PRESSÃO INTRACRANIANA PELOS MÉTODOS DE
MONITORAMENTO MINIMAMENTE INVASIVO E
INVASIVO NO MODELO EXPERIMENTAL DE
EPILEPSIA DA PILOCARPINA**

DANILO AUGUSTO CARDIM

SÃO CARLOS, SP
2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS UFSCar/UNESP



Via Washington Luiz, km 235 – Caixa Postal 676
Fone/Fax: (016) 3351-8328 – e-mail: ppgcf@ufscar.br
CEP: 13565-905 – São Carlos, SP – Brasil.

CARACTERIZAÇÃO DO COMPORTAMENTO DA
PRESSÃO INTRACRANIANA PELOS MÉTODOS DE
MONITORAMENTO MINIMAMENTE INVASIVO E
INVASIVO NO MODELO EXPERIMENTAL DE
EPILEPSIA DA PILOCARPINA

DANILO AUGUSTO CARDIM

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas UFSCar/UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Mascarenhas Oliveira.

SÃO CARLOS, SP
2014

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C267cc

Cardim, Danilo Augusto.

Caracterização do comportamento da pressão intracraniana pelos métodos de monitoramento minimamente invasivo e invasivo no modelo experimental de epilepsia da pilocarpina / Danilo Augusto Cardim. -- São Carlos : UFSCar, 2014.

77 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Neurofisiologia. 2. Pressão intracraniana. 3. Monitoramento. 4. Epilepsia. 5. Pilocarpina. I. Título.

CDD: 612.8 (20^a)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Folha de Aprovação

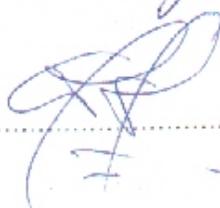
Dissertação de Mestrado de Danilo Augusto Cardim

Dia 23/05/2014

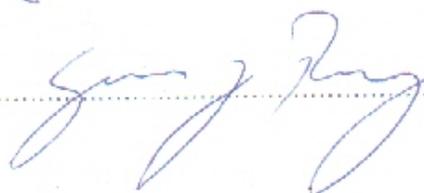
Prof. Dr. Sergio Mascarenhas Oliveira.....



Prof. Dr. Alberto Tannús.....



Prof. Dr. Gerson Jhonatan Rodrigues.....



*The choices we make, not the chances we take, determine
our destiny.*

(Autor desconhecido)

Dedicatória

A Deus, que tornou tudo possível, e que tem me oferecido tantas oportunidades inestimáveis.

À minha mãe, Célia, por todos os seus esforços e sacrifícios pela felicidade e sucesso de seus filhos. Minha eterna gratidão!

Agradecimentos

À minha família, minha mãe Célia, meu pai Valter, meus irmãos Ana Carolina e Lucas e minha avó Adélia, pelo amor e apoio incondicional em todos os momentos. Agradecimento especial à minha irmã, Ana Carolina Cardim, pela participação no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu padrinho Evandro Bellusci, por desde criança ter me incentivado a buscar cada vez mais o caminho da educação e conhecimento.

Aos meus grandes amigos, Samuel e Ligia, que mesmo longe, sempre se fazem presente em minha vida. Agradecimento especial ao Samuel, pela paciência, trabalho e disponibilidade em sempre revisar meus textos e apresentações!

Ao Prof. Dr. Alberto Tannús, pela colaboração e disponibilidade em fornecer seu laboratório (CIERMag) para a realização deste trabalho.

À toda a equipe do CIERMag, pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho. Agradecimento especial à Jackeline Moraes Malheiros, cuja ajuda foi inestimável e fundamental para este trabalho.

À Prof. Dra. Luciene Covolan pela disponibilidade em fornecer seu laboratório para a realização dos procedimentos histológicos. À Beatriz Amorim, pela ajuda nos procedimentos.

Ao Prof. Dr. Sérgio Mascarenhas e Dr. Gustavo Frigieri pelas muitas oportunidades oferecidas, pelo aprendizado, amizade e pela confiança em meu trabalho. Vocês são dois grandes agentes transformadores da minha vida! Muito obrigado sempre!

À toda a equipe do Grupo de Estudos da Pressão Intracraniana, especialmente aos amigos Dr. Charles Wang, Dr. Brenno Cabella, Ligia Gomiero e Rodrigo Andrade pelo companheirismo, ajuda e dedicação no desenvolvimento deste trabalho.

À Organização Pan-americana de Saúde (OPAS), pelos financiamentos concedidos ao Grupo de Estudos da Pressão Intracraniana, os quais contribuíram para a realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de mestrado e pelo financiamento deste trabalho (Processo FAPESP 2011/04785-7).

Resumo

Neste trabalho, o comportamento da pressão intracraniana em ratos epiléticos crônicos induzidos pelo modelo experimental de pilocarpina foi avaliado por meio de um novo método minimamente invasivo e outro invasivo. Ratos *Wistar* adultos após três meses de indução ao *status epilepticus* ou procedimentos controle foram submetidos a um processo para a aquisição de imagens de ressonância magnética, a fim de verificar alterações volumétricas nas regiões hipocampais produzidas pelo modelo da pilocarpina. Posteriormente a estes procedimentos, os animais foram monitorados simultaneamente por uma hora com os métodos de monitoramento da pressão intracraniana minimamente invasivo e invasivo, e após uma semana, submetidos a perfusão e processamento histológico de seus encéfalos para a técnica de neo-Timm. As análises consistiram da quantificação da frequência de crises espontâneas e recorrentes para o grupo pilocarpina; e para ambos os grupos, determinação do volume das regiões hipocampais, transformada de Fourier de tempo curto para os dados obtidos com o método invasivo, determinação do espectro de frequências para os dados obtidos com os métodos minimamente invasivo e invasivo, e verificação da presença de brotamento de fibras musgosas. A análise do espectro de frequências demonstrou uma correspondência no domínio da frequência para ambos os grupos para os dois métodos de monitoramento da pressão intracraniana utilizados. Em relação à análise da transformada de Fourier de tempo curto, foram observadas oscilações ao longo do tempo de monitoramento quanto às frequências da pressão intracraniana nos animais epiléticos em comparação com os controles. A quantificação de frequência de crises para os animais epiléticos crônicos apresentou um número crescente ao longo do tempo experimental. A volumetria hipocampal mostrou reduções estatisticamente significativas no grupo pilocarpina em comparação com o controle. Todos os animais epiléticos utilizados neste estudo apresentaram brotamentos de fibras musgosas quando comparados ao grupo controle. O comportamento da pressão intracraniana em indivíduos com epilepsia não está elucidado na literatura, uma vez que existem poucos estudos associando esses dois importantes fatores neurológicos. Este trabalho vem colaborar com esta questão, na tentativa de fornecer uma abordagem experimental introdutória a estes temas de grande importância para a saúde pública.

Abstract

In this work, a new minimally invasive (ICPmi) and an invasive (ICPi) intracranial pressure (ICP) monitoring methods were used to evaluate intracranial pressure behavior in chronic epileptic rats, induced by the experimental model of pilocarpine. Using adult Wistar rats after three months from pilocarpine induced *status epilepticus* or control procedures, animals underwent a procedure for magnetic resonance imaging acquisition in order to verify volumetric changes in the hippocampal regions. Then, their ICPs were monitored simultaneously for 1 h using ICPmi and ICPi methods, followed by Neo-Timm histological processing of their brains after a week. Analyses consisted of spontaneous recurrent seizures (SRSs) frequency quantification for the pilocarpine group; and for both groups, volume determination of the hippocampal regions using MRI techniques, short-time Fourier transform for ICPi and spectral frequency determinations for ICPmi and ICPi, and mossy fiber sprouting presence verification. Spectral frequency analysis demonstrated a correspondence between ICPmi and ICPi in the frequency domain for both groups. For short-time Fourier transform analysis, oscillations along monitoring time in the ICP frequency were noticeable for the epileptic compared with the control animals. SRSs frequency quantification for the chronic epileptic animals showed an increasing number of seizures along experimental time. Tissue volume measurements for rostral, caudal and total hippocampus showed statistically significant reductions in the pilocarpine group compared to the control. All animals from the epileptic group presented mossy fiber sprouting in comparison with the control group. ICP characteristics of individuals with epilepsy are not elucidated in the literature, since there are few studies associating these two important neurological factors. This work is intended to provide a preliminary experimental approach to these topics of major public health importance.

Lista de ilustrações

Figura 1. Circulação do liquor no sistema nervoso central.....	19
Figura 2. Curva de Langfitt, representando a relação sigmoidal entre pressão intracraniana e volume intracraniano. A curva apresenta três partes distintas: uma parte plana que representa boa reserva compensatória (A-B), uma parte exponencial representando reserva compensatória ruim (B-C) e uma parte final plana, representando perturbação terminal de respostas cerebrovasculares em valores altos da PIC (C-D).....	22
Figura 3. Morfologia de onda da pressão intracraniana de acordo com a complacência cerebral.....	25
Figura 4. Ondas A (platô) da pressão intracraniana.....	26
Figura 5. Ondas B da pressão intracraniana.....	27
Figura 6. Onda C da pressão intracraniana.....	28
Figura 7. Esquema representativos dos métodos invasivos. 1) método intraventricular; 2) método intraparenquimatoso; 3) método subdural 4) método subaracnóideo.....	32
Figura 8. Extensômetro tipo SR-4.....	33
Figura 9. Esquema simplificado do equipamento (sistema PICMI).....	34
Figura 10. Em A, observa-se o animal posicionado na blindagem e com a cabeça na bobina, momentos antes da aquisição da IRM. Em B, o magneto supercondutor horizontal com campo 2T da Oxford Instruments utilizado para a realização das imagens.....	47
Figura 11. Esquema representativo dos protocolos experimentais propostos para os dois grupos, pilocarpina e controle. Para o grupo pilocarpina, inicialmente, foi administrada uma injeção de metilescopolamina (M-esco) (1 mg/kg, ip); após 30 minutos foi administrada pilocarpina (320 mg/kg, ip) e 90 minutos após a indução de SE, foi administrado tionembutal (Tio) (25 mg/kg, ip). O grupo controle recebeu solução salina 0,9% ao invés das drogas administradas ao grupo pilocarpina, com exceção do tionembutal. A aquisição das IRM e o monitoramento da PIC foram iniciados após três meses da indução do SE. Após estes procedimentos, os animais foram submetidos à perfusão.....	49
Figura 12. Representação gráfica dos níveis rostro-caudais (painel à esquerda), segundo o atlas de Paxinos (PAXINOS; WATSON, 1997) e os níveis correspondentes das IRM (painel à direita). Nas imagens de ressonância, observa-se a delimitação da ROI em que HD – Hipocampo Direito (em verde) e HE – Hipocampo Esquerdo (em verde). Os níveis 2,30 a 3,80 caudais ao bregma foram utilizados para análise da volumetria hipocampal utilizando IRM. Na posterior análise volumétrica, os cortes abaixo são considerados como Hipocampo Rostral.....	51

- Figura 13.** Representação gráfica dos níveis rostro-caudais (painel à esquerda), segundo o atlas de Paxinos (Paxinos; Watson, 1997) e os níveis correspondentes das imagens obtidas na ressonância (painel à direita). Nas imagens de ressonância, observa-se a delimitação da ROI em que HD – Hipocampo Direito (em verde) e HE – Hipocampo Esquerdo (em verde). Os níveis 4,5 a 5,8 caudais ao bregma foram utilizados para análise da volumetria hipocampal utilizando IRM. Na posterior análise volumétrica, os cortes abaixo são considerados como Hipocampo Caudal..... **52**
- Figura 14.** Número de crises espontâneas e recorrentes em cada período. O período consiste em 3 meses de observações comportamentais, 12 horas/dia (ciclo claro). As observações se iniciaram 15 dias após o SE. **56**
- Figura 15.** Gráfico representando as medidas do volume tecidual (em mm³) para hipocampo rostral, hipocampo caudal e hipocampo total, três meses após o SE. Após este período, houve redução estatisticamente significativa do HR (*p<0,05), HC (†p<0,01), e HT (†p<0,01) no grupo pilocarpina quando comparados ao controle..... **57**
- Figura 16.** Imagens de ressonância magnética de um animal tratado com pilocarpina (A-D) e outro controle (E-H) em diferentes cortes, 3 meses após o SE. Nota-se o dano hipocampal com consequente aumento ventricular (setas vermelhas) no animal tratado com pilocarpina quando comparado ao controle. As imagens compreendem ao Hipocampo Rostral (HR) em diferentes cortes, porém correspondentes quando comparados entre os grupos. Os cortes A e E, por exemplo, estão na mesma posição caudais ao bregma em animais distintos..... **58**
- Figura 17.** A análise histológica de neo-Timm foi realizada para verificação da presença de brotamento de fibras musgosas no modelo da pilocarpina. Em A, representação gráfica do corte coronal situado 3,60 caudal ao bregma (PAXINOS; WATSON, 1997) em que as análises foram realizadas. As análises foram realizadas na camada molecular interna (m) do giro denteado (GDI, giro denteado inferior e GDS, giro denteado superior), como pode ser observado em A, B e C. Todos os animais do grupo pilocarpina apresentaram brotamentos em relação ao controle. Em B e C, cortes histológicos representativos dos animais dos grupo pilocarpina e controle, respectivamente, nos quais a presença dos brotamentos foi verificada a partir de escala de cinza (aumento de 10 vezes)..... **60**
- Figura 18.** Análise do espectro de frequências dos dados obtidos a partir dos métodos minimamente invasivo e invasivo para os grupos epiléptico e controle, demonstrando que os dois métodos foram capazes de adquirir frequências da PIC correspondentes. **62**
- Figura 19.** Análise da transformada de Fourier de tempo curto para dados obtidos com o método invasivo de monitoramento da PIC. É possível observar oscilações de amplitude e dispersões nos componentes de frequência da PIC do grupo epiléptico comparado com o controle. Setas vermelhas indicam a frequência fundamental considerada (frequência cardíaca). **63**

Lista de tabelas

Tabela 1. Resultados do estudo da volumetria (média±EPM), para os grupos pilocarpina e controle. Foram realizadas medidas (em mm³) dos volumes dos hipocampus rostral (HR), caudal (HC) e total (HT). * indica significância estatística para p<0,05 e † para p<0,01 em relação ao controle.....**57**

Lista de abreviaturas e siglas

A: área

C_{arterial}: complacência arterial

C_{venosa}: complacência venosa

C_{liquórica}: complacência liquórica

CA1: corno de Ammon

C_{cerebral}: complacência cerebral

CER: crises epilépticas espontâneas e recorrentes

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

CIERMag: Centro de Imagens e Espectroscopia "*in vivo*" por Ressonância Magnética para Estudo de Modelos Animais

EEG: eletroencefalograma

ELT: epilepsia do lobo temporal

EPM: erro padrão da média

F: força

FSC: fluxo sanguíneo cerebral

g: grama

GDI: giro denteado inferior

GDS: giro denteado superior

H⁺: íon hidrogênio

HC: hipocampo caudal

HD: hipocampo direito

HE: hipocampo esquerdo

HIC: hipertensão intracraniana

HR: hipocampo rostral

HT: hipocampo total

Hz: Hertz

im: intramuscular

ip: intraperitoneal

IRM: imagem por ressonância magnética

K⁺: íon potássio

kg: kilograma

ℓ : comprimento do condutor

LCR: líquido cefalorraquidiano ou liquor

m: camada molecular interna

MC: massa corporal

M-esco: metilescopolamina

mg: miligrama

min: minuto

mL: mililitros

mm: milímetros

mm³: milímetros cúbicos

mmHg: milímetros de mercúrio

n: número de animais

Na⁺: íon sódio

O₂: oxigênio

°C: grau Celsius

P: pressão

P₀: pressão intracraniana de referência

P1: primeiro pico da pressão intracraniana

P2: segundo pico da pressão intracraniana

P3: terceiro pico da pressão intracraniana

PAM: pressão arterial média

PIC: pressão intracraniana

Pilo: pilocarpina

PICMI: método de monitoramento minimamente invasivo da pressão intracraniana

PPC: pressão de perfusão cerebral

P_{ss}: pressão do seio sagital

PV: pressão venosa

PVC: pressão venosa central

R: resistência elétrica de um condutor

RMN: ressonância magnética nuclear

ROI: região de interesse

RVC: resistência vascular cerebral

s: segundo

SE: *status epilepticus*

SNC: sistema nervoso central

T: Tesla

TC: tomografia computadorizada

TFTC: transformada de Fourier de tempo curto

Tio: tiopental

V: Volt

ΔP : variação de pressão

ΔV : variação de volume

ρ : resistividade do condutor

μm : micrômetro

Sumário

1	Introdução	15
1.1	Pressão Intracraniana	15
1.1.1	Componente vascular encefálico.....	15
1.1.2	Componente liquórico	18
1.1.3	Componente parenquimatoso	19
1.1.4	Pressão intracraniana e volume intracraniano	21
1.1.5	Complacência cerebral.....	22
1.1.6	Valores de referência da pressão intracraniana	24
1.1.7	Morfologia de onda da pressão intracraniana.....	24
1.2	Doutrina Monro-Kellie	28
1.3	Métodos de monitoramento da pressão intracraniana	31
1.3.1	Métodos invasivos	31
1.3.2	Monitoramento minimamente invasivo	33
1.3.3	Métodos alternativos para determinação da pressão intracraniana	35
1.3.3.1	Radiografias simples do crânio	35
1.3.3.2	Tomografia axial computadorizada.....	36
1.3.3.3	Ressonância magnética nuclear.....	36
1.3.3.4	Angiografia cerebral.....	37
1.3.3.5	<i>Doppler</i> transcraniano	37
1.4	Epilepsia	37
1.4.1	Modelo experimental de epilepsia: o modelo da pilocarpina.....	39
1.4.2	Monitoramento da PIC em epilepsia.....	41
2	Justificativa	42
3	Objetivos.....	43
3.1	Objetivo geral.....	43
3.2	Objetivo específico	43

4	 Materiais e métodos	44
4.1	Animais	44
4.2	Protocolos experimentais	44
4.2.1	Indução do <i>Status Epilepticus</i>	44
4.2.2	Imagens por ressonância magnética	45
4.2.3	Cirurgia para implante dos sensores minimamente invasivo e invasivo	47
4.2.4	Perfusão e processamento histológico	48
4.3	Análise dos dados.....	49
4.3.1	Análise da frequência de crises	49
4.3.2	Volumetria das imagens por ressonância magnética.....	49
4.3.3	Monitoramento da pressão intracraniana	53
4.3.4	Análise histológica.....	53
5	 Resultados e discussão	55
5.1	Indução dos <i>Status Epilepticus</i>	55
5.2	Determinação da frequência de crises	55
5.3	Volumetria das imagens por ressonância magnética	56
5.4	Análise histológica.....	59
5.5	Monitoramento da pressão intracraniana	60
6	 Conclusão.....	66
7	 Sugestões para pesquisas futuras.....	68
8	 Referências bibliográficas	69

1 Introdução

1.1 Pressão Intracraniana

A pressão intracraniana (PIC) é a pressão existente no interior da caixa craniana e está diretamente relacionada com três componentes deste espaço: (I) componente parenquimatoso - constituído pelas estruturas encefálicas; (II) componente liquórico - constituído pelo líquido cefalorraquidiano ou liquor (LCR) das cavidades ventriculares e do espaço subaracnóideo; e (III) componente vascular cerebral - caracterizado pelo sangue circulante no compartimento intracraniano a cada momento. A relação de pressão existente entre estes componentes se ajusta constantemente para manter o equilíbrio do sistema intracraniano, e a manutenção da PIC em seus valores normais depende da preservação do volume intracraniano (CARLOTTI JR; COLLI; DIAS, 1998).

1.1.1 Componente vascular encefálico

A respeito do componente vascular encefálico, o volume sanguíneo que circula no sistema nervoso central (SNC) corresponde a aproximadamente 4,5 mL/100 g de tecido encefálico, e está dividido em 60% do volume em sangue venoso e o restante em sangue arterial (MUIZELAAR; OBRIST, 1985).

Vários parâmetros fisiológicos são utilizados para o entendimento e monitoramento da atividade encefálica. O fluxo sanguíneo cerebral (FSC) é a quantidade de sangue fornecida ao encéfalo em um determinado momento, e está relacionado à atividade encefálica; a pressão de perfusão cerebral (PPC) é o gradiente de pressão que possibilita a circulação sanguínea nos constituintes intracranianos; a resistência vascular cerebral (RVC) é a resistência exercida pelos vasos contra a saída de sangue para os tecidos; a pressão arterial média (PAM) é a pressão arterial média no interior das artérias, e a pressão venosa (PV) é a pressão no interior das veias (CARLOTTI JR; COLLI; DIAS, 1998).

O FSC e a PPC são diretamente proporcionais, e o FSC é inversamente proporcional à RVC. A PPC é igual à PAM menos a PV. Em humanos, a pressão nos seios venosos é de difícil mensuração, e como a PV ocorre de forma paralela à PIC,

considera-se que a PPC é igual à diferença entre a PAM e a PIC. Portanto, o FSC pode ser expresso na equação 1 (CARLOTTI JR; COLLI; DIAS, 1998):

$$\text{FSC} = \text{PPC/RVC} = [\text{PAM-PV(PIC)}]/\text{RVC} \text{ (Equação 1).}$$

O fluxo sanguíneo cerebral possui mecanismos de autorregulação para controlar a pressão de perfusão cerebral no SNC. A autorregulação do FSC pode ser definida como a capacidade de aumento do FSC devido ao aumento da necessidade metabólica do encéfalo (HALSEY, 1979) e diminuição do fluxo com redução da demanda (autorregulação metabólica) ou como a capacidade de manutenção do fluxo apesar do aumento ou da redução da pressão arterial sistêmica (autorregulação pressórica) (MUIZELAAR; OBRIST, 1985).

A autorregulação está presente em muitos leitos vasculares, mas é particularmente bem desenvolvida no encéfalo, provavelmente devido à necessidade de um fornecimento constante de sangue e manutenção da homeostase. Em adultos normotensos, o FSC é mantido a aproximadamente 50 mL por 100 g de tecido encefálico por minuto, desde que a PPC esteja na faixa de aproximadamente 60 a 160 mmHg (milímetros de mercúrio) (PHILLIPS; WHISNANT, 1992). Acima e abaixo deste limite, a autorregulação é perdida e o FSC torna-se dependente da PAM de forma linear (OSOL et al., 2002; CIPOLLA; OSOL, 1998; HEISTAD; KONTOS, 1979). Quando a PPC cai abaixo do limite inferior da autorregulação ocorre isquemia cerebral (HOSSMANN, 2006; HOSSMANN, 1994). A diminuição do FSC pode ser compensada por um aumento na extração de oxigênio do sangue (IADECOLA, 1998), e sinais ou sintomas clínicos de isquemia não são observados até que a redução da perfusão exceda a capacidade de aumento da extração de oxigênio para satisfazer as necessidades metabólicas. Neste ponto, os sinais clínicos de hipoperfusão podem ocorrer, incluindo tonturas, estado mental alterado e danos irreversíveis ao tecido (infarto) (HOSSMANN, 1994; IADECOLA, 1998).

Os mecanismos da autorregulação não são completamente compreendidos e provavelmente diferem com aumentos ou diminuições na pressão de perfusão. Embora o envolvimento neuronal na autorregulação seja plausível, estudos tem demonstrado que a autorregulação do fluxo sanguíneo cerebral é preservada em animais com o sistema nervoso autônomo (simpático e parassimpático) desnervado, indicando que uma grande contribuição de fatores

neurogênicos extrínsecos à autorregulação do FSC seja improvável (BUSIJA; HEISTAD, 1984). Recentemente, tem sido mostrado um papel do óxido nítrico neuronal na modulação da autorregulação do FSC, o que sugere que apesar da inervação extrínseca não estar envolvida, a inervação intrínseca pode ter um papel importante (TALMAN; DRAGON, 2007). Subprodutos de metabolismo também tem sido propostos como tendo um papel na autorregulação (PAULSON; STRANDGAARD; EDVINSSON, 1990). Reduções no FSC estimulam a liberação de substâncias vasoativas do cérebro que causam dilatação arterial. Os candidatos a essas substâncias vasoativas incluem H^+ , K^+ , O_2 , adenosina, dentre outros.

A autorregulação quando a pressão flutua na parte alta da curva autorregulatória se deve provavelmente ao comportamento miogênico do músculo liso das artérias cerebrais que se contrai em resposta à pressão elevada, e dilata em resposta à diminuição da pressão (KONTOS et al., 1978; MELLANDER, 1989; BUSIJA; HEISTAD, 1984; OSOL et al., 2002). A importância da contribuição da atividade miogênica na autorregulação é demonstrada *in vitro* em artérias cerebrais isoladas e pressurizadas que contraem em resposta a um aumento da pressão e dilatam em resposta à diminuição da pressão (OSOL et al., 2002; CIPOLLA et al., 2009). A autorregulação em pressões abaixo da faixa de pressão miogênica provavelmente envolve hipóxia e liberação de fatores metabólicos (KONTOS et al., 1978).

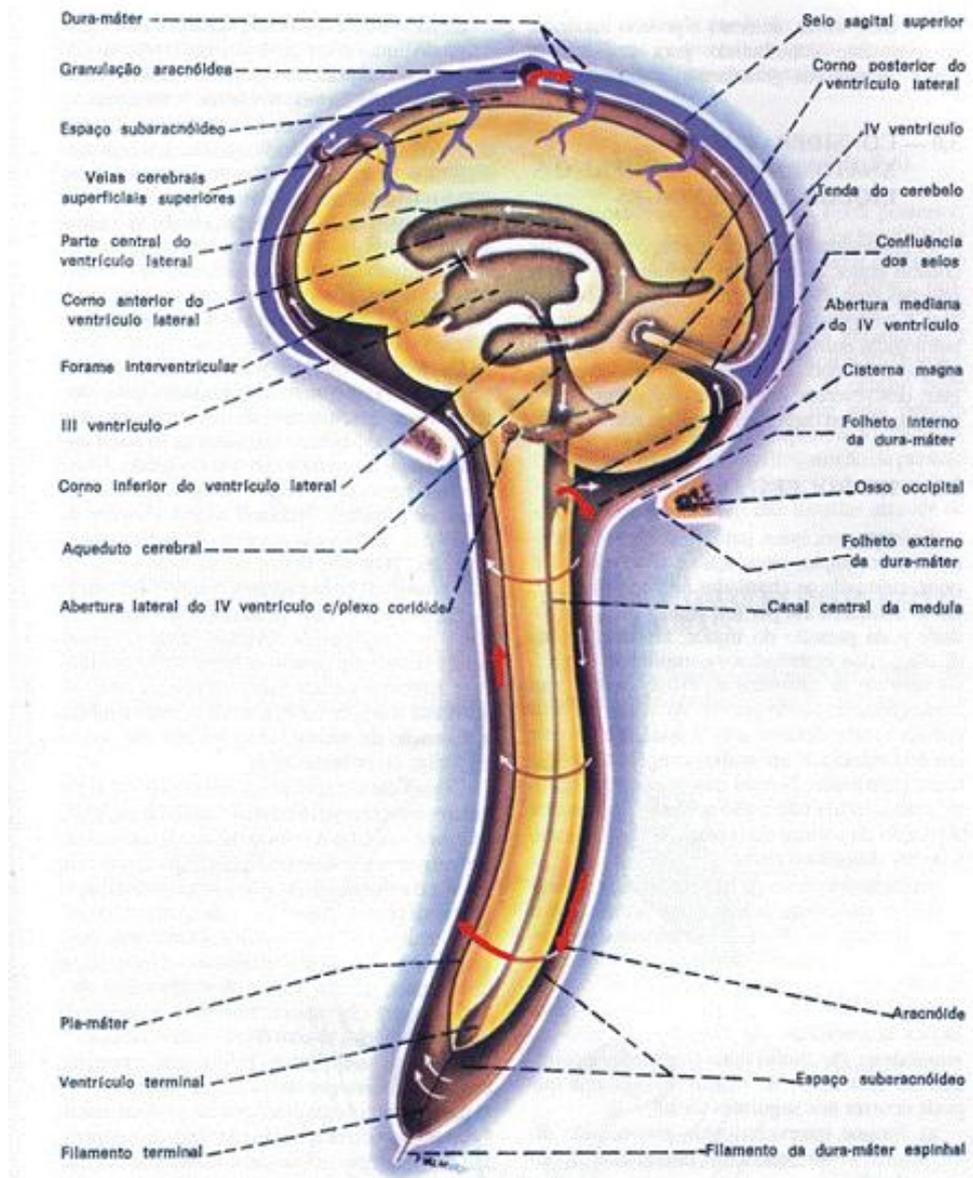
A importância da autorregulação na função normal do cérebro é realçada pelo fato de que lesões cerebrais significativas ocorrem quando os mecanismos autorreguladores são perdidos. Por exemplo, em situações de hipertensão aguda nas quais ocorrem pressões acima do limite autorregulatório, a constrição miogênica do músculo liso vascular é superada pela pressão intravascular excessiva, resultando em dilatação forçada dos vasos cerebrais (EUSER; CIPOLLA, 2007; LASSEN; AGNOLI, 1972; JOHANSSON et al., 1970; KONTOS et al., 1978). A perda de tônus miogênico durante a dilatação forçada diminui a RVC, um resultado que pode produzir um grande aumento no FSC (300-400%), conhecido como *autoregulatory breakthrough* (EUSER; CIPOLLA, 2007; LASSEN; AGNOLI, 1972; JOHANSSON et al., 1970; KONTOS et al., 1978). Além disso, a diminuição da resistência vascular cerebral aumenta a pressão hidrostática sobre o endotélio cerebral, causando a formação de edema (EUSER; CIPOLLA, 2007; LASSEN; AGNOLI, 1972; JOHANSSON et al., 1970), que é a causa

subjacente de condições tais como a encefalopatia hipertensiva e eclampsia (EUSER; CIPOLLA, 2007; CIPOLLA, 2007).

1.1.2 Componente liquórico

Em relação ao componente liquórico da PIC, o líquido cefalorraquidiano compõe 10% do interior da caixa craniana, e considerando-se todo o SNC, corresponde, em média, a 150 mL. O LCR é produzido principalmente nos plexos coroides dos ventrículos cerebrais, a uma taxa que varia entre 0,3 a 4 mL/minuto (CARLOTTI JR; COLLI; DIAS, 1998). Existe também, em menor quantidade (aproximadamente 30%), produção de liquor através da transudação de líquido pelo epêndima, uma membrana epitelial que reveste interiormente os ventrículos e o canal central da medula. A reabsorção do LCR ocorre principalmente em estruturas existentes na membrana aracnoide, chamadas de vilosidades da aracnoide. Estas constituem um sistema de drenagem passivo e unidirecional, controlado através do aumento da pressão existente no líquido cefalorraquidiano (MILHORAT, 1971; BAKAY; WOOD, 1985). Após a produção nos ventrículos laterais, o LCR circula através dos forames interventriculares para o terceiro ventrículo e deste para o quarto ventrículo, através do aqueduto cerebral. Do quarto ventrículo, o LCR sai pelas suas aberturas laterais e medianas e alcança as cisternas basais (CARLOTTI JR; COLLI; DIAS, 1998). Além disso, o LCR circula ao redor da medula no canal raquidiano, em um movimento de entrada e saída da caixa craniana (figura 1) (BAKAY; WOOD, 1985; POLLAY, 1997).

Figura 1. Circulação do liquor no sistema nervoso central.



Fonte: Extraído de DANGELO, J. G; FATTINI, C. A. **Anatomia humana básica.** 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2006. 184 p.

1.1.3 Componente parenquimatoso

Acerca do componente parenquimatoso, o tecido encefálico corresponde a 85% do interior craniano, sendo constituído por substância cinzenta, na qual predomina corpos celulares, e por substância branca, basicamente composta por axônios e mielina. Apenas 25% do volume encefálico são constituídos por parênquima, sendo os outros 75% formados por água distribuída nos espaços intra e intercelulares (POPP; BOURKE, 1977).

O aumento do volume encefálico pode ocorrer em decorrência do crescimento anormal de um tecido (exemplo: tumores), pelo aparecimento de uma resposta inflamatória como consequência da atuação do sistema imunológico sobre um agente infeccioso (abscesso ou granulomas) ou devido ao acúmulo de líquidos nos espaços intersticial e/ou intracelular. O acúmulo de líquidos é chamado de edema cerebral, e resulta do funcionamento inadequado dos mecanismos de transporte da água e de eletrólitos entre os capilares e espaços intra e extracelulares (CARLOTTI JR; COLLI; DIAS, 1998). De acordo com o mecanismo de formação, o edema pode ser dividido em vasogênico e citotóxico.

O edema vasogênico resulta da quebra da barreira hematoencefálica, o que provoca aumento da permeabilidade do endotélio capilar e permite o extravasamento de componentes do plasma (água e proteínas), para o espaço intersticial. A partir do local da lesão, o líquido do edema espalha-se pela substância branca adjacente, por gradiente de pressão. A composição do líquido do edema é intermediária entre o plasma e o líquido extracelular e varia desde a sua formação até a sua resolução (ASATO, 1983; CARLOTTI JR; COLLI; DIAS, 1998).

Este tipo de edema acarreta nos seguintes problemas: alteração na perfusão tissular por dificuldade de fluxo nos capilares, aumento do volume tissular, dificultando a difusão adequada de substratos metabólicos e catabólitos entre os compartimentos tissular e vascular, desmielinização ou interrupção do fluxo axoplasmático secundários à pressão sobre os axônios, e alterações na excitabilidade da membrana nervosa pelos componentes do líquido do edema (MARMAROU; TABADDOR, 1993).

O acúmulo de líquido no espaço intracelular recebe o nome de edema citotóxico, ou celular, e é caracterizado por um aumento do volume intracelular e redução do volume extracelular. A alteração da membrana celular é o mecanismo ultraestrutural encontrado no edema celular. A isquemia é a situação clínica em que ele ocorre com maior frequência, por alteração no suporte energético das trocas iônicas ao nível da membrana, tanto no neurônio como nas células da glia (SHIGENO, 1982; ASTRUP, 1982).

Após o colapso da bomba de Na^+ e K^+ na membrana plasmática, observa-se o acúmulo de água e Na^+ dentro da célula e de K^+ no líquido extracelular, cujo grau depende da duração e intensidade da isquemia. Nessa fase, não ocorre quebra da barreira hematoencefálica. Contudo, durante o desenvolvimento do edema

celular por isquemia, ocorre a sua transformação em vasogênico (SHIGENO, 1982; ASTRUP, 1982).

A reversão do edema intracelular pode ocorrer quando os mecanismos de troca iônica ativa, na membrana plasmática são restabelecidos (SHIGENO, 1982; ASTRUP, 1982). Existem também o edema hidrostático, que ocorre no espaço intersticial por aumento da pressão venosa (edema passivo), e o denominado edema intersticial, que se verifica nas regiões periventriculares, pela transudação transependimária de LCR, em pacientes com hidrocefalia e hipertensão intracraniana (HIC) (SHIGENO, 1982; ASTRUP, 1982).

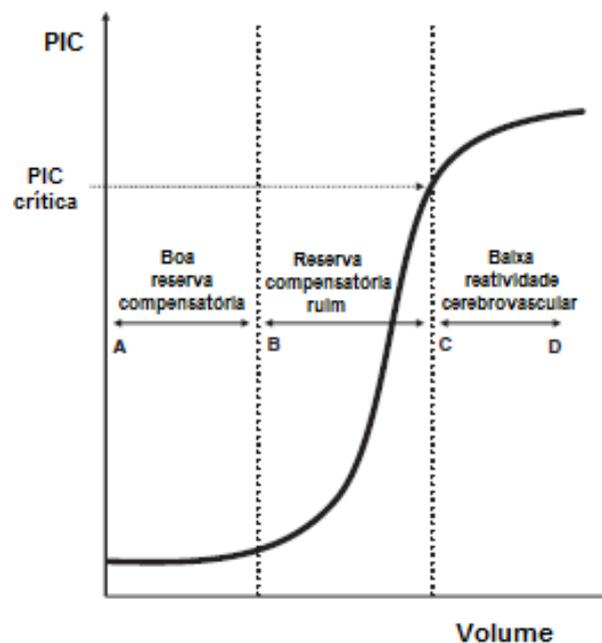
O edema cerebral pode levar a um aumento da PIC com conseqüente redução do FSC, o que por sua vez leva à hipóxia, a qual contribui para o aumento do edema, fechando um ciclo vicioso. Este, se não for impedido pelos mecanismos normais de reabsorção ou por medidas terapêuticas, pode levar à interrupção do FSC, que é o principal parâmetro clínico para a determinação de morte cerebral (CARLOTTI JR; COLLI; DIAS, 1998).

1.1.4 Pressão intracraniana e volume intracraniano

A relação do volume intracraniano com a PIC não se faz de forma linear, mas sim sigmoide (curva de Langfitt - figura 2). Qualquer alteração fisiológica ou patológica relacionada aos componentes cranianos, ou aumento do volume de qualquer componente, reflete-se sobre os valores da PIC. Por exemplo, a injeção de pequenos volumes de líquido no interior do crânio, de início, não altera substancialmente a PIC; em injeções subsequentes, o aumento é lento (figura 2, região A-B); mas a partir de um certo volume injetado, o acréscimo de pequenos volumes determina grandes aumentos na PIC (figura 2, região B-C) (CARLOTTI JR; COLLI; DIAS, 1998). Este fato acontece devido aos mecanismos de autorregulação cerebral existentes no interior do crânio estarem exauridos neste ponto, que consistem no deslocamento de liquor para dentro do saco dural ou sua reabsorção (70% da capacidade de compensação intracraniana), e a redução do volume sanguíneo por compressão do leito vascular e ejeção do sangue para fora da caixa craniana (30% da capacidade de compensação intracraniana) (LANGFITT; WEINSTEIN; KASSELL, 1966).

Desta forma, a curva de pressão-volume apresenta um aumento exponencial seguida de um platô, uma vez que a capacidade das arteríolas cerebrais para se dilatar em resposta a um decréscimo na PPC está esgotada em valores elevados da PIC (figura 2, região C-D), tendendo a entrar em colapso de forma passiva. Isto indica perturbação cerebrovascular terminal com uma diminuição da transmissão de pulsos da pressão arterial para o compartimento intracraniano (CZOSNYKA; PICKARD, 2004).

Figura 2. Curva de Langfitt, representando a relação sigmoide entre pressão intracraniana e volume intracraniano. A curva apresenta três partes distintas: uma parte plana que representa boa reserva compensatória (A-B), uma parte exponencial representando reserva compensatória ruim (B-C) e uma parte final plana, representando perturbação terminal de respostas cerebrovasculares em valores altos da PIC (C-D).



Fonte: Extraído e modificado de SMITH, M. Monitoring intracranial pressure in traumatic brain injury. *International Anesthesia Research Society*, v. 106, n. 1, p. 240-248, 2008.

1.1.5 Complacência cerebral

O conceito de complacência cerebral (ou intracraniana) insere-se neste contexto da relação entre PIC e volume intracraniano. Complacência de uma câmara distensível ou elástica é definida como a razão entre a variação de volume (ΔV) e sua correspondente variação de pressão (ΔP). A razão $\Delta V/\Delta P$ ou complacência é equivalente

à inclinação da curva de volume contra a de pressão (PIC neste caso) obtidas por injeções de quantidades conhecidas de líquido dentro do espaço intracraniano (MARMAROU; SHULMAN; LAMORGESE, 1975). Dessa forma, complacência cerebral seria a medida da distensibilidade volumétrica do espaço intracraniano. Isto é importante porque de acordo com a doutrina Monro-Kellie (ver seção 1.2), quando uma variação no volume de qualquer componente intracraniano (parenquimatoso, vascular ou líquórico) ocorrer, a magnitude da PIC necessária para que os compartimentos retornem às suas dimensões originais é dada pela complacência (MARMAROU; SHULMAN; LAMORGESE, 1975).

O problema com essa abordagem de complacência é que parte dos volumes intracranianos estão "presos" dentro do espaço crânio-espinhal, como o tecido encefálico e, em períodos curtos, líquido cefalorraquidiano circulando lentamente. No entanto, em contraste, o sangue cerebral flui através do sistema a uma taxa elevada. Conseqüentemente, e de acordo com a doutrina Monro–Kellie, qualquer tentativa de se infligir mudança volumétrica no líquido cefalorraquidiano facilmente leva a uma compensação pela migração de uma certa quantidade de sangue do compartimento venoso cerebral. Portanto, uma alteração no volume intracraniano por injeção de liquor ou por um balão de expansão intraventricular leva principalmente à medição da complacência cerebral venosa. Além da complacência venosa, o compartimento líquórico também tem um espaço limitado para compensação por meio de expansão para o espaço lombar contra os plexos venosos dentro do canal lombar. O terceiro componente pode ser associado com o componente cerebral arterial de alta pressão. Este volume é regulado ativamente por meio da modulação da tensão nos músculos lisos dos vasos cerebrais (CZOSNYKA; CITERIO, 2012).

Em resumo, a complacência cerebral é uma soma (provavelmente uma soma não algébrica, isto é, uma situação em que determinados fatores podem se sobressair a outros) de três complacências (equação 2) (CZOSNYKA; CITERIO, 2012):

$$C_{\text{cerebral}} = C_{\text{venosa}}(\text{PIC}, P_{\text{ss}}, \text{PVC}) \text{ '+' } C_{\text{líquórica}}(\text{PIC}, \text{PVC}, P_0) \text{ '+' } C_{\text{arterial}}(\text{PPC})$$

(Equação 2).

Onde P_{ss} é a pressão do seio sagital, PVC é a pressão venosa central, P_0 é a PIC de referência, e '+' é o símbolo da soma "não algébrica". Portanto, a complacência

cerebral resultante, hipoteticamente, é uma função não-linear de pressões de muitos compartimentos intracranianos (CZOSNYKA; CITERIO, 2012).

1.1.6 Valores de referência da pressão intracraniana

Os valores fisiológicos da pressão intracraniana em humanos estão compreendidos entre 3 e 15 mmHg (MARMAROU; TABADDOR, 1993; LEE; HOFF, 1996), e qualquer alteração nos componentes do espaço intracraniano reflete-se sobre os valores da PIC, podendo levar à HIC e suas sequelas (MARMAROU; TABADDOR, 1993). Alterações patológicas em certas estruturas intracranianas podem levar ao aumento da PIC, tais como acidente vascular cerebral isquêmico e hemorrágico, devido a alterações no sistema circulatório; hidrocefalia em função do acúmulo de LCR; e edemas e tumores cerebrais pelo acúmulo de líquidos e crescimento de tecidos, respectivamente (CARLOTTI JR; COLLI; DIAS, 1998).

Valores elevados da PIC levam à morte neuronal, dano que pode trazer várias sequelas ao paciente, como a perda parcial ou total da visão, fala, capacidade de locomoção, e em casos mais graves a morte. Valores entre 20 e 30 mmHg são graves e necessitam de intervenção urgente; valores entre 30 e 40 mmHg normalmente levam o paciente ao estado comatoso; e valores mantidos acima de 40 mmHg, na maioria das vezes, indicam prognóstico de óbito (POPP; BOURKE, 1977). Uma vez que a progressão dos valores da PIC pode acarretar situações clínicas graves, o monitoramento desta pressão é imprescindível para o diagnóstico seguro do seu aumento.

Para modelos experimentais não existem na literatura científica valores de referência da PIC. Porém alguns trabalhos, na tentativa de delimitar tais valores, encontraram que para ratos não anestesiados, sob monitoramento intraventricular da pressão intracraniana, esta apresentou valores de base médios de $9,58 \pm 0,54$ mmHg (SANCHEZ-VALVERDE et al., 1995) e $9,1 \pm 0,5$ mmHg (JIANG; TYSSEBOTN, 1997).

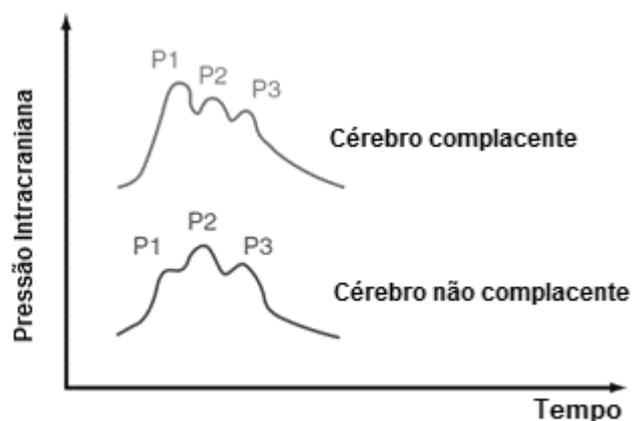
1.1.7 Morfologia de onda da pressão intracraniana

A morfologia de onda da PIC constitui-se de um traço modificado da pulsação arterial (ADAMS; BELL; MCKINLAY, 2010), e consiste de três picos característicos (figura 3). O primeiro pico (P1), denominado percussão, é resultante

da transmissão do pulso de onda arterial para o plexo coroide. O segundo pico (P2), chamado de *tidal*, varia de acordo com a complacência cerebral, e consiste da reverberação de P1 na caixa craniana. O terceiro pico (P3), é precedido pela curva dicrótica seguida do fechamento da válvula aórtica, sendo resultante deste evento (ADAMS; BELL; MCKINLAY, 2010).

O espectro de frequências da PIC é basicamente caracterizado por dois componentes de frequência principais e seus harmônicos, isto é, a frequência cardíaca (considerada a frequência fundamental da PIC) e frequência respiratória, as quais em ratos pode variar aproximadamente de 3-8 Hz (Hertz) (valores fisiológicos entre 4 e 6,5 Hz) (D'ÚSCIO et al., 2006), e 0,5-2 Hz, respectivamente (SCHULZ; MUHLE, 2006). Embora estes componentes se sobreponham de forma aleatória na morfologia da PIC, eles podem ser isolados e quantificados usando análise espectral. Por definição, um espectro de frequências é um gráfico mostrando a intensidade de componentes físicos individuais plotados contra suas frequências específicas (CZOSNYKA et al., 2007).

Figura 3. Morfologia de onda da pressão intracraniana de acordo com a complacência cerebral.



Fonte: Extraído e modificado de < http://icuroom-01-2010.blogspot.com.br/2010_01_14_archive.html>. Acesso em: 04 abr. 2014.

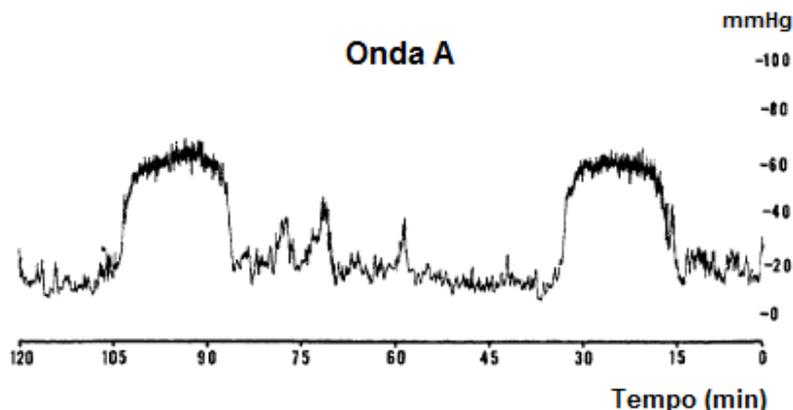
De acordo com Adams, Bell e McKinlay (2010), cérebros complacentes possuem os picos P1, P2 e P3 decrescentes nesta sequência, enquanto em cérebros que não apresentam boa complacência, o pico P2 é maior que P1 e P3, resultado dessa ausência de complacência.

Além do monitoramento da pressão e seus picos característicos, se a PIC for registrada em função do tempo, algumas formas de ondas características se

evidenciarão. Conhecidas também por *slow waves* (do inglês, ondas lentas), as Lundberg waves, podem ser divididas em três tipos: A, B e C (LUNDBERG; TROUPP; LORIN, 1965). Todos os componentes da PIC que tenham uma representação espectral dentro de limites de frequência de 0,05 a 0,0055 Hz (20 segundos – 3 minutos), podem ser classificados como *slow waves* (CZOSNYKA et al., 2007).

As ondas A (ondas de platô) (figura 4), consideradas padrões anormais da pressão intracraniana, são elevações da PIC a níveis superiores a 50-80 mmHg, com duração de 5-20 minutos (ROSNER; BECKER, 1984; CZOSNYKA et al., 1999). Após a elevação e o platô característico, a PIC apresenta queda abrupta, não retornando ao seu valor basal, o que possivelmente representa vasodilatação das artérias cerebrais em resposta a uma redução na PPC (LUNDBERG, 1960; LUNDBERG; TROUPP; LORIN, 1965; LUNDBERG; WEST, 1965). São consideradas sempre patológicas e podem estar associadas com os primeiros sintomas de herniação cerebral, tais como bradicardia e hipertensão. Elas ocorrem em pacientes com autorregulação intacta e complacência intracraniana reduzida (ROSNER; BECKER, 1984; CZOSNYKA et al., 1999). O desenvolvimento de ondas de platô leva a um ciclo vicioso, com reduções na PPC predispondo ao surgimento de mais ondas, mais reduções na PPC e isquemia cerebral irreversível (SMITH, 2008).

Figura 4. Ondas A (platô) da pressão intracraniana.

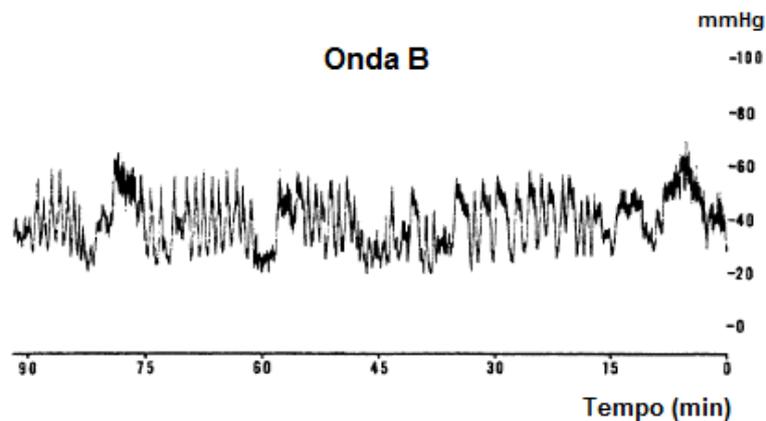


Fonte: Extraído e modificado de KINCAID, S. M.; LAM, M. A. Monitoring and Managing Intracranial Pressure. **CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology**, v. 12, n.1, p. 93-108, 2006.

As ondas B ocorrem de 0,5 a 2 vezes por minuto, com amplitude de 20 a 50 mmHg, refletindo a influência do ciclo respiratório sobre a PIC (figura 5). Elas podem ser observadas em indivíduos normais, especialmente durante o sono, mas

são consideradas anormais quando a amplitude aumenta acima dos 10 mmHg e se repetem por mais de três vezes em um período de 24 horas (RABOEL et al., 2012; LUNDBERG, 1960; LUNDBERG; TROUPP; LORIN, 1965; LUNDBERG; WEST, 1965). Elas estão relacionados com alterações no tônus vascular, provavelmente devido à instabilidade vasomotora quando a PPC está no limite inferior da autorregulação cerebral (SMITH, 2008).

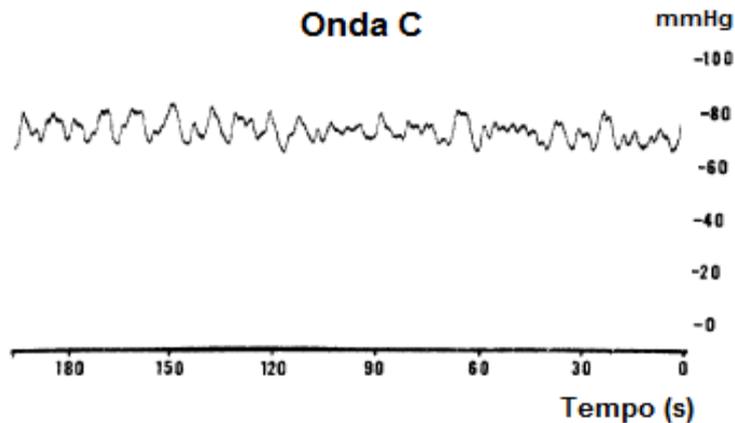
Figura 5. Ondas B da pressão intracraniana.



Fonte: Extraído e modificado de KINCAID, S. M.; LAM, M. A. Monitoring and Managing Intracranial Pressure. **CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology**, v. 12, n.1, p. 93-108, 2006.

As ondas C (figura 6) ocorrem de 4 a 8 vezes por minuto, apresentam amplitude de até 20 mmHg e refletem variações normais da PIC com o ciclo cardíaco (LUNDBERG, 1960; LUNDBERG; TROUPP; LORIN, 1965; LUNDBERG; WEST, 1965). Elas ocorrem simultaneamente com a pressão arterial, refletem mudanças no tônus vasomotor sistêmico e não apresentam nenhuma relação com doenças (SMITH, 2008).

Figura 6. Onda C da pressão intracraniana.



Fonte: Extraído e modificado de KINCAID, S. M.; LAM, M. A. Monitoring and Managing Intracranial Pressure. **CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology**, v. 12, n.1, p. 93-108, 2006.

1.2 Doutrina Monro-Kellie

Alexander Monro, anatomista escocês de uma família de professores de medicina, professor de anatomia da Faculdade de Medicina de Edimburgo, aplicou alguns dos princípios da física para o conteúdo intracraniano (MONRO, 1783). A partir da observação de pacientes e cadáveres, concluiu em 1783 que:

- O cérebro estava contido por um arcabouço ósseo (crânio) inexpandível;
- A substância formadora do cérebro era quase incompressível;
- O volume de sangue na cavidade craniana foi constante ou quase constante, e uma saída contínua de sangue venoso da cavidade craniana originou a contínua entrada de sangue arterial.

Monro também é responsável por outras descobertas importantes no campo da neuroanatomia, como por exemplo a comunicação entre os ventrículos cerebrais, que leva o nome de forame de Monro (denominado atualmente de forame interventricular) (MOKRI, 2001).

As hipóteses de Monro foram apoiadas por experiências de seu aluno George Kellie de Leith, médico escocês que realizou inúmeros estudos em cadáveres, nos quais observou fatos que possibilitaram completar e corrigir alguns pontos da teoria proposta por seu professor (MOKRI, 2001).

Kellie estudou a quantidade de sangue venosa *post-mortem* em animais e humanos mortos de várias formas. Em seu trabalho clássico, Kellie, com o auxílio de seu professor Monro, dissecaram o cadáver de dois piratas que haviam sido enforcados em Leith. Embora os tecidos extracranianos estivessem secos e ingurgitados, os vasos intracranianos continuavam intactos. Em diversos experimentos em animais, após matá-los por envenenamento ou sangria total, Kellie não observava alterações em seus cérebros, que não apresentavam palidez característica da falta de sangue ou diminuição de seu volume (KELLIE, 1824).

Kellie, através de suas observações também postulou as seguintes afirmações (KELLIE, 1824):

- O cérebro estava contido e preenchia completamente uma caixa óssea inexpandível em adultos;
- O cérebro apresentou pequena compressibilidade;
- Era improvável que qualquer líquido pudesse ser retirado, ou que qualquer excesso fosse introduzido dentro da cavidade craniana sem simultânea substituição equivalente ou deslocamento.

Citações ocasionais na literatura nomeiam esta doutrina como “Doutrina Monro-Abercrombie” (LUNDBERG, 1983). John Abercrombie foi um patologista da Faculdade de Medicina de Edimburgo, que realizou as mesmas constatações que Kellie, através de experimentos de sangria total em animais. Abercrombie observou que se realizasse uma pequena abertura no crânio dos animais, o cérebro sangrava como os demais órgãos. Este renomado cientista da época escreveu uma monografia em 1828 (ABERCROMBIE, 1828), onde apoiou as conclusões de Monro e Kellie, sendo fundamental para a aceitação da doutrina.

O descrédito da comunidade científica até então não foi surpreendente, uma vez que a ideia de Galeno, do século II, de que os ventrículos cerebrais eram cheios do “espírito vital” havia sobrevivido por muitos séculos. Mesmo quando Andreas Vesalius descreveu a existência de líquido no interior dos ventrículos, no século XVI, ele não foi acreditado. Mesmo no século XIX, Romberg afirmou que os ventrículos cerebrais estavam cheios de um gás úmido (MOKRI, 2001).

Um fisiologista francês, François Magedie, merece o crédito sobre a comprovação de um líquido existente nos ventrículos cerebrais, e comprovou a

comunicação destes com o espaço subaracnóideo e quarto ventrículo (MAGENDIE, 1842).

O reconhecimento da existência do liquor como um componente vital acrescentou outra dimensão para a equação do conteúdo craniano, acarretando um efeito profundo sobre a compreensão da pressão intracraniana.

Em 1846, um médico inglês, George Burrows, questionou pela primeira vez o conceito de volume sanguíneo fixo, que era até então a base da doutrina de Monro-Kellie. Após vários experimentos com animais, Burrows declarou existir uma relação de reciprocidade entre o volume de sangue intracraniano e o volume de liquor, sendo que o aumento de um levava à redução do outro (BURROWS, 1848). Com isto, o componente liquor entrou definitivamente na equação da Doutrina Monro-Kellie.

Cushing ofereceu uma fórmula precisa para a doutrina Monro-Kellie, e postulou que se a caixa craniana estivesse intacta, a soma dos volumes do cérebro, do liquor e do sangue intracraniano seria constante. Consequentemente, o aumento em um dos componentes deve ser corrigido através da diminuição de um dos outros dois (CUSHING, 1926). Inicialmente, a ênfase foi dirigida ao aumento da pressão intracraniana, devido a suas enormes implicações clínicas. A hipotensão intracraniana, por ser menos grave e pouco comum não foi inicialmente levada em consideração. Com o surgimento da tomografia por ressonância magnética, foi possível observar vazamentos de liquor, o que resultou na facilitação do diagnóstico da hipotensão intracraniana, explicando as alterações fisiopatológicas destas alterações (MOKRI, 2001).

Fishman foi o pioneiro na reintrodução do conceito da hipótese de Monro-Kellie, no contexto da diminuição da PIC em virtude da diminuição do volume de liquor (FISHMAN; DILLON, 1993). Considerando que o volume do crânio permanece constante após o fechamento das meninges, e de que não há alterações significativas no volume cerebral, Fishman postulou que uma diminuição no volume de liquor leva à hiperemia, ou seja, aumento no volume sanguíneo no espaço intracraniano. As alterações também ocorrem ao longo do canal vertebral, que é estruturado por componentes ósseos e fibrosos pouco elásticos (FISHMAN; DILLON, 1993).

Em sua forma original, a hipótese levantada por Monro e completada por Kellie apresentava falhas, que mais tarde foram corrigidas por terceiros. O que finalmente veio a ser conhecido como a doutrina de Monro-Kellie afirma que a soma

dos volumes do cérebro, liquor e sangue intracraniano é constante. O aumento em um deve causar uma diminuição em um ou nos outros dois componentes intracranianos, para que não ocorram anormalidades. Esta hipótese considera também que o volume craniano após o fechamento das fontanelas é constante, ou seja, não há deformação craniana em adultos em virtude do aumento ou diminuição dos componentes intracranianos.

Assim evoluiu a hipótese defendida por Alexander Monro há mais de dois séculos atrás. Seu entendimento tem sido crucial para a compreensão de diversas anomalias do sistema nervoso central, assim como para a definição dos procedimentos a serem adotados por neurologistas e neurocirurgiões.

1.3 Métodos de monitoramento da pressão intracraniana

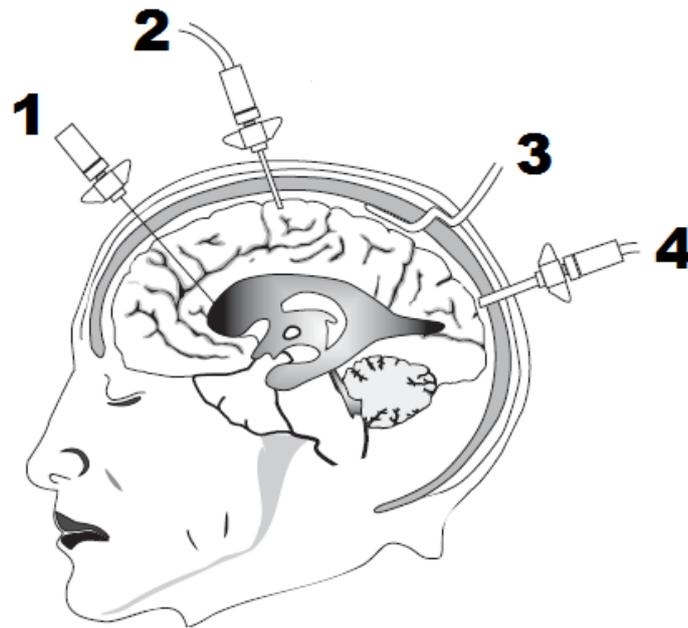
1.3.1 Métodos invasivos

Atualmente, os principais métodos de monitoramento da PIC são invasivos e os tipos mais utilizados são o intraventricular, intraparenquimatoso, subaracnóideo e subdural (figura 7). Tais métodos incluem trepanação do crânio e inserção de um cateter na caixa craniana para realização da medida. Este procedimento expõe o paciente a riscos de precipitação de hematoma intracraniano, de agravar o edema cerebral, danos no parênquima, hemorragia intracerebral e infecção intracraniana, sendo esta a mais comum das complicações, já reportada em até 8% dos pacientes monitorados com sensores intraparenquimatosos e subaracnóideos (PITLYK; PIANTANIDA; PLOEGER, 1985) e 26,6% em monitorações intraventriculares (CANGUSSÚ, 2006). Além disso, tais métodos são onerosos para o sistema público de saúde, em virtude de serem na maioria tecnologias importadas, dificultando a utilização dos mesmos no Sistema Único de Saúde.

O método intraventricular é o mais utilizado, por possibilitar além do monitoramento, a drenagem de liquor através de uma cânula que comunica o ventrículo ao meio externo. A retirada de liquor é muito importante por propiciar o controle rápido da HIC, porém, este método é o que apresenta maiores índices de infecções (CANGUSSÚ, 2006). Os sensores intraparenquimatoso, subaracnóideo e subdural medem a pressão através de seu contato direto com o tecido cerebral.

Normalmente, os pacientes permanecem monitorados por vários dias, o que se torna um problema para os sistemas invasivos. O aumento no número de dias de monitoramento leva ao aumento da taxa de infecções (AUCOIN; KOTILAINEN, 1986); e os sensores utilizados por estes sistemas apresentam também o grave problema de perderem a calibração, sendo necessária a retirada e reimplantação, o que mais uma vez expõe os pacientes aos riscos mencionados. Por exemplo, no caso dos sensores intraventriculares, a troca deve ser efetuada após 5 dias de monitoramento (LANG; CHESNUT, 1994).

Figura 7. Esquema representativos dos métodos invasivos. 1) método intraventricular; 2) método intraparenquimatoso; 3) método subdural 4) método subaracnóideo.



Fonte: Extraído e modificado de ROSS, N.; EYNON, C. A. Intracranial pressure monitoring. *Current Anaesthesia & Critical Care*, v. 16, p. 255–261, 2005.

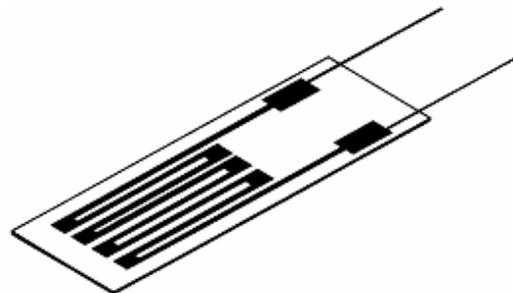
Considerando as desvantagens em potencial mencionadas a respeito dos métodos invasivos, a necessidade de desenvolvimento e aplicação de um método minimamente invasivo para o monitoramento da PIC é de considerável importância. Como será visto adiante, o método desenvolvido por nosso grupo de pesquisa (equipamento minimamente invasivo para o monitoramento da PIC – sistema PICMI, processo FAPESP 2008/53436-2) é minimamente invasivo quando comparado aos demais citados, por ser implantado sobre o crânio.

1.3.2 Monitoramento minimamente invasivo

Define-se como método de monitoramento minimamente invasivo da PIC aquele capaz de monitorar a pressão intracraniana sem penetração no crânio, minimizando dessa forma os riscos ao paciente. Várias tem sido as iniciativas de desenvolver equipamentos não invasivos para o monitoramento da PIC, no entanto, não se encontra no mercado nenhum equipamento em comercialização (VILELA, 2010).

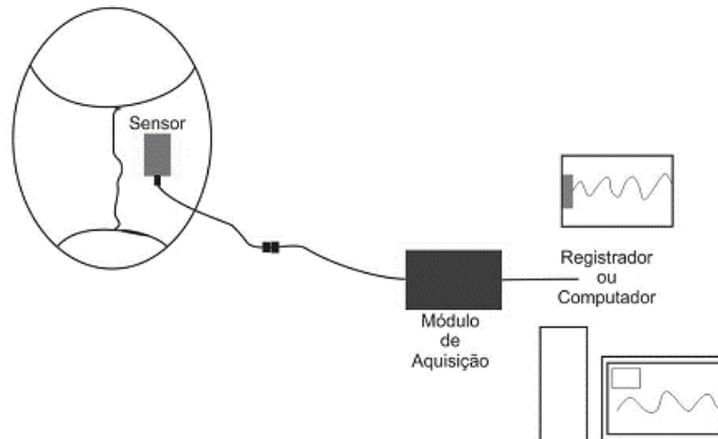
O equipamento minimamente invasivo para monitoramento da PIC desenvolvido, o sistema PICMI, é composto basicamente por um extensômetro elétrico de resistência (sensor), do tipo *strain gauge*, subtipo *foil* (diafragma ou SR-4) (figura 8), que uma vez implantado (colado) sobre o osso craniano, é capaz de captar as deformações ósseas decorrentes da variação da pressão intracraniana; e um sistema eletrônico de aquisição de dados com módulo analógico-digital conectado ao sensor por um fio elétrico no qual as informações são digitalizadas e enviadas ao computador para visualização e registro dos dados. Por fim, as informações transmitidas pelo módulo de aquisição podem ser armazenadas em um computador, e analisadas por meio de um software para processamento matemático (VILELA, 2010) (figura 9).

Figura 8. Extensômetro tipo SR-4.



Fonte: Extraído de VILELA, G. H. F. **Desenvolvimento de um sistema minimamente invasivo para monitorar a pressão intracraniana.** 2010. 126 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

Figura 9. Esquema simplificado do equipamento (sistema PICMI).



Fonte: Extraído de VILELA, G. H. F. **Desenvolvimento de um sistema minimamente invasivo para monitorar a pressão intracraniana.** 2010. 126 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

Em detrimento dos métodos invasivos, o sistema PICMI apresenta um baixo custo de produção e manutenção, o que possibilitará sua disseminação para a maioria dos hospitais da rede pública, inclusive para pequenos centros de saúde. Além disso, devido ao sensor ser colado sobre o osso craniano, o método elimina a necessidade de trepanação, presumivelmente diminuindo as complicações decorrentes dessa técnica, como infecções e traumas. Análises clínicas e laboratoriais realizadas após a utilização do sensor em cobaias não mostraram quaisquer sinais de rejeição ou infecção ocasionada pelo novo sistema de monitoramento (VILELA, 2010).

O princípio físico pelo qual o equipamento consegue captar as variações da pressão intracraniana se fundamenta na 2ª Lei de Ohm ($R = \rho \times \ell / A$), e no princípio de pressão (P), isto é, uma força (F) aplicada sobre determinada área (A) ($P = F/A$). Na 2ª Lei de Ohm, R representa a resistência elétrica de um condutor, ρ a resistividade do condutor (neste caso, a resistividade do extensômetro elétrico), que depende do material do qual ele é feito e da sua temperatura; ℓ representa o comprimento do condutor e A sua área de secção reta. Por meio desta equação se obtém a resistência elétrica do sensor de deformação (*strain gauge*). Como este permanece colado ao crânio durante o monitoramento, a sua resistência é modulada por deformações ósseas decorrentes da variação da pressão intracraniana. Logo, a resistência é equivalente à força de deformação aplicada sobre a área do sensor, e pode ser

substituída por **F** na fórmula da pressão. Uma vez que se tem a força aplicada sobre uma determinada área, pode-se calcular a pressão, que neste caso, corresponde à pressão intracraniana. Em termos de unidades, os valores da PIC são dados em Volt (V) pelo sistema PICMI.

Estudos anteriores revelam que o *strain gauge* já foi utilizado para medida de deformação óssea *in vivo* (GURDJIAN; LISSNER, 1944). Da mesma forma, existem relatos de seu uso para medição de esforço ósseo durante uma caminhada (EVANS, 1953). Um estudo subsequente a estes foi o primeiro a descrever a preparação e técnicas de colocação de *strain gauge in vivo* (LANYON et al., 1975). *Strain gauges* do tipo *foil* foram utilizados pela primeira vez em 1972 (COCHRAN, 1972), e foi observado que este procedimento era mais fácil e causava menos danos ao osso e tecidos circundantes (LANYON, 1973).

O desenvolvimento deste novo método de monitoramento da PIC foi importante pois possibilitou a quebra de um paradigma existente na medicina há mais de dois séculos, a doutrina Monro-Kellie. A partir dele foi possível constatar que o crânio apresenta capacidade de se expandir (deformar) quando submetido a um aumento na pressão interna, diferentemente do que é postulado pela doutrina Monro-Kellie de que o crânio é inexpandível, trazendo desta forma uma nova contribuição à mesma (VILELA, 2010; MASCARENHAS et al., 2012).

1.3.3. Métodos alternativos para determinação da pressão intracraniana

Existem métodos de determinação da PIC não invasivos que podem ser utilizados em algumas situações, porém devido às restrições que serão detalhadas a seguir tais métodos não substituem os métodos invasivos de monitoramento da pressão intracraniana, na maioria dos casos devido à impossibilidade de se obter um registro da PIC ao longo do tempo.

1.3.3.1. Radiografias simples do crânio

É possível se diagnosticar por meio da radiografia simples de crânio a macrocefalia, uma desproporção craniofacial em crianças, e a diástase de suturas em crianças. Apenas quadros crônicos de HIC podem ser diagnosticados desta forma,

uma vez que quadros agudos de aumento da PIC não acarretam tais alterações morfológicas. Algumas vezes é possível observar através da radiografia simples calcificações patológicas (neoplasias e lesões inflamatórias) e desvio das calcificações fisiológicas (pineal e plexos coroides). A utilização desta técnica foi praticamente abandonada após o surgimento da tomografia computadorizada (SMITH, 2008).

1.3.3.2. Tomografia axial computadorizada

Não é possível prever os valores da PIC por meio da tomografia computadorizada (TC), porém esta técnica pode fornecer dados indiretos relevantes para a sua avaliação. Entre os sinais que podem ser encontrados na TC estão: presença de lesão expansiva, geralmente com desvio de estruturas normais de sua posição original, desvio da linha média do encéfalo, desaparecimento dos ventrículos laterais e do terceiro ventrículo e dilatação do sistema ventricular, principalmente se acompanhado de hipodensidade ao redor (transudato periventricular), desaparecimento das cisternas perimesencefálicas e visualização de herniações intracranianas. A utilização da TC é indicada para pacientes com quadros crônicos de HIC, pois usualmente alterações morfológicas não são significativas em quadros agudos de HIC. A TC é realizada em duas fases, denominadas simples e contrastada (posterior à injeção de contraste iodado endovenoso). A fase contrastada é importante no esclarecimento diagnóstico de doenças em que ocorre quebra da barreira hematoencefálica. A partir dessas informações, é possível se determinar os mecanismos fisiopatológicos e o diagnóstico da causa da HIC (SMITH, 2008).

1.3.3.3. Ressonância magnética nuclear

A ressonância magnética nuclear (RMN) é um procedimento oneroso, ainda indisponível na maioria dos hospitais da rede pública do país. Pacientes agudos e em estado grave não são indicados para este procedimento, uma vez que a técnica é mais demorada que a TC e é incompatível com qualquer aparelho magnético que o paciente esteja usando (respiradores artificiais, cânulas e sensores intracranianos etc.). Embora apresente estas dificuldades, a técnica de RMN fornece imagens mais

detalhadas, o que pode auxiliar na etiologia da HIC (PARK; KIM, 2009; ANG; CHAN; MAHADEVAN, 2009).

1.3.3.4 Angiografia cerebral

Utilizando-se a angiografia cerebral é possível diagnosticar doenças vasculares que causam a HIC, como fístulas durais arteriovenosas e obstruções das veias jugulares. Este método apresenta a vantagem de poder ser utilizado quando é diagnosticado um problema vascular que tenha desencadeado o quadro de HIC, por meio da desobstrução de seios e vasos, como terapia endovascular (SHEERIN, 2009; AGID; FARB, 2006).

1.3.3.5. *Doppler* transcraniano

O *doppler* transcraniano é capaz de medir a velocidade do fluxo sanguíneo cerebral. O FSC está alterado quando ocorrem variações da PPC, e como esta é associada à PIC, o *doppler* transcraniano pode ser utilizado para o seu monitoramento e mensuração. A medida da PPC por este método apresenta um erro de 10 mmHg quando comparado à pressão real, valor elevado quando utilizado para prever os valores de PIC. Medidas seriadas podem fornecer dados mais confiáveis, desta forma, este método é indicado apenas para pacientes em unidades de terapia intensiva, onde tal procedimento pode ser repetido com maior frequência (CZOSNYKA, 1998).

1.4 Epilepsia

As epilepsias são distúrbios cerebrais caracterizados pela predisposição persistente do cérebro em gerar crises epiléticas não provocadas por insultos neurobiológicos agudos ou sistêmicos, e pelas consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais desta condição (BERG et al., 2010). A definição de epilepsia requer a ocorrência de pelo menos uma crise epilética, que compreende uma manifestação clínica ou ocorrência transitória de sinais e/ou sintomas devido à excessiva atividade neuronal excitatória e sincronização de uma população de neurônios corticais (BERG et al., 2010).

Trata-se da condição neurológica severa mais comum, e aproximadamente 60 milhões de pessoas no mundo possuem epilepsia (NGUGI et al., 2010). Segundo a Organização Mundial de Saúde, em países desenvolvidos, a epilepsia atinge entre 40-70 pessoas por 100 mil habitantes. Já em países em desenvolvimento, a incidência de casos é maior: de 80-140 pessoas a cada 100 mil habitantes (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2012). A estimativa de prevalência no Brasil é de cerca de 1,4% da população geral, o que representa uma taxa elevada do ponto de vista epidemiológico, e segundo dados da Assistência à Saúde de Pacientes com Epilepsia, existem atualmente 3 milhões de pessoas com epilepsia e, a cada dia, 300 novos casos surgem (ASSISTÊNCIA À SAÚDE DE PACIENTES COM EPILEPSIA, 2014). Estudos epidemiológicos sugerem que entre 70 e 80% das pessoas que desenvolvem epilepsia entrarão em remissão, enquanto o restante dos pacientes continuarão a ter crises epiléticas e serão refratários ao tratamento com as terapias atualmente disponíveis (SANDER, 2003; KWAN; SANDER, 2004).

Os fatores de risco mais comuns para epilepsia são doenças cerebrovasculares, tumores encefálicos, alcoolismo, traumatismos cranianos, malformações do desenvolvimento cortical, herança genética e infecções do sistema nervoso central (DUNCAN et al., 2006). Dentre os fatores citados, alguns deles estão intimamente relacionados à variação patológica dos valores da PIC, tais como doenças cerebrovasculares, tumores encefálicos e traumatismos cranianos.

Crises epiléticas e epilepsia são geralmente divididas em dois grupos: parciais e generalizadas (DUNCAN et al., 2006; BERG et al., 2010). O termo crise se refere à uma alteração transitória de comportamento devido a disparos neuronais anormais, sincronizados e repetidos no SNC (SHIN; MCNAMARA, 1994). Crises parciais ou focais tem evidência clínica ou de eletroencefalograma (EEG), de início local, e podem se disseminar para outras partes do encéfalo durante uma crise epilética, enquanto as crises generalizadas começam simultaneamente em ambos os hemisférios cerebrais (DUNCAN et al., 2006; BERG et al., 2010). A maior parte das crises parciais se origina no lobo temporal sendo então denominadas crises de lobo temporal e a epilepsia é caracterizada como epilepsia de lobo temporal (ELT) (SHIN; MCNAMARA, 1994).

A ELT é a forma mais comum de epilepsia parcial, provavelmente afetando pelos menos 20% de todos os pacientes com epilepsia, e também é a forma

mais comum de epilepsia refratária à medicação (BABB, 1999). É geralmente tratada com medicamentos antiepilépticos, tratando sua sintomatologia ao invés de antiepileptogênicos, que tratariam a causa da doença. No entanto, cerca de 40% dos casos são refratários ao tratamento medicamentoso (SHARMA et al., 2007).

Na análise histológica de estruturas temporais mesiais como o hipocampo e a amígdala, extraídas de indivíduos com ELT, é muito comum encontrar esclerose hipocampal, que é caracterizada por perda neuronal maciça acompanhada de gliose (SHIN; MCNAMARA, 1994). Outro achado histopatológico frequente nestes casos é o brotamento das fibras musgosas, que se refere ao brotamento aberrante de axônios das células granulares, ocupando a zona supra granular do giro denteado. Os botões sinápticos dos brotamentos podem ser visualizados histoquimicamente através da técnica de neo-Timm (DANSCHER, 1981), devido à alta concentração de zinco nesses terminais.

No caso da epilepsia, boa parte do conhecimento adquirido se deve ao uso de modelos animais (CURIA et al., 2008), sendo que a possibilidade de reprodução de doenças humanas nestes modelos apresenta uma grande alternativa para a biologia experimental moderna (RUSSEL, 1984). Embora o modelo experimental ideal fosse aquele capaz de reproduzir a condição patológica humana em todas as suas características, os que mimetizam apenas a disfunção e não suas causas tem se mostrado muito relevantes.

1.4.1 Modelo experimental de epilepsia: o modelo da pilocarpina

O modelo de epilepsia da pilocarpina, descrito pela primeira vez em 1983 (TURSKI et al., 1983a; TURSKI et al., 1983b), reproduz em ratos e camundongos as principais características da ELT humana, e pode ser usado para o entendimento dos mecanismos básicos da epileptogênese (CAVALHEIRO, 1995; LEITE; GARCIA-CAIRASCO; CAVALHEIRO, 2002).

Uma única dose de pilocarpina (variando de 300-380 mg/kg, intraperitoneal) (CAVALHEIRO, 1995), potente agonista muscarínico, induz agudamente mudanças comportamentais e eletrográficas sequenciais indicativas de atividade epiléptica continuada, resultando em lesões encefálicas generalizadas, algumas delas localizadas nas mesmas regiões encefálicas afetadas em pacientes com ELT, as quais estão associadas com a reorganização da rede neuronal nas

regiões hipocampal e parahipocampal (WIESER, 2004). As alterações iniciais compreendem acinesia, automatismos faciais e tremor da cabeça. Após 15-25 minutos, estas mudanças evoluem para crises motoras, espasmos clônicos, salivação, movimentos mastigatórios intensos e queda (CAVALHEIRO, 1995). Estas manifestações ocorrem a cada 2-8 minutos e culminam no *status epilepticus* (SE) dentro de 50-60 minutos após a administração de pilocarpina, cujo efeito pode durar por mais de 12 horas, tornando o animal prostrado ou criticamente debilitado (CAVALHEIRO, 1995).

A capacidade da pilocarpina para induzir SE é provavelmente dependente da ativação do subtipo de receptor muscarínico M1, uma vez que camundongos *knockout* para este receptor não desenvolvem crises epiléticas em resposta a esta substância (HAMILTON et al., 1997). Além disso, SE induzido por pilocarpina pode ser bloqueado pela administração sistêmica do antagonista muscarínico atropina (CLIFFORD et al., 1987). Uma vez que as crises são iniciadas, no entanto, a sua manutenção depende de outros mecanismos, visto que a atropina torna-se ineficaz (CLIFFORD et al., 1987). Experimentos com culturas de neurônios hipocampais demonstraram que a pilocarpina, agindo através de receptores muscarínicos, provoca um desequilíbrio entre a transmissão excitatória e inibitória, resultando na geração de SE (PRIEL; ALBUQUERQUE, 2002). Além disso, estudos de microdiálise *in vivo* revelaram que a pilocarpina provoca uma elevação dos níveis de glutamato no hipocampo após o aparecimento de crises epiléticas (SMOLDERS et al., 1997). Evidência substancial já suporta a sugestão de que, seguido da ativação dos receptores M1, as crises são mantidas pela ativação do receptor NMDA (NAGAO; ALONSO; AVOLI, 1996; SMOLDERS et al., 1997).

A administração sistêmica de pilocarpina em ratos promove alterações comportamentais e eletrográficas que podem ser divididas em três períodos distintos: (I) período agudo, no qual animal evolui progressivamente para o SE, caracterizado por crises tônico-clônicas generalizadas que perduram por até 24 horas; (II) período silente, caracterizado pela normalização progressiva do comportamento e do EEG, e pode ter uma duração de 4 a 44 dias; (III) período crônico, caracterizado pelo aparecimento de crises epiléticas espontâneas e recorrentes (CER) (CAVALHEIRO, 1995; CURIA et al., 2008). As características das CER observadas nos animais durante o período crônico são semelhantes às crises parciais complexas dos seres humanos e ocorrem de 2-3 vezes por semana/animal (CAVALHEIRO, 1995; ARIDA

et al., 1999a; ARIDA et al., 1999b). Além disso, o modelo de epilepsia induzido pela pilocarpina é válido não somente para se estudar a patogênese da ELT humana, como também para se testar a viabilidade de drogas antiepilépticas (SCORZA et al., 2009).

1.4.2 Monitoramento da PIC em epilepsia

A revisão bibliográfica da literatura científica em relação ao estudo da pressão intracraniana revela um número reduzido de pesquisas sobre o assunto, principalmente no que se refere à ação de doenças neurológicas sobre este parâmetro.

No tocante ao monitoramento da PIC durante crises epiléticas em humanos, apenas dois estudos puderam observar um aumento desta pressão em pacientes sob monitoramento contínuo. O primeiro estudo relatou um aumento na PIC durante crises epiléticas relacionado ao tipo de crise apresentada pelo paciente, e crises do tipo tônico-clônicas estiveram associadas com um aumento mais acentuado da pressão intracraniana (SHAH et al., 2007). Já o segundo estudo revisado demonstrou que uma crise tônico-clônica generalizada causou um aumento súbito e enorme na PIC em um paciente sem histórico médico de crises epiléticas anteriores (SOLHEIM; VIK; EIDE, 2008). Em relação à experimentação animal, observou-se em gatos um aumento da pressão intracraniana durante crises epiléticas com convulsões prolongadas (GOITEIN; SHOHAMI, 1983).

2 Justificativa

As pesquisas sobre o monitoramento da pressão intracraniana apresentam uma deficiência quanto ao número de trabalhos, principalmente no que se refere à ação de doenças neurológicas sobre este parâmetro. Isto pode estar associado às complicações de se utilizar as técnicas invasivas atualmente disponíveis, as quais impossibilitam estudos em uma variedade de quadros clínicos, exceto quando o monitoramento da PIC é estritamente necessário. No tocante à experimentação animal, esta deficiência é ainda mais acentuada, possivelmente devido à indisponibilidade dos sistemas de monitoramento em laboratórios de pesquisas com animais e também pelas dificuldades técnicas quanto à utilização dos métodos invasivos em cobaias. O método minimamente invasivo, em contrapartida, por ser uma técnica cuja utilização não acarreta tais complicações e dificuldades, possibilita o monitoramento da PIC em uma variedade de quadros clínicos e situações experimentais. Ao considerar tais deficiências frente a estas novas possibilidades de monitoramento da PIC em diversas condições neurológicas, este trabalho vem ao encontro desta necessidade, na tentativa de gerar mais conhecimento a respeito da relação entre PIC e Epilepsia, condição neurológica cuja prevalência é relevante no Brasil e demais países em desenvolvimento.

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

Determinar para ratos epilépticos crônicos um padrão para o comportamento da pressão intracraniana, por meio do espectro de frequências da PIC, obtido por um método de monitoramento minimamente invasivo (PICMI) e outro invasivo (intraparenquimatoso).

3.2 Objetivo específico

- Induzir ratos a um estado epiléptico crônico por meio do modelo experimental da pilocarpina;
- Comprovar a cronicidade dos animais por meio da determinação da frequência de crises espontâneas e recorrentes, de técnicas de imagens por ressonância magnética e análise histológica de seus encéfalos;
- Verificar a capacidade do método minimamente invasivo para adquirir frequências correspondentes às obtidas pelo método invasivo em ratos epilépticos crônicos, de forma a se comparar sua eficiência com a de um método já reconhecido pela comunidade científica e médica.

4 Materiais e métodos

4.1 Animais

O protocolo experimental deste estudo compreendeu um número amostral final de 12 ratos machos da linhagem *Wistar*, adultos, com massa corporal (MC) entre 230-280 g e idade de oito semanas, provenientes de biotério particular, localizado na cidade de Paulínia, SP (ANILAB Animais de Laboratório, CNPJ 65.440.612/0001-40). Os animais foram divididos em dois grupos experimentais: um grupo controle, composto por 6 indivíduos, e um grupo tratado com pilocarpina, composto por 6 indivíduos.

Os experimentos foram realizados no Centro de Imagens e Espectroscopia "*in vivo*" por Ressonância Magnética para Estudo de Modelos Animais (CIERMag), do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo campus São Carlos. Os ratos permaneceram em biotério próprio do laboratório, acondicionados sob as seguintes condições: regime de luz (12 horas claro e 12 horas escuro), temperatura controlada ($22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), alimentação com ração comercial e água *ad libitum*. Ressalta-se que todos os procedimentos experimentais descritos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de São Carlos, Parecer CEUA 031/2012.

4.2 Protocolos experimentais

4.2.1 Indução do *Status Epilepticus*

Nos ratos do grupo tratado com pilocarpina, o *status epilepticus* foi induzido por injeções de cloridrato de pilocarpina (320 mg/kg de MC, ip), precedidas por brometo de metiloscopolamina (1 mg/kg de MC, ip), injetado 30 minutos antes para reduzir os efeitos colinérgicos periféricos da pilocarpina. Aproximadamente 30 minutos após a injeção de pilocarpina, a maioria dos animais desenvolveram SE. Para diminuir a alta taxa de mortalidade particularmente associada com crises tônicas, uma injeção de tionembital (25 mg/kg de MC, ip) foi administrada 90 minutos após o início do SE. O período agudo se estende por até 72 horas após o SE, quando se inicia o chamado período silente. No intervalo de até 72 horas após o SE, os animais foram

tratados individualmente para reposição de líquidos e sais minerais com frutas e Gatorade®. Após aproximadamente 15 dias, a primeira crise espontânea encerra o período silente, iniciando o período crônico da doença. Neste período os animais foram videomonitorados 12 horas/dia, cinco dias/semana, durante a fase clara do ciclo de luz, para a verificação de CER, de acordo com os seguintes estágios de Racine (RACINE; GARTNER; BURNHAN, 1972): III (mioclonias, movimentos automáticos e repetitivos da cabeça, náuseas e defecação), IV (estágio III, clonias das patas dianteiras, empinamentos do corpo, *wild running* e *wild jumping*), e V (estágio IV, clonias das patas dianteiras e convulsões tônico-clônicas generalizadas com perda da postura). Três meses após o SE, e uma vez determinada a frequência de crises dos animais, estes estavam prontos para receber os sensores minimamente invasivo e invasivo (intraparenquimatoso) para monitoramento da PIC (figura 11).

Em relação aos animais do grupo controle, estes foram tratados com solução salina 0,9% (0,1 mL/100g de MC, ip) e tionembital (25 mg/kg de MC, ip), em doses únicas, com o intuito de simular a condição experimental vivenciada pelos animais do grupo tratado com pilocarpina. A função do grupo controle neste protocolo experimental foi a de definir um padrão para o comportamento da PIC em animais não epiléticos, e os animais só foram instrumentados para o implante dos sensores de monitoramento após um período correspondente a estes mesmos procedimentos efetuados no grupo tratado com pilocarpina (figura 11).

4.2.2 Imagens por ressonância magnética

As Imagens por Ressonância Magnética (IRM) têm sido cada vez mais utilizadas devido ao fato da técnica ser não invasiva e possibilitar o estudo longitudinal das alterações morfológicas e funcionais no encéfalo de animais. A volumetria hipocampal utilizando IRM pode ser realizada desenhando manualmente a região de interesse (ROI, do inglês *Region of Interest*) e medindo a área dentro desta. O volume é obtido multiplicando-se a área pela espessura da fatia. O contraste das imagens deve ser adequado o suficiente para a correta delimitação da estrutura em questão. Deve-se levar em conta também o posicionamento para que os cortes correspondam à mesma região anatômica.

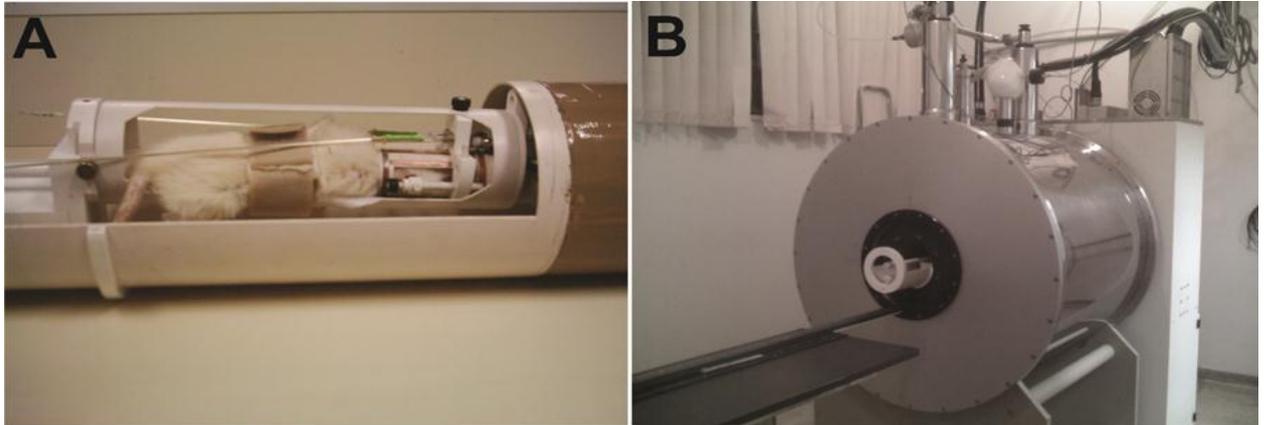
Na epilepsia, técnicas como a relaxometria T2 e a volumetria têm sido utilizadas para avaliar a lateralidade da esclerose hipocampal e distribuição dos danos (BRIELLMANN, et al., 2007; COOK et al., 1992; PELL et al., 2008; PELL et al., 2004). A esclerose hipocampal foi inicialmente descrita como o endurecimento na região do hipocampo, mais especificamente como perda celular maciça das células piramidais na região conhecida como corno de Ammon (CA1) e das células do hilo do giro denteado (MATHERN; BABB; ARMSTRONG, 1997).

Neste trabalho, as IRM foram adquiridas utilizando-se um magneto supercondutor horizontal com campo 2T da *Oxford Instruments*, modelo 65310HR, que opera em conjunto com um espectrômetro Bruker®. Para cada sessão de imagens os animais foram anestesiados com uma mistura de quetamina (95 mg/kg de MC) e xilazina (12 mg/kg de MC). Após este procedimento, os animais foram posicionados em decúbito ventral sobre um leito macio e absorvente, sendo que após o posicionamento da cabeça dentro da bobina, esta foi fixada às barras auriculares e nasal, sendo então todo o conjunto introduzido na blindagem (figura 10 A). Por último, todo este conjunto foi introduzido no magneto, que tem diâmetro interno de 150 mm (figura 10 B).

Tendo o tempo de aquisição limitado a 50 minutos devido à anestesia, a escolha do protocolo de aquisição foi: TE efetivo=67,1ms, TR=4500ms, 20 médias, RARE *factor*=6, FOV=4x4cm², matriz=192x192, *interslice*=0.5mm, espessura do corte=0.5mm, comprimento de banda=12,5kHz, tempo de aquisição: 48 minutos. Os animais foram submetidos ao procedimento de aquisição de imagens, sendo obtido contraste adequado na região hipocampal, facilitando assim a delimitação desta região.

O procedimento de aquisição das imagens foi realizado uma única vez, após 3 meses do processo de indução do SE, tanto para os animais do grupo pilocarpina quanto para os animais controle (figura 11).

Figura 10. Em A, observa-se o animal posicionado na blindagem e com a cabeça na bobina, momentos antes da aquisição da IRM. Em B, o magneto supercondutor horizontal com campo 2T da Oxford Instruments utilizado para a realização das imagens.



Fonte: Próprio autor.

4.2.3 Cirurgia para implante dos sensores minimamente invasivo e invasivo

Previamente à cirurgia de implante dos sensores minimamente invasivo (Braincare Corp.) e invasivo (Codman, intraparenquimatoso), realizada uma semana após os procedimentos para aquisição das IRM, os ratos foram anestesiados com quetamina, 95 mg/kg de MC e xilazina, 12 mg/kg de MC, por via intramuscular (im). As etapas prévias à cirurgia dos animais consistiram de tricotomia da região superior da cabeça, sua assepsia com álcool iodado 1% e aplicação de cloridrato de lidocaína 2% com norepinefrina 1:50.000 na região, utilizando uma dose de 0,5 mL/animal. A cirurgia de implante dos sensores consistiu de incisão na região medial da cabeça dos animais no sentido antero-posterior, afastamento da camada de pele e periósteo com o auxílio de afastadores e exposição do osso craniano. A região parietal do osso craniano foi limpa e seca utilizando-se peróxido de hidrogênio para posterior colagem do sensor com n-butil-cianoacrilato. O fio elétrico ligado ao sensor passa internamente pelo corpo do animal, na região cervical, através de um túnel e é exteriorizado na região dorsal entre os dois membros anteriores. Contralateralmente à região parietal de colagem do sensor minimamente invasivo, foi feita uma trepanação, em torno de 2 mm de diâmetro, para a inserção do sensor invasivo no parênquima cerebral. Após a sutura das incisões, o animal não recebe analgésicos para dor, de modo a não interferir nos resultados futuros. Uma vez finalizada a cirurgia para implantação dos

sensores, os animais, mantidos anestesiados, foram monitorados simultaneamente com os dois métodos, minimamente invasivo e intraparenquimatoso, por uma hora, a uma taxa de aquisição de 200 Hz. Os dados da aquisição foram guardados em computador para análise posterior (figura 11).

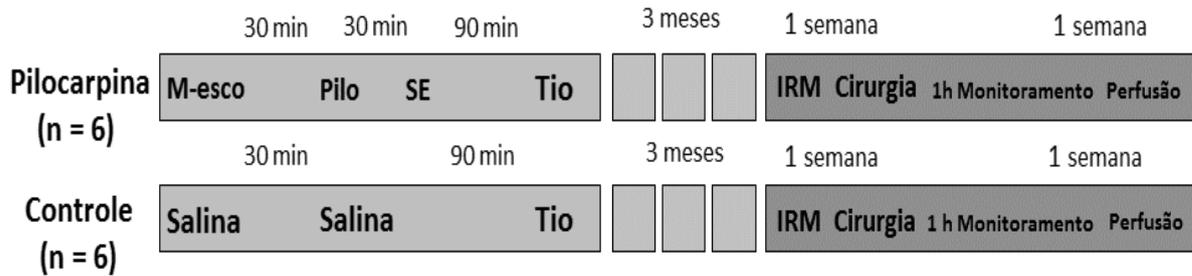
4.2.4 Perfusão e processamento histológico

Uma semana após as cirurgias serem realizadas, os animais foram perfundidos para processamento histológico de seus encéfalos. Para a perfusão, os animais foram anestesiados com tionembutal (25 mg/kg, ip) e a seguir, estes foram perfundidos por via transcardíaca com a sequência de soluções: (I) 100 ml de tampão fosfato; (II) 250 mL de fixador sulfeto de sódio 0,1% em tampão Millonig; (III) 500 mL de paraformaldeído. Após a perfusão, estando os animais já eutanasiados, seus encéfalos foram então removidos e imersos em solução 30% de sacarose por 24 horas.

Com auxílio de um criostato, os encéfalos foram cortados em secções coronais de 40 µm de espessura. Os cortes foram então montados sequencialmente, no sentido rostro-caudal, em lâminas gelatinadas para processamento histológico. Em seguida, as lâminas foram coradas com a técnica de neo-Timm (Mello et al., 1993), indicativa dos terminais das fibras musgosas (Sloviter, 1982). As soluções de processamento consistiram em 240 mL de goma arábica 50% com 10,25 g de ácido cítrico; 9,45 g de citrato de sódio em 30 mL de água destilada; 3,73 g de hidroquinona em 60 mL de água destilada e 2 mL da solução de 0,51 g de nitrato de prata em 3mL de água destilada. A reação foi mantida no escuro por 45 minutos e depois interrompida lavando os cortes com água destilada por 10 minutos. Em seguida, os cortes foram desidratados em concentrações crescentes de etanol, xilol e cobertos com bálsamo do Canadá.

A figura 11 apresenta um esquema representativo dos protocolos experimentais realizados neste trabalho.

Figura 11. Esquema representativo dos protocolos experimentais propostos para os dois grupos, pilocarpina e controle. Para o grupo pilocarpina, inicialmente, foi administrada uma injeção de metilescopolamina (M-esco) (1 mg/kg, ip); após 30 minutos foi administrada pilocarpina (320 mg/kg, ip) e 90 minutos após a indução de SE, foi administrado tionembutal (Tio) (25 mg/kg, ip). O grupo controle recebeu solução salina 0,9% ao invés das drogas administradas ao grupo pilocarpina, com exceção do tionembutal. A aquisição das IRM e o monitoramento da PIC foram iniciados após três meses da indução do SE. Após estes procedimentos, os animais foram submetidos à perfusão.



Fonte: Próprio autor.

4.3 Análise dos dados

4.3.1 Análise da frequência de crises

Durante os experimentos, os animais permaneceram monitorados por sistema de vídeo, que possibilitou a determinação da frequência de crises espontâneas e recorrentes apresentadas. Para isto, os animais foram videomonitorados 12 horas/dia, 5 dias/semana durante a fase clara do ciclo de luz, totalizando 240 horas mensais. Foram consideradas apenas as crises de estágio IV e/ou V da escala proposta por Racine (RACINE; GARTNER; BURNHAN, 1972).

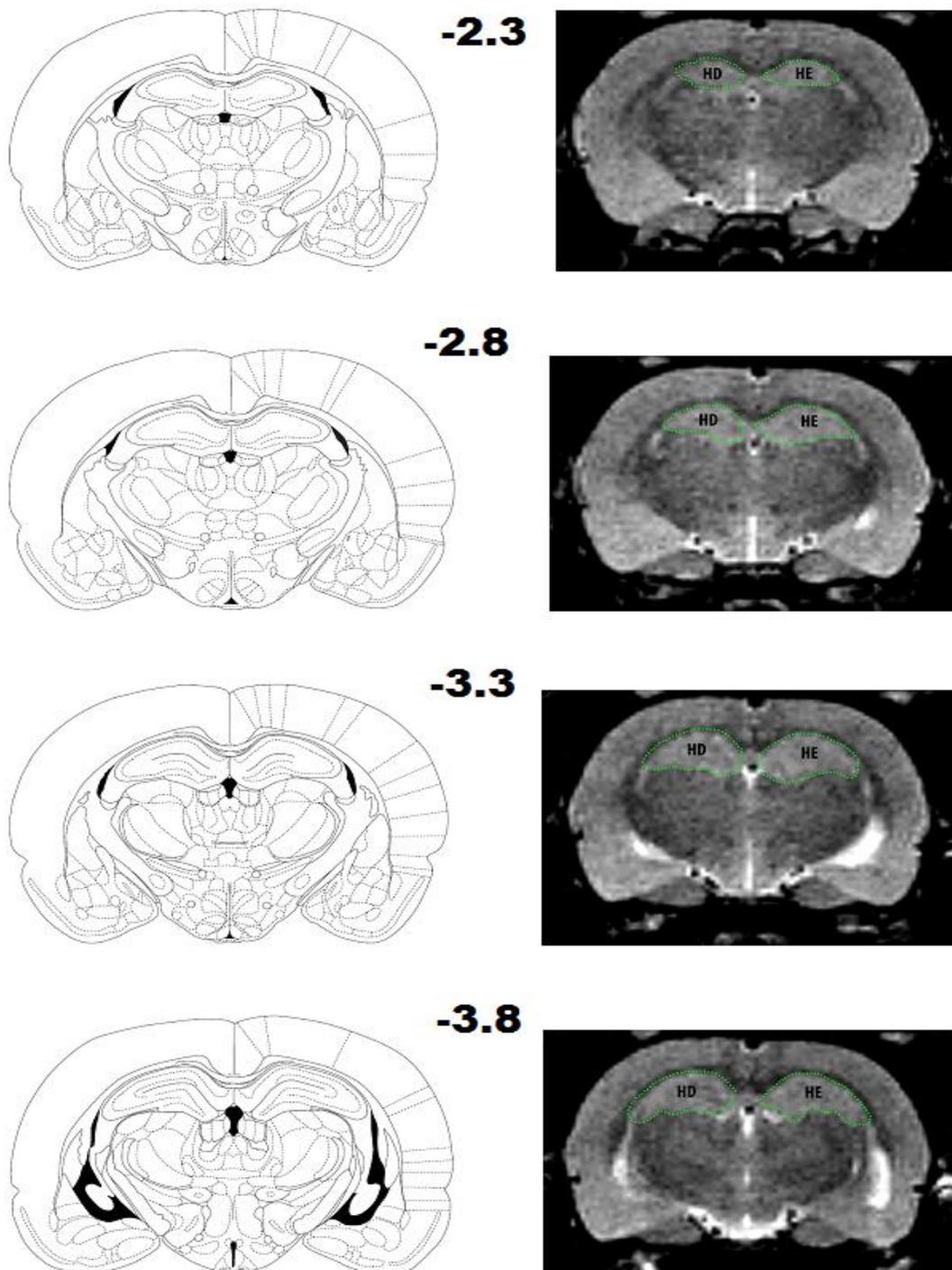
4.3.2 Volumetria das imagens por ressonância magnética

Para aquisição das imagens de volumetria, foi utilizado o protocolo já descrito, sendo que a análise das imagens ficou concentrada sobre a região hipocampal. Para isto, foi feito o contorno da ROI (hipocampo direito e esquerdo separadamente) em 8 imagens consecutivas, sendo que a área foi multiplicada pela espessura da fatia para a obtenção do volume. A seleção da ROI e obtenção do volume foram realizados utilizando o software MRIcro. A seleção dos níveis

hipocampais para análise cobriu toda sua extensão rostro-caudal compreendida entre 2,30 a 6.0 mm a partir do bregma. Os volumes desta região para cada aquisição foram calculados e comparados estatisticamente entre os grupos. Todos os dados de volumetria foram analisados utilizando ANOVA de uma via, seguido do teste post-hoc de Bonferroni, com significância estatística de $p < 0,05$.

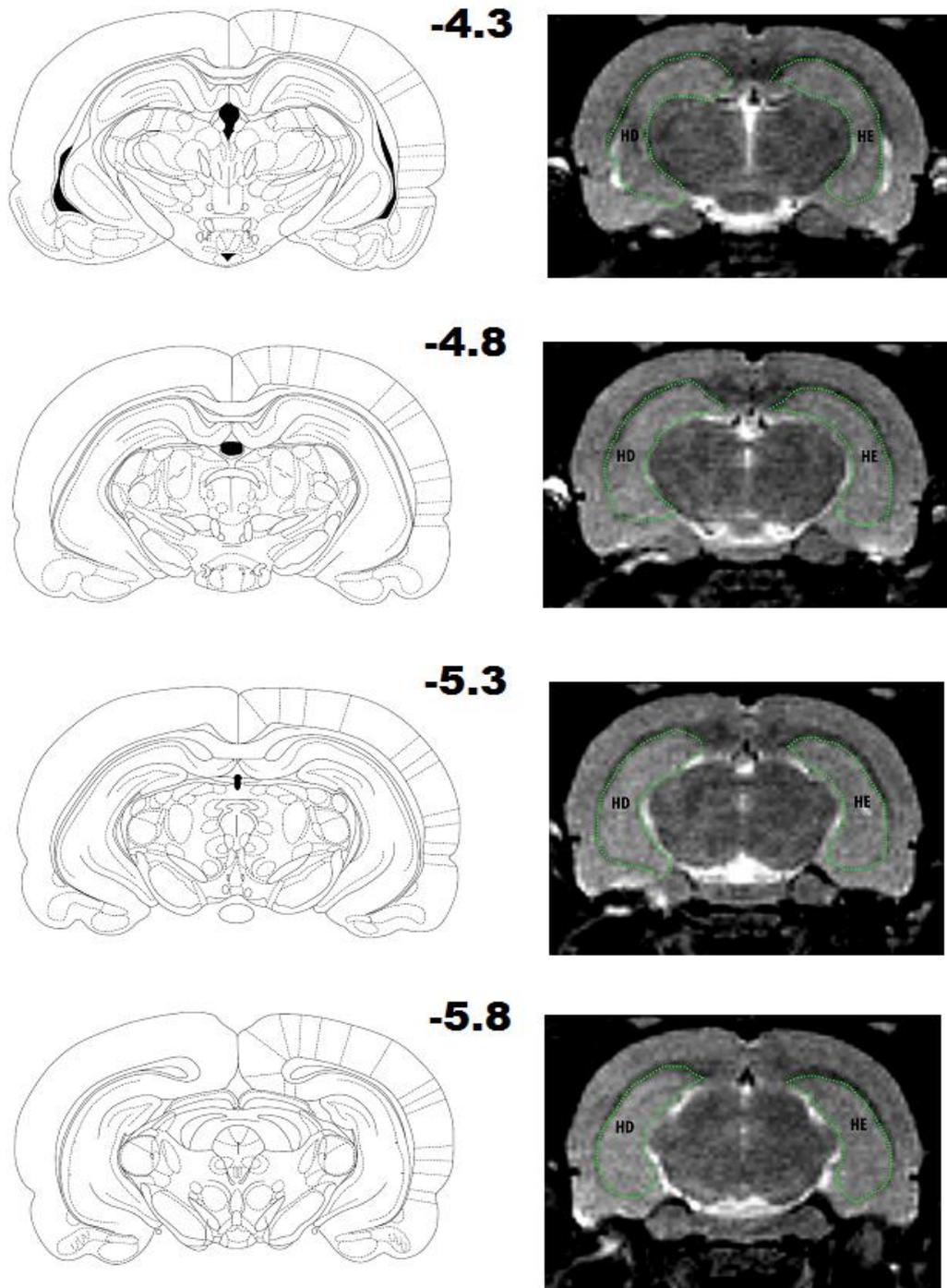
Um exemplo desta seleção pode ser observado nas figuras 12 e 13, em que foram correlacionadas as IRM aos níveis hipocampais segundo o atlas de Paxinos (PAXINOS; WATSON, 1997). Na figura 12 são apresentados os níveis considerados como Hipocampo Rostral (HR) e na figura 13 são apresentados os níveis considerados como Hipocampo Caudal (HC). A soma dos valores volumétricos de HR e HC fornece o volume do Hipocampo Total (HT).

Figura 12. Representação gráfica dos níveis rostro-caudais (painel à esquerda), segundo o atlas de Paxinos (PAXINOS; WATSON, 1997) e os níveis correspondentes das IRM (painel à direita). Nas imagens de ressonância, observa-se a delimitação da ROI em que HD – Hipocampo Direito (em verde) e HE – Hipocampo Esquerdo (em verde). Os níveis 2,30 a 3,80 caudais ao bregma foram utilizados para análise da volumetria hipocampal utilizando IRM. Na posterior análise volumétrica, os cortes abaixo são considerados como Hipocampo Rostral.



Fonte: Coluna esquerda extraída de PAXINOS, G.; WATSON, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 3 ed., Academic Press, 1997; coluna direita próprio autor.

Figura 13. Representação gráfica dos níveis rostro-caudais (painel à esquerda), segundo o atlas de Paxinos (Paxinos; Watson, 1997) e os níveis correspondentes das imagens obtidas na ressonância (painel à direita). Nas imagens de ressonância, observa-se a delimitação da ROI em que HD – Hipocampo Direito (em verde) e HE – Hipocampo Esquerdo (em verde). Os níveis 4,5 a 5,8 caudais ao bregma foram utilizados para análise da volumetria hipocampal utilizando IRM. Na posterior análise volumétrica, os cortes abaixo são considerados como Hipocampo Caudal.



Fonte: Coluna esquerda extraída de PAXINOS, G.; WATSON, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 3 ed., Academic Press, 1997; coluna direita próprio autor.

4.3.3 Monitoramento da pressão intracraniana

Em relação ao monitoramento da pressão intracraniana foram aplicadas dois tipos de análises, a transformada de Fourier de tempo curto (TFTC) para dados referentes ao método invasivo e determinação do espectro de frequências (transformada de Fourier) da PIC obtidas com os métodos minimamente invasivo e invasivo.

A TFTC é uma transformada integral derivada da transformada de Fourier. Ao contrário da maioria das transformadas integrais, que se aplicam a funções estacionárias, isto é, funções cujo espectro de frequências é fixo, a TFTC se aplica a funções cujo espectro varia com o tempo (não-estacionárias). A técnica consiste em uma análise espectral dependente do tempo: o intervalo de suporte da função é particionado em intervalos menores, de forma que o espectro possa ser considerado constante no interior de cada um deles; uma variação da transformada de Fourier é então aplicada a cada intervalo (BOUDREAU-BARTELS, 2000). Assim, a TFTC é uma forma de representação tempo-frequência para uma dada função, ao contrário da transformada de Fourier, que é uma representação apenas em frequência.

Neste trabalho, a TFTC foi aplicada na tentativa de se definir um padrão de comportamento para as frequências da PIC ao longo do tempo de monitoramento nos animais epiléticos e compará-los aos controles. Acerca da determinação do espectro de frequências obtidos a partir do monitoramento com os métodos minimamente invasivo e invasivo, esta análise foi aplicada para verificar se ambos os métodos foram capazes de adquirir frequências correspondentes da PIC. Ambas as análises foram realizadas utilizando-se o *software* MatLab®.

4.3.4 Análise histológica

As imagens dos cortes histológicos foram captadas por uma câmera digital de alta resolução (Nikon DXM1200), instalada em um microscópio Nikon (Eclipse E600FN) e convertidas em sinais digitais transmitidos a um computador. As imagens foram adquiridas com objetiva de 10 vezes e analisadas utilizando o *software Image J*.

Para cada animal foram utilizados três cortes, um em cada nível ao longo da extensão rostro-caudal do hipocampo, e para cada corte foi verificado a presença

de brotamento de fibras musgosas, indicativo da presença de axônios das células granulares na zona supragranular do giro denteado inferior e superior. Para os resultados não sofrerem intervenção de fatores externos, a iluminação foi mantida estável durante a aquisição das imagens.

5 Resultados e discussão

5.1 Indução dos *Status Epilepticus*

Em relação à indução da epilepsia quimicamente com pilocarpina, foram utilizados 20 animais, divididos em dois grupos de 10, os quais foram induzidos em momentos diferentes. Para o primeiro grupo, teve-se aproveitamento de 60%, isto é, 6 animais tornaram-se epiléticos crônicos ao fim de 3 meses após a indução; já para o segundo grupo, este aproveitamento foi de 30%.

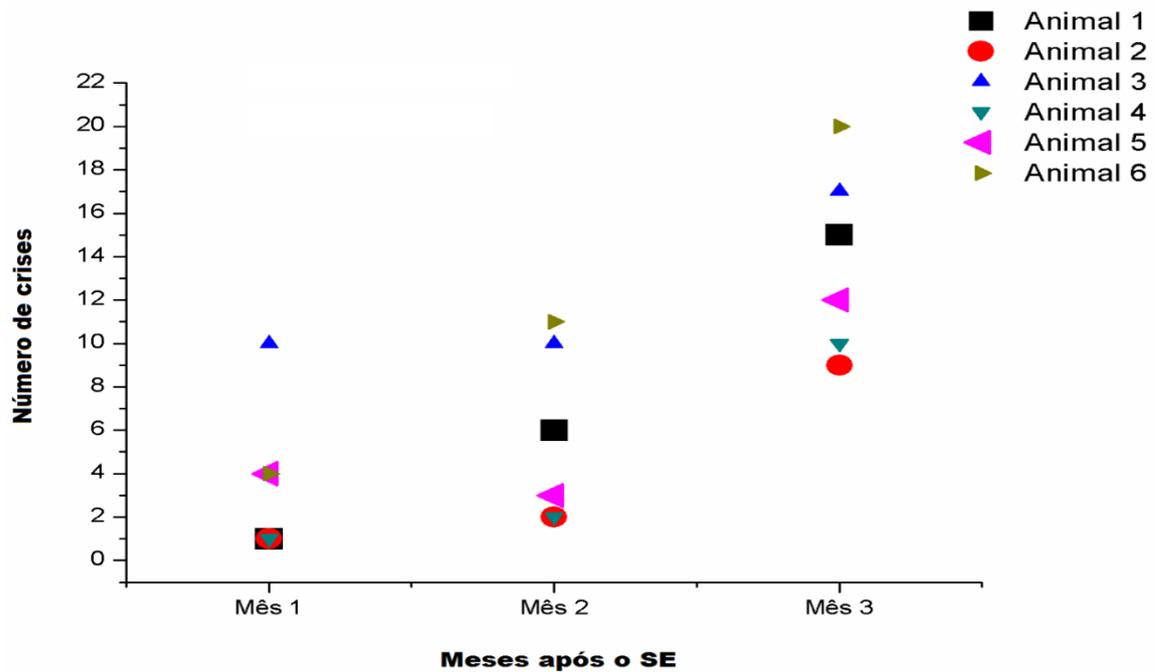
Os animais utilizados para o monitoramento da pressão intracraniana foram os 6 animais do primeiro grupo de indução, e os 3 animais remanescentes do segundo grupo foram desconsiderados do estudo pois morreram durante o procedimento para obtenção das IRM, possivelmente devido ao efeito do anestésico.

Quanto ao grupo controle, foi realizada a simulação da condição experimental vivenciada pelos animais do grupo pilocarpina em 6 animais, de forma a se obter o mesmo número amostral do grupo pilocarpina.

5.2 Determinação da frequência de crises

Para obtenção da frequência de crises dos 6 animais do grupo pilocarpina, foram analisados os vídeos gravados 5 dias/semana, durante a fase clara do ciclo de luz, com início 15 dias após o SE e com término aos 3 meses deste evento. Na figura 14 estão expostos os números de crises espontâneas recorrentes a cada mês. Foram consideradas apenas as crises comportamentais dos estágios IV e/ou V da escala proposta por Racine (RACINE; GARTNER; BURNHAN, 1972). A frequência de crises (crises/mês) dos animais tratados com pilocarpina foi de $7,7 \pm 1,5$ (média \pm erro padrão da média), resultado este consistente com o existente na literatura, em torno de 2-3 crises/semana (CAVALHEIRO, 1995). A frequência de crises variou entre os animais em estudo, e desta forma, ao analisar-se o grupo como um todo o desvio padrão encontrado foi de 3,6 crises/mês. Cabe-se ressaltar que os animais foram monitorados somente durante a fase clara do ciclo de luz, e eventuais crises epiléticas que os mesmos pudessem apresentar durante a fase escura não foram consideradas na análise.

Figura 14. Número de crises espontâneas e recorrentes em cada período. O período consiste em 3 meses de observações comportamentais, 12 horas/dia (ciclo claro). As observações se iniciaram 15 dias após o SE.



Fonte: Próprio autor.

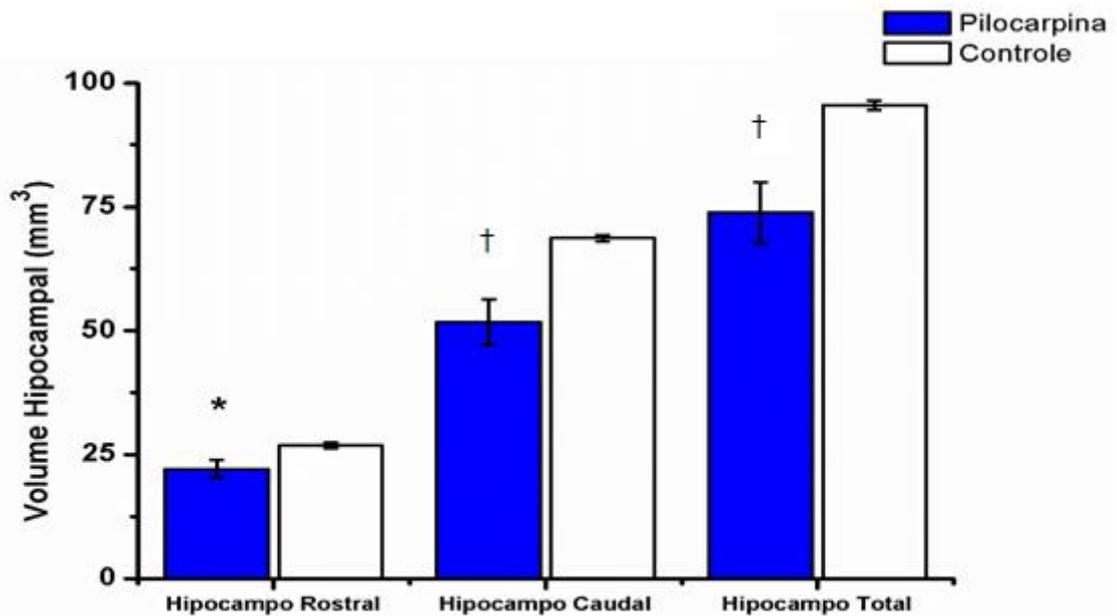
5.3 Volumetria das imagens por ressonância magnética

A análise volumétrica do hipocampo mostra resultados do volume hipocampal rostral (HR) seguido pelo volume do hipocampo caudal (HC) e do hipocampo total (HT), 3 meses após o SE, para o grupo pilocarpina ($n=6$) e o grupo controle ($n=6$). O HR compreende a área entre 2,30 a 4,80 mm caudais ao bregma; e o HC a região localizada entre 4,8 a 6,0 mm caudais ao bregma. Uma vez que não houve variação entre as medidas dos hipocampus direito e esquerdo, os resultados aqui apresentados se referem às somas dos volumes obtidos dos hipocampus direito e esquerdo delimitados pela região de interesse (ROI). Os resultados são apresentados utilizando a média \pm erro padrão da média (EPM) do volumes hipocampais, em milímetros cúbicos (mm^3).

Como pode ser observado no gráfico da figura 15, três meses após o SE, houve diferença estatisticamente significativa dos volumes dos hipocampus rostral ($p<0,05$), caudal ($p<0,01$) e total ($p<0,01$) dos animais do grupo pilocarpina

(n=6) quando comparados ao controle (n=6). A tabela 1 mostra os resultados encontrados para ambos os grupos, em média±EPM.

Figura 15. Gráfico representando as medidas do volume tecidual (em mm³) para hipocampo rostral, hipocampo caudal e hipocampo total, três meses após o SE. Após este período, houve redução estatisticamente significativa do HR (*p<0,05), HC (†p<0,01), e HT (†p<0,01) no grupo pilocarpina quando comparados ao controle.



Fonte: Próprio autor.

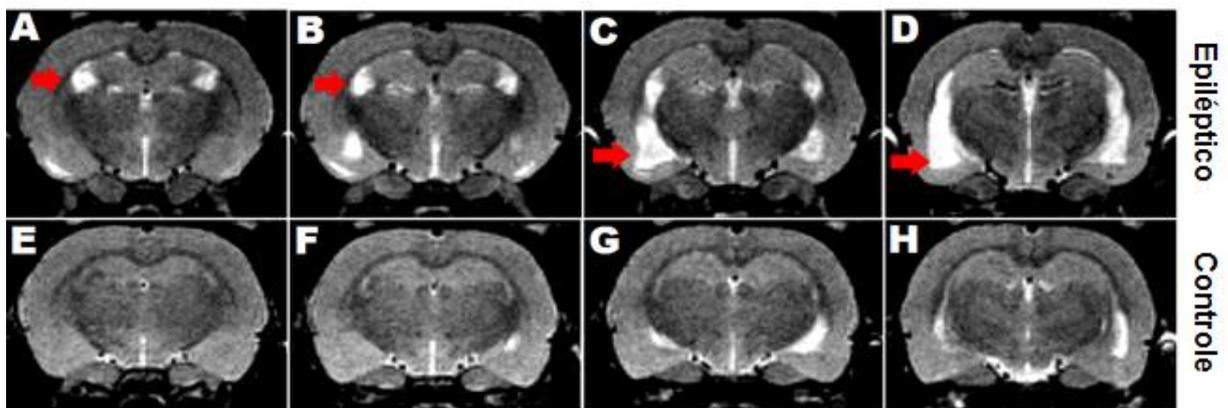
Tabela 1. Resultados do estudo da volumetria (média±EPM), para os grupos pilocarpina e controle. Foram realizadas medidas (em mm³) dos volumes dos hipocampus rostral (HR), caudal (HC) e total (HT). * indica significância estatística para p<0,05 e † para p<0,01 em relação ao controle.

Grupos	n	HR	HC	HT
PILOCARPINA	6	22,1±1,8*	51,7±4,6†	73,8±6,2†
CONTROLE	6	26,9±0,6	68,7±0,7	95,5±0,9

Na figura 16, são mostradas imagens de ressonância magnética da região HR, em diferentes cortes, de um animal representativo do grupo pilocarpina (cortes A-D) e outro do grupo controle (cortes E-H). Pode-se observar que existe redução do volume hipocampal devido à esclerose provocada pela indução do modelo de ELT, com conseqüente aumento ventricular no animal epiléptico quando

comparado ao animal controle. Tal aumento pode ser atribuído ao preenchimento das regiões lesadas com líquido.

Figura 16. Imagens de ressonância magnética de um animal tratado com pilocarpina (A-D) e outro controle (E-H) em diferentes cortes, 3 meses após o SE. Nota-se o dano hipocampal com conseqüente aumento ventricular (setas vermelhas) no animal tratado com pilocarpina quando comparado ao controle. As imagens compreendem ao Hipocampo Rostral (HR) em diferentes cortes, porém correspondentes quando comparados entre os grupos. Os cortes A e E, por exemplo, estão na mesma posição caudais ao bregma em animais distintos.



Fonte: Próprio autor.

Os resultados obtidos utilizando a técnica de volumetria hipocampal através de imagens por ressonância magnética indicaram diferenças no grupo pilocarpina quando comparado ao controle para todos os volumes hipocampais (rostral, caudal e total), sendo estas diferenças mais acentuadas na região caudal. Tal diminuição hipocampal dos animais tratados com pilocarpina pode estar relacionada à esclerose hipocampal neste modelo.

De todos os animais tratados com pilocarpina, apenas um animal não mostrou variação em relação ao volume hipocampal quando comparado à média do volume do hipocampo dos animais controle. Com isto, 83% dos animais utilizados sofreram diminuição hipocampal e conseqüentemente aumento ventricular.

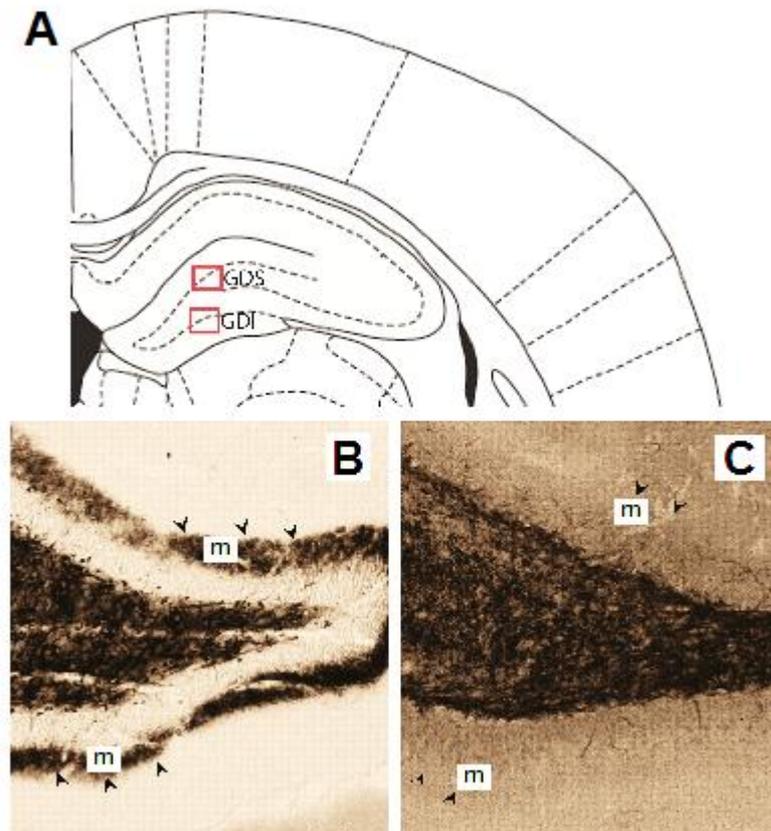
A interpretação de mudanças volumétricas em estados patológicos é bastante complexa. Os tipos celulares podem ser afetados de várias formas, tanto em termos de perda absoluta quanto atrofia celular, e isso pode ser sobreposto pela infiltração ou proliferação de outras populações de células residentes ou não, junto ao edema celular e intersticial (PARKER; CHARD, 2003). Somado a isso, existem efeitos

secundários como a obstrução *outflow*, que pode resultar em hidrocefalia e aumento dos volumes ventriculares, enquanto patologias inflamatórias podem causar um aumento de curto prazo no volume cerebral associado com o edema que é independente da doença crônica devido à destruição do tecido (PARKER; CHARD, 2003). Tais efeitos podem mascarar mudanças de longo prazo no volume e devem ser levadas em consideração no desenho experimental bem como na interpretação dos dados (PARKER; CHARD, 2003).

5.4 Análise histológica

A análise dos cortes corados para neo-Timm foi realizada para determinação da presença de brotamentos de fibras musgosas nos animais induzidos pelo modelo experimental da pilocarpina (figura 17). Foi constatado que 100% dos animais do grupo pilocarpina apresentaram este achado histopatológico, característico de epilepsia do lobo temporal e do modelo da pilocarpina (MELLO et al., 1993).

Figura 17. A análise histológica de neo-Timm foi realizada para verificação da presença de brotamento de fibras musgosas no modelo da pilocarpina. Em A, representação gráfica do corte coronal situado 3,60 caudal ao bregma (PAXINOS; WATSON, 1997) em que as análises foram realizadas. As análises foram realizadas na camada molecular interna (m) do giro denteado (GDI, giro denteado inferior e GDS, giro denteado superior), como pode ser observado em A, B e C. Todos os animais do grupo pilocarpina apresentaram brotamentos em relação ao controle. Em B e C, cortes histológicos representativos dos animais dos grupo pilocarpina e controle, respectivamente, nos quais a presença dos brotamentos foi verificada a partir de escala de cinza (aumento de 10 vezes).



Fonte: A: extraída e modificada de PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. 3 ed., Academic Press, 1997; B e C: próprio autor.

5.5 Monitoramento da pressão intracraniana

A utilização de certos parâmetros como padrões de frequências e outros índices adimensionais, que não dependam do valor absoluto (em mmHg) da pressão intracraniana para a sua avaliação e caracterização do seu comportamento tem sido extensivamente associados com uma melhora no prognóstico dos pacientes, e desta forma bastante utilizados e difundidos na literatura médico-científica. Entretanto, atualmente, em casos nos quais é necessário o monitoramento da PIC, tem-se

adotado como principais parâmetros de avaliação o seu valor absoluto médio ou sua morfologia com o recurso de tendências temporais limitadas. Isto pode ser suficiente para orientar um protocolo de tratamento baseado na pressão de perfusão cerebral (ROSNER; ROSNER; JOHNSON, 1995), no entanto, muita informação valiosa relacionada a processos complexos para a regulação intracraniana é perdida (CZOSNYKA et al., 2007).

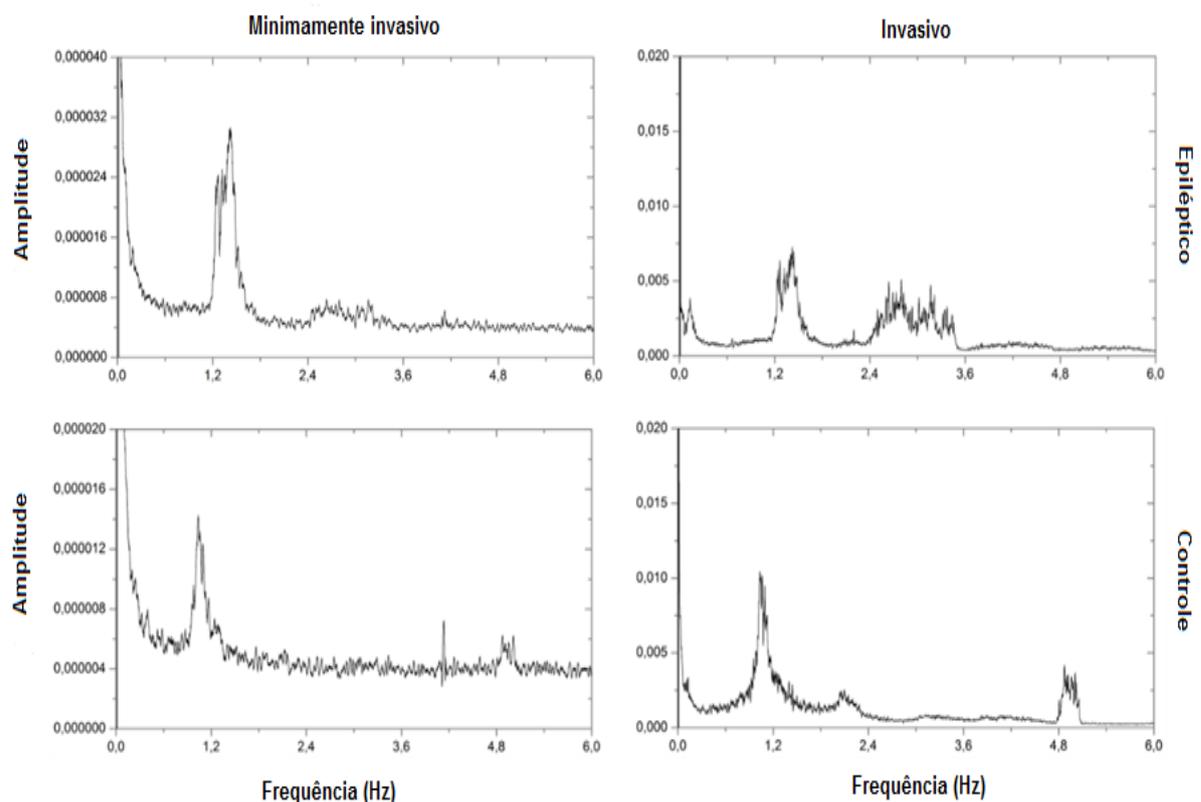
Tais parâmetros adimensionais, na maioria dos casos, tem sido utilizados em quadros clínicos que geralmente necessitam do monitoramento contínuo da pressão intracraniana para o diagnóstico seguro das condições neurológicas do paciente, como por exemplo, traumatismos cranioencefálicos, hidrocefalia e acidentes vasculares encefálicos. No entanto, para o caso das epilepsias, foram poucos os estudos capazes de relacionar tal condição à PIC, e nenhum utilizando índices que não dependam do seu valor absoluto. A vantagem quanto à independência deste valor é que se torna possível a utilização de métodos alternativos não invasivos para o monitoramento da pressão intracraniana, como o método minimamente invasivo apresentado neste trabalho, o qual independe do valor absoluto desta pressão em mmHg para o seu monitoramento. Neste cenário, o presente estudo é pioneiro na utilização de tais parâmetros para avaliação da PIC, bem como o primeiro a utilizar uma técnica de monitoramento minimamente invasiva em modelos animais de epilepsia.

A análise do espectro de frequências dos dados coletados (transformada de Fourier) demonstrou correspondência entre os métodos minimamente invasivo e invasivo no domínio da frequência para os grupos pilocarpina e controle, indicando que ambos os métodos foram capazes de adquirir frequências correspondentes da PIC (figura 18).

Quanto à amplitude das frequências adquiridas pelos dois métodos, foi observado maior amplitude de frequências para o método invasivo e menores amplitudes para o minimamente invasivo, tanto para o grupo epiléptico quanto para o controle (figura 18). Esta diferença foi devido à sensibilidade de cada método, e neste caso, quanto maior o valor da amplitude das frequências mais sensível o método é. Neste sentido, o método invasivo intraparenquimatoso se mostrou mais sensível que o minimamente invasivo, e isso se explica pela técnica de sua utilização. Tal método monitora a pressão intracraniana diretamente por contato com o tecido encefálico (córtex cerebral), enquanto o minimamente invasivo, uma vez aplicado sobre o crânio,

monitora as deformações ósseas decorrentes da variação da pressão intracraniana, constituindo-se, em comparação com o invasivo, em uma medida indireta, porém equivalente, da PIC. Dessa forma, considerando-se seu princípio de funcionamento e também as propriedades do tecido em que está aplicado (como por exemplo a rigidez do osso craniano), o método minimamente invasivo apresentou menor sensibilidade quando comparado ao invasivo.

Figura 18. Análise do espectro de frequências dos dados obtidos a partir dos métodos minimamente invasivo e invasivo para os grupos epiléptico e controle, demonstrando que os dois métodos foram capazes de adquirir frequências da PIC correspondentes.



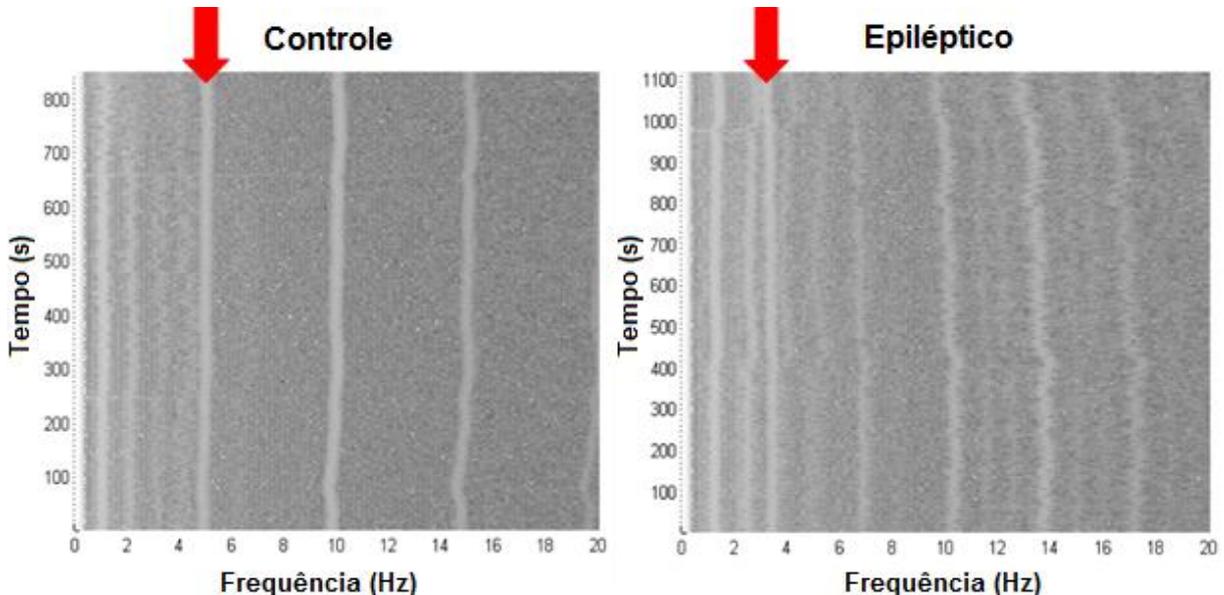
Fonte: Próprio autor.

Como mencionado anteriormente, a morfologia de onda da PIC tem uma frequência fundamental equivalente à cardíaca e seus componentes harmônicos. Sua amplitude tem sido utilizada para a avaliação de vários índices que descrevem a dinâmica cerebrospinal, pois parece ser menos influenciada pela presença de ruído e contaminação de outros componentes (como o respiratório e *slow waves*), porém pode ser afetada por uma frequência cardíaca irregular. Desta forma, alguns estudos

clínicos tem apresentado uma correlação positiva significativa entre esta amplitude e a reserva autorregulatória cerebral, indicando que amplitudes maiores estão associadas com uma autorregulação mais fraca (CZOSNYKA et al., 2007).

O comportamento da PIC dos animais epiléticos crônicos, representado pela análise da transformada de Fourier de tempo curto, apresentou uma característica de dispersão nos componentes de frequência em comparação aos animais controle, principalmente associada a oscilações na amplitude dos harmônicos da frequência cardíaca (em torno de 3-4 Hz) (figura 19). Esta característica pode estar associada a um desequilíbrio no controle autonômico da função cardíaca nestes animais, uma vez que o equilíbrio entre a influência dos componentes simpático e parassimpático do sistema nervoso autônomo é um dos principais reguladores da função cardíaca (METCALF; RADWANSKI; BEALER, 2009).

Figura 19. Análise da transformada de Fourier de tempo curto para dados obtidos com o método invasivo de monitoramento da PIC. É possível observar oscilações de amplitude e dispersões nos componentes de frequência da PIC do grupo epilético comparado com o controle. Setas vermelhas indicam a frequência fundamental considerada (frequência cardíaca).



Fonte: Próprio autor.

É sabido que o *status epilepticus* ativa o sistema nervoso autônomo, aumentando durante a atividade epilética o controle da função cardíaca pelo sistema nervoso simpático (METCALF; RADWANSKI; BEALER, 2009). De forma a avaliar a função cardíaca após o SE, um estudo utilizou ratos após 1 e 2 semanas de

recuperação do SE induzido por pilocarpina para testar o controle simpatovagal do coração, as contribuições individuais dos componentes simpático e parassimpático e a sensibilidade barorreflexa. Os resultados mostraram que o SE induziu uma alteração crônica no equilíbrio simpatovagal em favor da dominância simpática, resultante de atividade parassimpática diminuída. A sensibilidade barorreflexa à pressão arterial aumentada também diminuiu, provavelmente resultado de ativação vagal reduzida. A diminuição do tônus vagal persistiu por duas semanas e pode ter continuado além deste ponto, porém o estudo não testou além de duas semanas (METCALF; RADWANSKI; BEALER, 2009).

Este desequilíbrio em favor de um maior controle simpático tem sido associado a um aumento na susceptibilidade a arritmias cardíacas no período após crises (EARNEST et al., 1992; WALTON, 1993; WASTERLAIN et al., 1993; LATHERS; SCHRAEDER, 2002). Além disso, a inibição da sensibilidade barorreflexa tem sido diretamente implicada no aumento à arritmias ventriculares (SHU et al., 2004). Alternativamente, a atividade epiléptica associada com o SE pode induzir dano neuronal no sistema nervoso central, que por sua vez modificaria circuitos críticos necessários para a atividade normal da função parassimpática e respostas reflexas (METCALF; RADWANSKI; BEALER, 2009).

As alterações crônicas na regulação autonômica da frequência cardíaca, caracterizadas pelo aumento da dominância simpática, ocorrem após o SE e provavelmente contribuem para subsequentes risco cardíaco aumentado e mortalidade. Neste sentido, o desequilíbrio autonômico encontrado em animais submetidos a SE induzido por pilocarpina pode ter sido a causa para o aparecimento do padrão de oscilações nos componentes da frequência cardíaca no espectro de frequências da PIC, visto que este desequilíbrio é capaz de alterar o controle da frequência cardíaca e potencialmente levar a arritmias ventriculares. Então, neste contexto, as oscilações no espectro de frequências da PIC encontradas nos animais epilépticos crônicos representariam este padrão de arritmias. Além disso, as imagens por ressonância magnética das regiões hipocâmpais, como mostrado na figura 16, indicaram o dano neuronal causado pelo modelo da pilocarpina, como suposto por Metcalf, Radwansky e Bealer (2009), o que também pode ter contribuído para o aparecimento deste comportamento anormal da PIC nestes animais.

Estas alterações na pressão intracraniana, associadas diretamente à uma condição neuropatológica crônica, a longo prazo, podem acentuar as disfunções

neuroológicas dos indivíduos, visto que oscilações da PIC levam a uma mudança na pressão de perfusão cerebral, associada ao fluxo sanguíneo cerebral (ROSNER; ROSNER; JOHNSON, 1995). Isto, ao longo do tempo, pode ocasionar dano neuronal por isquemia e conseqüentemente falha nos mecanismos de autorregulação cerebral e diminuição da complacência cerebral.

Quanto à autorregulação cerebral, Czosnyka et al. (2007), já verificaram em estudos clínicos a correlação positiva entre amplitude aumentada da frequência fundamental da PIC e autorregulação diminuída. Como foi observado, os animais epiléticos apresentaram um padrão de oscilação na amplitude da frequência fundamental e seus harmônicos comparado aos controles, indicando possivelmente falhas na autorregulação cerebral dos animais epiléticos crônicos.

Acerca da complacência cerebral, como está intrinsecamente relacionada ao volume dos componentes intracranianos, é possível se inferir que nos animais crônicos esta se apresentava diminuída, em virtude da perda de tecido encefálico representada pela diminuição dos volumes das regiões hipocampais, quantificada por técnicas de ressonância magnética (figura 16).

Com isto, verifica-se que o comportamento anormal da PIC encontrado em animais epiléticos crônicos submetidos ao modelo experimental da pilocarpina pode estar relacionado a uma série de fatores, sendo o principal deles o desequilíbrio simpátovagal em favor do sistema nervoso autônomo simpático ocasionado pelo evento do *status epilepticus*. Esse quadro, por sua vez, pode acentuar o dano neurológico dos indivíduos com epilepsia, de forma que pode ocasionar disfunção da autorregulação cerebral e diminuição da complacência cerebral.

Tais relações até então eram desconhecidas para o modelo da pilocarpina na literatura científica. Portanto, os resultados aqui apresentados, embora introdutórios e de caráter exploratório, poderão servir de base para novas pesquisas, inclusive em medicina translacional, envolvendo os conceitos de pressão intracraniana e epilepsias.

6 Conclusão

As principais contribuições deste trabalho foram:

- Ratos submetidos à fase crônica do modelo experimental da pilocarpina, capaz de gerar nestes animais as principais características da epilepsia do lobo temporal humana, apresentaram um padrão de comportamento da PIC alterado quanto ao seu padrão de frequências em relação aos seus controles;
- Em relação aos resultados gerados com o sistema PICMI, não foi possível a obtenção a partir deles de um padrão para o comportamento da PIC como o observado para o sistema invasivo, pois em comparação a este o primeiro apresentou sensibilidade insuficiente para tal propósito;
- Obteve-se sucesso em verificar que ambos os métodos foram capazes de adquirir frequências da PIC correspondentes durante o tempo de monitoramento;
- Quanto ao método minimamente invasivo, este está em contínuo desenvolvimento e este trabalho contribuiu para isto, de maneira que possibilitou verificar sua eficácia em relação a um método já aceito pela comunidade científica (invasivo intraparenquimatoso), além das eventuais dificuldades em sua aplicação e utilização;
- O presente estudo se constitui no primeiro relato acerca do comportamento da PIC em animais epiléticos crônicos, submetidos ao modelo experimental da pilocarpina;
- Adicionalmente, também é pioneiro na utilização de uma técnica minimamente invasiva para o monitoramento da pressão intracraniana em modelos animais de epilepsia;

- Contudo, este é um trabalho exploratório e introdutório, sendo necessário inclusive mais estudos, compreendendo diferentes estágios da vida epiléptica, para melhor compreensão do comportamento da PIC em animais epiléticos crônicos.

7 Sugestões para pesquisas futuras

- Aperfeiçoamento da sensibilidade do método minimamente invasivo ao nível igual ou superior ao do invasivo;
- Avaliação da morfologia da PIC em diferentes estágios da vida epiléptica através do uso de modelos de sistemas complexos;
- Uso do novo método não invasivo para o monitoramento da PIC, em paralelo ao método minimamente invasivo, nas investigações do modelo de epilepsia da pilocarpina;
- Análise da morfologia temporal da PIC no modelo de epilepsia da pilocarpina para previsão do *ictus* epiléptico;
- Investigação da evolução temporal do espectro de frequências da PIC como índice de evolução do processo de cronicidade epiléptica;
- Investigação do uso de anticonvulsivantes sobre a morfologia da PIC no modelo de epilepsia da pilocarpina.

8 Referências bibliográficas

ABERCROMBIE, J. Pathological and practical researches on disease of the brain and spinal cord. **Waugh and Innes**, Edinburgh, p. 371-372, 1828.

ADAMS, J. P.; BELL, D.; MCKINLAY, J. **Neurocritical care: a guide to practical management**. Springer, Londres, 2010.

AGID R.; FARB, R. I. Neuroimaging in the diagnosis of idiopathic intracranial hypertension. **Minerva Medica**, v. 97, n.4, p. 365-70, 2006.

ANG, H. A.; CHAN, Y. C.; MAHADEVAN, M. Emergency department headache admissions in an acute care hospital: why do they occur and what can we do about it? **Annals of Singapore Academy of Medicine**, v. 38, n. 11, p.1007-1010, 2009.

ARIDA, R. M.; SCORZA, F. A.; PERES, C. A.; CAVALHEIRO, E. A. The course of untreated seizures in the pilocarpine model of epilepsy. **Epilepsy Research**, v. 34, p. 99–107, 1999a.

ARIDA, R. M.; SCORZA, F. A.; SANTOS, N. F.; PERES, C. A.; CAVALHEIRO, E. A. Effect of physical exercise on seizure occurrence in a model of temporal lobe epilepsy in rats. **Epilepsy Research**, v. 37, p. 45–52, 1999b.

ASATO, R. Chronological sequences and blood-brain barrier permeability changes in local injury as assessed by nuclear magnetic resonance (NMR) images from sliced rat brain. **Stroke**, v. 14, n. 2, p. 191-196, 1983.

ASSISTÊNCIA À SAÚDE DE PACIENTES COM EPILEPSIA, 2014. Disponível em: <<http://www.aspebrasil.org/index.php/quem-somos>>. Acesso em: 08 mar. 2014.

ASTRUP, J. Energy-requiring cell functions in the ischemic brain. Their critical supply and possible inhibition in protective therapy. **Journal of Neurosurgery**, v. 56, n. 4, p. 482-498, 1982.

AUCOIN, P. J.; KOTILAINEN, H. R. Intracranial pressure monitors. Epidemiologic study of risk factors and infections. **American Journal of Medicine**, v. 80, n. 3, p. 369-76, 1986.

BABB, T. L. Synaptic reorganizations in human and rat hippocampal epilepsy. **Adv. Neurol.**, v. 79, p. 763–779, 1999.

BAKAY, E. R. A.; WOOD, J. H. Pathophysiology of cerebrospinal fluid in trauma. In: BECKER D.; POVLISHOCK, J. **Central nervous system trauma status report**. New York: National Institute of Health, p. 89-137, 1985.

BERG, A. T.; BERKOVIC, S. F.; BRODIE, M. J.; BUCHHALTER, J.; CROSS, J. H.; BOAS, W. V. E.; ENGEL, J.; FRENCH, J.; GLAUSER, T. A.; MATHERN, G. W.; MOSHÉ, S. L.; NORDLI, D.; PLOUIN, P.; SCHEFFER, I. E. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. **Epilepsia**, v. 51, n. 4, p. 676–685, 2010.

BOUDREAUX-BARTELS, G. Mixed Time-Frequency Signal Transformations. In: POULARIKAS, A. (Org.). **The Transforms and Applications Handbook**. 2 ed. Boca Raton: CRC, 2000. cap. 12, p. 1027.

BRIELLMANN, R. S.; WELLARD, R. M.; MASTERTON, R. A. J.; ABBOTT, D. F.; BERKOVIC, S. F. E.; JACKSON, G. D. Hippocampal sclerosis: MR prediction of seizure intractability. **Epilepsia**, v. 48, n. 2, p. 315-323, 2007.

BURROWS, G. **On disorders of the cerebral circulation and on the connection between affections of the brain and diseases of the heart**. Lea & Blanchard, Filadélfia, 1848.

BUSIJA, D. W.; HEISTAD, D. D. Factors involved in the physiological regulation of the cerebral circulation. **Rev Physiol Biochem Pharmacol**, v. 101, p. 161–211, 1984.

CANGUSSÚ, S. R. **Infecção no monitoramento intraventricular da pressão intraventricular com drenagem contínua do líquido cefalorraquiano**. 2006, 120p. Dissertação (Mestrado em Enfermagem). Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CARLOTTI JR, C. G.; COLLI, B. O.; DIAS, L. A. A. Hipertensão intracraniana. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 31, p. 552-562, 1998.

CAVALHEIRO, E. A. The pilocarpine model of epilepsy. **Ital. J. Neurol. Sci.**, v. 16, p. 33–37, 1995.

CIPOLLA, M. J.; OSOL, G. Vascular smooth muscle actin cytoskeleton in cerebral artery forced dilatation. **Stroke**. v. 29, p. 1223–1228, 1998

CIPOLLA, M. J.; SMITH, J.; KOHLMAYER, M. M.; GODFREY, J. A. SKCa and IKCa Channels, myogenic tone, and vasodilator responses in middle cerebral arteries and parenchymal arterioles: effect of ischemia and reperfusion. **Stroke**. v. 40, p. 1451–1457, 2009.

CIPOLLA, M. J. Brief review: Cerebrovascular function during pregnancy and eclampsia. **Hypertension**. v. 50, n. 1, p. 14–24, 2007.

CLIFFORD, D. B.; OLNEY, J. W.; MANIOTIS, A.; COLLINS, R. C.; ZORUMSKI, C. F. The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. **Neuroscience**, v. 23, p. 953-968, 1987.

COCHRAN, G. V. Implantation of strain gages on bone in vivo. **Journal of Biomechanical**, v. 5, n. 1, p. 119-123, 1972.

COOK, M. J.; FISH, D. R.; SHORVON, S. D.; STRAUGHAN, K. E.; STEVENS, J. M. Hippocampal volumetric and morphometric studies in frontal and temporal lobe epilepsy. **Brain**, v. 115, 1001-1015, 1992.

CURIA, G.; LONGOB, D.; BIAGINIB, G.; JONESC, R. S. G.; AVOLI, M. The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 172, p. 143–157, 2008.

CUSHING, H. **The third circulation in studies in intracranial physiology and surgery**. Oxford University Press, Londres, p. 1–51, 1926.

CZOSNYKA, M. Cerebral perfusion pressure in head-injured patients: a noninvasive assessment using transcranial Doppler ultrasonography. **Journal of Neurosurgery**, v. 88, n. 1, p. 802-808, 1998.

CZOSNYKA, M.; SMIELEWSKI, P.; PIECHNIK, S.; SCHMIDT, E. A.; AL-RAWI, P. G.; KIRKPATRICK, P. J.; PICKARD, J. D. Hemodynamic characterization of intracranial pressure plateau waves in head-injury patients. **J Neurosurg**, v. 91, p. 11–19, 1999.

CZOSNYKA, M.; PICKARD, J. D. Monitoring and interpretation of intracranial pressure. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 75, n. 6, p. 813-21, 2004.

CZOSNYKA, M.; SMIELEWSKI, P.; TIMOFEEV, I.; LAVINIO, A.; GUAZZO, E.; HUTCHINSON, P.; PICKARD, J. D. Intracranial Pressure: More Than a Number. **Neurosurg Focus**, v. 22, n. 5, p. E10, 2007.

CZOSNYKA, M.; CITERIO, G. Brain compliance: the old story with a new 'et cetera'. **Intensive Care Med**, v. 38, p. 925-927, 2012.

DANGELO, J. G; FATTINI, C. A. **Anatomia humana básica**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2006. 184 p.

DANSCHER, G. Histochemical demonstration of heavy metals. A revised version of the sulphide silver method suitable for both light and electronmicroscopy. **Histochemistry**, v. 71, p. 1-16, 1981.

DUNCAN, J. S.; SANDER, J. W.; SISODIYA, S. M.; WALKER, M. C. Adult epilepsy. **Lancet**, v. 367, p. 1087–1100, 2006.

D'ÚSCIO, L. V.; KILO, J.; LUSCHER, T.; GASSMANN, M. Circulation. In: SUCKOW, M. A.; WEISBROTH, S. H.; FRANKLIN, C. L. (Org.). **The Laboratory Rat**. 2 ed. Academic Press, 2006. cap. 17, p. 345-357.

EARNEST, M. P.; THOMAS, G. E.; EDEN, R. A; HOSSACK, K. F. The sudden unexplained death syndrome in epilepsy: demographic, clinical, and postmortem features. **Epilepsia**, v. 33, p. 310–316, 1992.

EUSER, A. G.; CIPOLLA, M. J. Cerebral blood flow autoregulation and edema formation during pregnancy in anesthetized rats. **Hypertension**. v. 49, p. 334–340, 2007.

EVANS, F. G. Methods of studying the biomechanical significance of bone form. **Am. J. Phys. Anthropol.**, v. 11, p. 413–435, 1953.

FISHMAN, R. A.; DILLON, W. P.; Dural enhancement and cerebral displacement secondary to intracranial hypotension. **Neurology**, v. 43, n. 1, p.609-611, 1993.

GOITEIN, K. J.; SHOHAMI, E. Intracranial pressure during prolonged experimental convulsions in cats. **J Neurol**, v. 230, n. 4, p. 259-66, 1983.

GURDJIAN, E. S.; LISSNER, H. R. Mechanism of head injury as studied by the cathode ray oscilloscope. Preliminary Report. **Ibid**, v. 1, p. 393-399, 1944.

HALSEY, J. R. Regional cerebral blood flow comparison of right and left hand movement. **Neurology**, v. 29, n.1, p. 21-28, 1979.

HAMILTON, S. E.; LOOSE, M. D.; QI, M.; LEVEY, A.I.; HILLE, B.; MCKNIGHT, G. S.; IDZERDA, R. L.; NATHANSON, N. M. Disruption of the m1 receptor gene ablates muscarinic receptor-dependent M current regulation and seizure activity in mice. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.94, p. 13311–13316, 1997.

HEISTAD, D. D.; KONTOS, H. A. The Cardiovascular System III. In: BERNE, R. M.; SPERELAKIS, N. (Org.). **Handbook of Physiology**. Bethesda, MD: American Physiological Society, 1979: p. 137–182.

HOSSMANN, K. A. Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. **Ann Neurol**, v. 36, p. 557–565, 1994.

HOSSMANN, K. A. Pathophysiology and therapy of experimental stroke. **Cell Mol Neurobiol**, v. 26, p. 1057–1083, 2006.

IADECOLA, C. Cerebral circulatory dysregulation in ischemia. In: GINSBERG MD, BOGOUSSLAVSKY J. (Org.). **Cerebrovascular Diseases**. Cambridge, MA: Blackwell Science, 1998. p. 319–332.

JIANG, J.; TYSSEBOTN, I. Measurement of cerebrospinal fluid pressure in conscious rats. **Undersea Hyperb Med**, v. 24, n. 1, p. 39-43, 1997.

JOHANSSON; B.; LI, C-L.; OLSSON, Y.; KLATZO, I. Effect of acute arterial hypertension on the blood–brain barrier to protein tracers. **Acta Neuropathol**, v. 16, p. 117–124, 1970.

KELLIE, G. An account of the appearances observed in the dissection of two of the three individuals presumed to have perished in the storm of the 3rd, and whose bodies were discovered in the vicinity of Leith on the morning of the 4th November 1821 with some reflections on the pathology of the brain. **Trans Med Chir Sci**, v. 1, p. 84-169, 1824.

KINCAID, S. M.; LAM, M. A. Monitoring and Managing Intracranial Pressure. **CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology**, v. 12, n.1, p. 93-108, 2006.

KONTOS, H. A.; WEI, E. P.; RAPER, A. J.; ROSENBLUM, W. I.; NAVARI, R. M.; PATTERSON, J. L. JR. Role of tissue hypoxia in local regulation of cerebral microcirculation. **Am J Physiol**, v. 234, p. H582–H591, 1978.

KWAN, P.; SANDER, J. W. The natural history of epilepsy: an epidemiological view. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 75, p. 1376–1381, 2004.

LANG, E. W.; CHESNUT, R. M. Intracranial pressure monitoring and management. **Neurosurg Clin North Am**, v. 5, p. 573-587, 1994.

LANGFITT, T. W.; WEINSTEIN, J. D.; KASSELL, N. F. Vascular factors in head injury: contribution to brain swelling and intracranial hypertension. In: CAVANESS, W. F.; WALKER, A. E (Org.). **Head injury: Conference Proceedings**. Philadelphia: JB Lippincott, 1966. p. 172-194.

LANYON, L. E. Analysis of surface bone strain in the calcaneus of sheep during normal locomotion. **Journal of Biomechanical**, v. 6, n. 1, p. 41-42, 1973.

LANYON, L. E.; HAMPSON, W. G.; GOODSHIP, A. E.; SHAH, J. S. Bone deformation recorded in vivo from strain gauges attached to the human tibial shaft. **Acta Orthopaedica**, v. 46, n. 2, p. 256-268, 1975.

LASSEN, N. A.; AGNOLI, A. Upper limit of autoregulation of cerebral blood flow: on the pathogenesis of hypertensive encephalopathy. **Scand J Clin Lab Invest**, v. 30, p. 113–115, 1972.

LATHERS, C. M.; SCHRAEDER, P. L. Clinical pharmacology: drugs as a benefit and/or risk in sudden unexpected death in epilepsy? **J Clin Pharmacol**, v. 42, p. 123–136, 2002.

LEE, K. R.; HOFF, J. T. Intracranial pressure. In: _____. **Neurology surgery**. 4 ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. v. 1, p. 491-518.

LEITE, J. P.; GARCIA-CAIRASCO, N.; CAVALHEIRO, E. A. New insights from the use of pilocarpine and kainate models. **Epilepsy Research**, v. 50, n. 1-2, p. 93-103, 2002.

LUNDBERG, N.; TROUPP, H.; LORIN, H. Continuous recording of the ventricular-fluid pressure in patients with severe acute traumatic brain injury. A preliminary report. **J Neurosurgery**, v. 22, p. 581–590, 1965.

LUNDBERG, N.; WEST, K. A. Leakage as a source of error in measurement of the cerebrospinal fluid pressure by lumbar puncture. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 1, n. 13, p. 115–121, 1965.

LUNDBERG, N. Continuous recording and control of ventricular fluid pressure in neurosurgical practice. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 36, p. 1–193, 1960.

LUNDBERG, N. The saga of the Monroe–Kellie doctrine. In: ISHII S.; NAGAI, H.; BROCK, M. (Org.). **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON INTRACRANIAL PRESSURE**, 5., 1983, Tokyo. **Proceedings of the International Symposium on Intracranial Pressure**. Tokyo: Springer–Verlag, 1983. p. 68–76.

MAGENDIE, F. **Recherches anatomique et physiologique sur le liquide céphalo-rachidien ou cérébro-spinal.** Paris, 1842.

MARMAROU, A.; SHULMAN, K.; LAMORGESE, J. Compartmental analysis of compliance and outflow resistance of the cerebrospinal fluid system. **J Neurosurg**, v. 43, n.5, p. 523-534, 1975.

MARMAROU, A.; TABADDOR, K. Intracranial pressure: physiology and pathophysiology. In: COOPER, P. R. (Org.). **Head injury**, 3 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993. p. 159-176.

MASCARENHAS, S.; VILELA, G. H.; CARLOTTI, C.; DAMIANO, L. E.; SELUQUE, W. COLLI, B.; TANAKA, K.; WANG C. C.; NONAKA, K. O. The new ICP minimally invasive method shows that the Monro-Kellie doctrine is not valid. **Acta Neurochir Suppl**, v. 14, p.117-120, 2012.

MATHERN, G. W.; BABB, T. L. E ARMSTRONG, D. L. Hippocampal sclerosis. In: ENGEL, J. J.; PEDLEY, T. A.; JEAN, A. (Org.). **Epilepsy, a Comprehensive Textbook.** Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997.

MELLANDER, S. Functional aspects of myogenic vascular control. **J Hypertens**, v. 7, n. 4, p. S21–S30, 1989.

MELLO, L. E.; CAVALHEIRO, E. A.; TAN, A. M.; KUPFER, W. R.; PRETORIUS, J. K.; BABB, T. L.; FINCH, D. M. Circuit mechanisms of seizures in the pilocarpine model of chronic epilepsy: cell loss and mossy fiber sprouting. **Epilepsia**, v. 34, p. 985-995, 1993.

METCALF, C. S.; RADWANSKI, P. B.; BEALER, S. L. Status epilepticus produces chronic alterations in cardiac sympathovagal balance. **Epilepsia**, v. 50, n. 4, p. 747–754, 2009.

MILHORAT, T. H. Cerebrospinal fluid production by the choroid plexus and brain. **Science**, v. 173, n. 994, p. 330-332, 1971.

MOKRI, B. The Monro-Kellie hypothesis: Applications in CSF volume depression. **Neurology**, v.56, n. 12, 1746-1748, 2001.

MONRO, A. **Observations on structure and functions of the nervous system.** Edinburgh: Creech and Johnson, 1783.

MUIZELAAR, J. P.; OBRIST, W. D. Cerebral blood flow and brain metabolism with brain injury. In: BECKER, D.; POVLISHOCK, J. **Central nervous system trauma status report.** New York: National Institute of Health, p. 123-137, 1985.

NAGAO, T.; ALONSO, A.; AVOLI, M. Epileptiform activity induced by pilocarpine in the rat hippocampal-entorhinal slice preparation. **Neuroscience**, v.72, p. 399–408, 1996.

NGUGI, A. K.; BOTTOMLEY, C.; KLEINSCHMIDT, I.; SANDER, J. W.; NEWTON, C. R. Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a meta-analytic approach. **Epilepsia**, v. 51, p. 883–890, 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Epilepsy fact sheets, 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en/>>. Acesso em 08 mar. 2014.

OSOL, G.; BREKKE, J. F.; MCELROY-YAGGY, K.; GOKINA, N. I. Myogenic tone, reactivity, and forced dilatation: a three-phase model of in vitro arterial myogenic behavior. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 283, p. H2260–2267, 2002.

PARK, E.; KIM, E. Spontaneous intracranial hypotension: clinical presentation, imaging features and treatment. **Journal of Korean Neurosurgery Society**, v. 45, n. 1, p. 1-4, 2009.

PARKER, G. J. M.; CHARD, D. T. Volume and atrophy. In: TOFTS, P. (Org.). **Quantitative MRI of the brain: measuring changes caused by disease**. Wiley, 2003.

PAULSON, O. B.; STRANDGAARD, S.; EDVINSSON, L. Cerebral autoregulation. **Cerebrovasc Brain Metab Rev**, v. 2, n. 2, p. 161-192, 1990.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. 3 ed., Academic Press, 1997.

PELL, G. S., BRIELLMANN, R. S., WAITES, A. B., ABBOTT, D. F.; JACKSON, G. D. Voxel-based relaxometry: a new approach for analysis of T2 relaxometry changes in epilepsy. **NeuroImage**, v. 21, p. 707–713, 2004.

PELL, G. S., BRIELLMANN, R. S., PARDOE, H., ABBOTT, D. F. E JACKSON, G. D. Composite voxel-based analysis of volume and T2 relaxometry in temporal lobe epilepsy. **NeuroImage**, v. 39, p. 1151–1161, 2008.

PHILLIPS, S. J.; WHISNANT, J. P. Hypertension and the brain. **Arch Intern Med**, v. 152, p. 938–945, 1992.

PITLYK, P. J.; PIANTANIDA, T. P; PLOEGER, D. W. Noninvasive intracranial pressure monitoring. **Neurosurgery**, v. 17, n. 4, p. 581-584, 1985.

POLLAY, M. Review of spinal fluid physiology: Production and absorption in relation to pressure. **Clinical Neurosurgery**, v. 24, p. 254-269, 1997.

POPP, J.; BOURKE, R. S. Cerebral edema: etiology, pathophysiology and therapeutic considerations. **Contemporary Neurosurgery**, v. 1, n. 1, p. 1-6, 1977.

PRIEL, M. R.; ALBUQUERQUE, E. X. Short-term effect of pilocarpine on rat hippocampal neurons in culture. **Epilepsia**, v. 43, n.5, p. 40–46, 2002.

RABOEL, P. H.; BARTEK, J., JR.; ANDRESEN, M.; BELLANDER, B. M.; ROMNER, B. Intracranial Pressure Monitoring: Invasive versus Non-Invasive Methods - A Review. **Crit Care Res Pract**, v. 2012, 2012.

RACINE, R. J.; GARTNER, J. G.; BURNHAN, W. M. Epileptiform activity and neural plasticity in limbic structures. **Brain Research**, v. 47, p. 262-268, 1972.

ROSNER, M. J.; BECKER, D. P. Origin and evolution of plateau waves. Experimental observations and a theoretical model. **J Neurosurg**, v. 984, n. 60, p. 312–324, 1984.

ROSNER, M. J.; ROSNER, S. D.; JOHNSON, A. H. Cerebral perfusion pressure: management protocol and clinical results. **J Neurosurg**, v. 83, p. 949–962, 1995.

ROSS, N.; EYNON, C. A. Intracranial pressure monitoring. **Current Anaesthesia & Critical Care**, v. 16, p. 255–261, 2005.

RUSSEL, R. W. Extrapolation from animals to man. In: _____. **Animal behavior and drug action**, London: Churchill, 1984. p. 410-418.

SANCHEZ-VALVERDE, M. A.; LAREDO, F. G.; LOPEZ, F.; AGUT, A.; MURCIANO, J. Method of recording cerebrospinal fluid pressure at three anatomic places in conscious and unrestrained adult wistar rats. **Neuroscience Research**, v. 24, p. 103-107, 1995.

SANDER, J. W. The epidemiology of epilepsy revisited. **Curr. Opin. Neurol.**, v. 16, p. 165–170, 2003.

SCHULZ, H.; MUHLE, H. Respiration. In: SUCKOW, M. A.; WEISBROTH, S. H.; FRANKLIN, C. L. (Org.). **The Laboratory Rat**. 2 ed. Academic Press, 2006. cap 16, p. 323-344.

SCORZA, F. A.; ARIDA, R. M.; NAFFAH-MAZZACORATTI, M.; SCERNI, D. A.; CALDERAZZO, L.; CAVALHEIRO, E. A. The pilocarpine model of epilepsy: what have we learned? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 3, p. 345-365, 2009.

SHAH, A. K.; FUERST, D. ; SOOD, S.; ASANO, E.; AHN-EWING, J. ; PAWLAK, C. Seizures lead to elevation of intracranial pressure in children undergoing invasive EEG monitoring. **Epilepsia**, v. 48, n. 6, p. 1097-103, 2007.

SHARMA, A. K.; REAMS, R. Y.; JORDAM, W. H.; MILLER, M. A.; THACKER, H. L.; SNYDER, P. W. Mesial temporal lobe epilepsy: pathogenesis, induced rodent models and lesions. **Toxicology Pathology**, v. 35, p. 984-999, 2007.

SHEERIN, F. The imaging of the cerebral venous sinuses. **Seminars in Ultrasound CT MRI**, v. 30, n.6, p. 525-58, 2009.

SHIGENO, T. The determination of brain water content: microgravimetry versus drying- weighing method. **Journal of Neurosurgery**, v. 57, n. 1, p. 99-108, 1982.

SHIN, C.; MCNAMARA, J. Mechanism of epilepsy. **Annu Rev Med**, v. 45, p. 379-389, 1994.

SHU, H.; YI-MING, W.; XU, L. P.; MIAO, C. Y.; SU, D. F. Increased susceptibility of ventricular arrhythmias to aconitine in anaesthetized rats is attributed to the inhibition of baroreflex. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 31, p. 249–253, 2004.

SLOVITER, R. S. A simplified Timm stain procedure compatible with formaldehyde fixation and routine paraffin embedding of rat brain. **Brain Res Bull**, v. 8, n. 6, p. 771-774, 1982.

SMITH, M. Monitoring intracranial pressure in traumatic brain injury. **International Anesthesia Research Society**, v. 106, n. 1, p. 240-248, 2008.

SMOLDERS, I.; KHAN, G. M.; MANIL, J.; EBINGER, G.; MICHOTTE, Y. NMDA receptor-mediated pilocarpine-induced seizures: characterization in freely moving rats by microdialysis. **Br J Pharmacol**, v.121, p. 1171-1179, 1997.

SOLHEIM, A. O.; VIK, S. G.; EIDE, P. K. Rapid and severe rise in static and pulsatile intracranial pressures during a generalized epileptic seizure. **Seizure**, v. 17, p. 740-743, 2008.

TALMAN, W. T.; DRAGON D. N. Neuronal nitric oxide mediates cerebral vasodilatation during acute hypertension. **Brain Res**, v.1139, p. 126–132, 2007.

TURSKI, W. A.; CAVALHEIRO, E. A.; SCHWARZ, M.; CZUCZWAR, S. L. J.; KLEINROK, Z.; TURSKI, L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioral, electroencephalographic and neuropathological study. **Behav. Brain Res.**, v. 9, p. 315–35, 1983a.

TURSKI, W. A.; CZUCZWAR, S. J.; KLEINROK, Z.; TURSKI, L. Cholinomimetics produce seizures and brain damage in rats. **Experientia**, v. 39, p. 1408–1411, 1983b.

VILELA, G. H. F. **Desenvolvimento de um sistema minimamente invasivo para monitorar a pressão intracraniana**. 2010. 126 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

WALTON, N. Y. Systemic effects of generalized convulsive status epilepticus. **Epilepsia**, n. 34, n. 1, p. S54–S58, 1993.

WASTERLAIN, C. G.; FUJIKAWA, D. G.; PENIX, L.; SANKAR, R. Pathophysiological mechanisms of brain damage from status epilepticus. **Epilepsia**, v. 34, n. 1, p. S37–S53, 1993.

WIESER, H. G. ILAE Commission on Neurosurgery of Epilepsy. ILAE Commission Report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. **Epilepsia**, v. 45, p. 695–714, 2004.