

MÉTODO DE DISSECAÇÃO DA SEXTA VÉRTEBRA LOMBAR DO RATO WINSTAR

(Method of dissection of the sixth vertebra lumbar winstar mouse)

Pedro Cunha LOPES¹; Antônio Nadson Modesto FILHO¹; Karla Camila Lima de SOUZA¹; Paula Matias SOARES¹; Vânia Marilande CECCATTO¹; Francisco Fleury Uchôa Santos JÚNIOR^{1*}

¹Laboratório de Bioquímica e Expressão Gênica da Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, Ce. Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus Itaperi, Fortaleza-Ce, CEP: 60.740-000. E-mail: drfleuryjr@gmail.com

RESUMO

A dissecação tem importância fundamental no aprendizado da Anatomia Topográfica, na capacitação das habilidades, no desenvolvimento de várias condutas clínicas e no campo da pesquisa experimental. A dissecação na área da anatomia é o ato de explorar, através de cortes ou extração, para possibilitar a visualização anatômica dos órgãos e regiões que existem em seres animais e assim possibilitar o seu estudo. Esse trabalho teve por objetivo o desenvolvimento e a descrição da técnica de retirada da sexta vértebra lombar. Essa prática poderá aumentar as habilidades de dissecação dos alunos envolvidos, bem como, produzir material ilustrativo em arquivo para ilustração de trabalhos científicos e a realização de medidas específicas trazidas dos conceitos antropométricos relacionados nas vértebras. Todos os princípios éticos sobre experimentação e manipulação animal foram respeitados pelas regras do Comitê de Ética para o Uso de Animais, da Universidade Estadual do Ceará (UECE), sob o protocolo nº 1122178 de 05/10/2017. Foram utilizados 2 ratos machos albinos da linhagem Wistar, com aproximadamente 60 dias de vida e peso médio de 250g±50g, provenientes do centro de climatização da UECE. Os animais eram mantidos em ciclo claro/escuro (12h/12h), em ambiente com temperatura controlada entre 22 a 25 °C, e com ração e água *ad libitum*. Como observado na descrição da nossa metodologia de dissecação, todo o tecido ósseo da vertebra L6 pode ser explorado, bem como, a suposição de análises comparativas quanto as propriedades físicas aplicadas à coluna vertebral, durante exercícios físicos ou processos degenerativos. Com essa técnica de retirada da sexta vertebra lombar do rato, conseguimos viabilizar o uso das vertebrae na pesquisa experimental. Assim foram realizadas algumas medidas morfometrias como: distância entre os processos transversos, distância entre o corpo vertebral e o processo espinhoso, largura do corpo vertebral, altura do corpo vertebral e área do disco vertebral (mm).

Palavras-chave: Cirurgia, ratos, osso.

ABSTRACT

Dissection is of fundamental importance in the learning of Topographic Anatomy and in the training of the skills and development of several clinical conducts and in the field of

experimental research. Dissection in the area of the anatomy is the act of exploring, through cuts or extraction, to allow the anatomical visualization of the organs and regions that exist in animal beings and thus enable their study. To demonstrate the technique of removal of the sixth lumbar vertebra, as well as to increase the dissecting abilities of the students involved, to produce illustrative material in an archive for illustration of scientific work and to carry out specific measures brought about by the anthropometric concepts related to the vertebrae. All the ethical principles on animal experimentation and manipulation were respected by the rules of the Committee of Ethics for the Use of Animals of the State University of Ceará (UECE) under protocol # 1122178 of 10/5/2017. Two Wistar male albino rats with approximately 60 days of life and average weight of $250\text{g}\pm 50\text{g}$ were used from the UECE air conditioning center. The animals were kept in a light / dark cycle (12h / 12h), in a temperature controlled environment between 22 to 25 °C, and with feed and water ad libitum. With this technique of removal of the sixth lumbar vertebra of the rat, we were able to make vertebrae viable in the experimental research. Thus, we perform some average morphometries such as: Distance between the transverse processes, distance between the vertebral body and the spinal process, vertebral body width, vertebral body height, vertebral disc area (mm). As observed in the description of our the entire bone tissue of the L6 vertebra can be explored, as well as the assumption of comparative analyzes of physical properties applied to the spine during physical exercises or degenerative processes.

Key words: Surgery, mice, bone.

INTRODUÇÃO

A dissecação tem importância fundamental no aprendizado da Anatomia Topográfica, na capacitação das habilidades, no desenvolvimento de várias condutas clínicas e no campo da pesquisa experimental (DA CUNHA *et al.*, 2017). A dissecação na área da anatomia é o ato de explorar, através de cortes ou extração, para possibilitar a visualização anatômica dos órgãos e regiões que existem nos animais e assim possibilitar o seu estudo (DALLEY e MOORE, 2007).

Vértebras, juntamente com discos intervertebrais, compõem a coluna vertebral. Ela se estende do crânio ao cóccix e inclui as regiões cervical, torácica, lombar e sacra. A coluna tem vários papéis importantes no corpo, que incluem a proteção da medula espinhal e nervos espinhais ramificados, suporte para tórax e abdômen, e permite flexibilidade e mobilidade do corpo. Os discos intervertebrais são responsáveis por essa mobilidade sem sacrificar a força de suporte da coluna vertebral e sem aumentar o desgaste das articulações. A região lombar contém cinco vértebras, designadas por L1-L5 (WAXENBAUM, 2017).

Os discos intervertebrais, juntamente com as lâminas, pedículos e processos articulares das vértebras adjacentes, criam um espaço através do qual os nervos espinais saem. As vértebras lombares, como um grupo, produzem uma curva cifótica (JAUMARD *et al.*, 2015). Existe apenas uma vértebra lombar que pode ser considerada atípica. A L5 tem o maior corpo e processos transversais de todas as vértebras (WAXENBAUM, 2017).

Os processos degenerativos ou patológicos da coluna lombar parecem ser os responsáveis por grandes índices de incapacidade e faltas no trabalho, gerando alto custo para

a sociedade e altos custos para os sistemas de saúde nos países desenvolvidos. O seu estudo vem sendo amplamente discutido e difundido, através de várias perspectivas, seja para recuperação utilizando exercícios, medicamentos e terapias (MAETZEL e LI, 2001) ou como estudos fisiológicos de processos degenerativos (DAGENAIS *et al.*, 2008).

A falta de literatura voltada para a dissecação que embase o estudo da coluna vertebral em ratos objetivou o desenvolvimento e a descrição da técnica de retirada da sexta vértebra lombar que irá proporcionar estudos futuros que visam estudar aspectos morfológicos e fisiológicos intrínsecos ao tecido ósseo vertebral, bem como, a produção de material em arquivo para a ilustração de trabalhos científicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Biológico

Todos os princípios éticos sobre experimentação e manipulação animal foram respeitados pelas regras do Comitê de Ética para o Uso de Animais, da Universidade Estadual do Ceará (UECE), sob o protocolo nº 1122178 de 05/10/2017. Foram utilizados 2 ratos machos albinos da linhagem Wistar, com aproximadamente 60 dias de vida e peso médio de 250g±50g, provenientes do centro de climatização da UECE. Os animais eram mantidos em ciclo claro/escuro (12h/12h), em ambiente com temperatura controlada entre 22 a 25 °C, e com ração e água *ad libitum*.

Material cirúrgico e Procedimento de dissecação

Foi utilizado um bisturi com lâmina de número 15 e 18, uma tesoura de mayo reta e uma curva, e pinça Cushing reta de 18 centímetros. Os animais foram anestesiados com tiopental sódico (150 mg/kg) conforme o peso do animal via intraperitoneal. Em seguida, foram sacrificados de acordo com a resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária – CFMV/CRMVs – nº 714, 20/06/2002. O animal foi posicionado com o dorso para cima e suas patas fixadas para que seu corpo ficasse imóvel as pressões exercidas. O pelo foi previamente umedecido para que não soltasse. Foi realizado um corte de aproximadamente 3 centímetros na altura da articulação lombo pélvica do animal para expor a região lombar baixa. (Fig. 1)

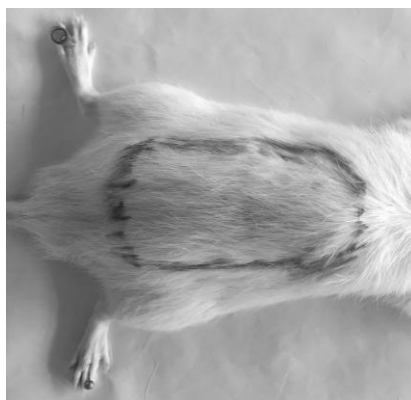


Figura 1: Animal em decúbito ventral, com as patas em extensão e marcação do local de dissecação.

A pele foi retirada e então a primeira camada de fáscia superficial foi exposta, permitindo a visualização das estruturas musculares, bandas de tecido conjuntivo e a ponta dos processos espinhosos das vértebras lombares (Fig. 2)

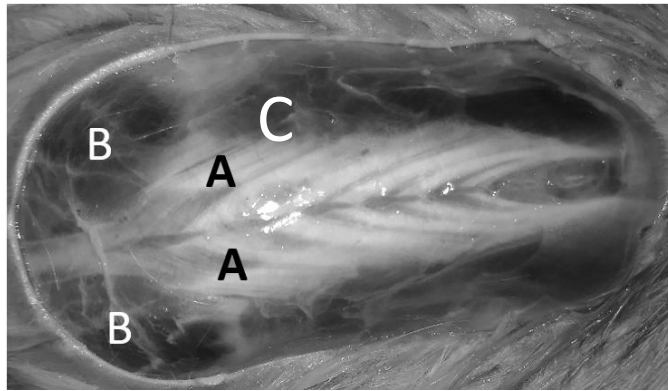


Figura 2: Retalho dorsal dissecado; A: Fáscia toracolombar; B: Musculo Glúteo máximo; C: Musculatura para vertebral lombar.

Com o auxílio da tesoura de corte pequena, os ligamentos foram retirados acima e abaixo da 6^a vértebra lombar e da cápsula articular dos processos articulares. No momento que os ligamentos já não existem para ligar uma vértebra à outra, apenas os ligamentos que resistem na parte ventral da coluna e dentro do canal medular, que ainda seguram as vértebras como um conjunto, nesse momento foi atribuído movimentos torcionais para a exposição desses ligamentos e assim a realização do seu corte (Fig. 3).

Após a separação da sexta vértebra lombar das demais, foi realizada uma limpeza para a retirada de todos os tecidos moles que ali ficam inseridos.

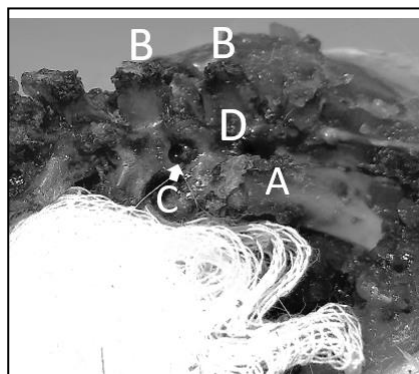


Figura 3: Vista lateral expondo a coluna lombar. A: Osso Íliaco; B: Processo espinhoso; C: Forame de conjugação; D: L6.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tal como acontece com toda a fisiologia, a anatomia de uma estrutura está relacionada diretamente à sua função. Como foi observado, as vértebras lombares têm os maiores corpos de toda a coluna e aumentam de tamanho à medida que a coluna desce. Este aumento acentuado no tamanho é um reflexo da responsabilidade da coluna lombar de suportar toda a parte superior do corpo e conferir mobilidade para as patas traseiras. A orientação quase vertical das facetas articulares superiores permite a flexão, extensão e flexão lateral, mas impede a rotação. Os processos mamilares fornecem um ponto de ligação para os músculos intertransversários e multífidos.

Com essa técnica de retirada da sexta vértebra lombar do rato, conseguiu-se viabilizar o uso das vértebras na pesquisa experimental. Assim pode-se realizar algumas medidas morfométricas, como: Distância entre os processos transversos, distância entre o corpo vertebral e o processo espinhoso, largura do corpo vertebral, altura do corpo vertebral e área do disco vertebral (mm).

Modelos animais têm sido usados para abordar uma variedade de questões científicas, desde a ciência básica até o desenvolvimento e avaliação de novas vacinas ou terapias (PRAVETONI, 2012; SANTOS Jr *et al.*, 2012). O uso de animais não se baseia apenas nas vastas semelhanças na biologia da maioria dos mamíferos, mas também no fato de que as doenças humanas frequentemente afetam outras espécies animais. Outro método proposto por Cunningham (2010) demonstra uma análise feita por raio X para identificar alterações morfológicas geradas pela osteoartrite. O exame de escolha demonstra poucas possibilidades de estudo, nossa proposição, por outro lado, viabiliza múltiplas análises e, ainda, permite a exposição da vértebra oportunizada com a nossa técnica e cria um ambiente propício para as análises histológicas (SHUANG, 2015).

As relações anatômicas e fisiológicas entre humanos e animais, particularmente mamíferos, levaram os pesquisadores a investigarem uma grande variedade de mecanismos e avaliarem novas terapias em modelos animais antes de aplicarem suas descobertas aos seres humanos (BARRÉ-SINOUSSE, 2015). Com isso, a proposição de um modelo experimental de retirada dos elementos vertebrais para a pesquisa experimental abre uma gama de possibilidades de estudos sobre disfunções músculo esquelética, degenerações articulares ou a utilização de mecanismos recuperadores de processos degenerativos, como a atrofia muscular gerada por desuso.

Comparando-se a morfologia das vértebras lombares de ratos e humanos, observou-se que em geral, comparações anatômicas indicam que apesar de terem os corpos vertebrais mais delgados e elípticos, as vértebras lombares de ratos Holtzman geralmente têm formas muito semelhantes às dos humanos (JAUMARD *et al.*, 2015). Apesar do rato ter uma coluna vertebral mais delgada que a humana (Figs. 4 e 5), a similaridade na relação de aspecto do canal vertebral entre as espécies sugere que as dimensões do canal podem ser dimensionadas para estudos da biomecânica em roedores.

As diferenças e semelhanças anatômicas entre a estrutura vertebral do rato e a humana devem ser consideradas quando a interpretação dos resultados tiver relação com os aspectos mecânicos em modelos animais (BECKSTEIN, 2008; FLYNN e BOTTON, 2007). Além disso, a variação na orientação facetaria e as diferenças colocadas na coluna lombar devido às diferenças entre indivíduos quadrúpedes e bípedes também contribuem nas especificidades morfofuncionais da coluna.

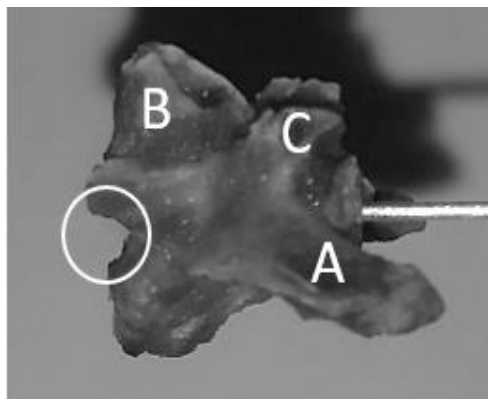


Figura 4: Vista lateral da sexta vértebra lombar, a área circulada representa o forame de conjugação. (A = Processo transverso da vértebra L6; B = Processo espinhoso de L6; C = Processo articular de L6)

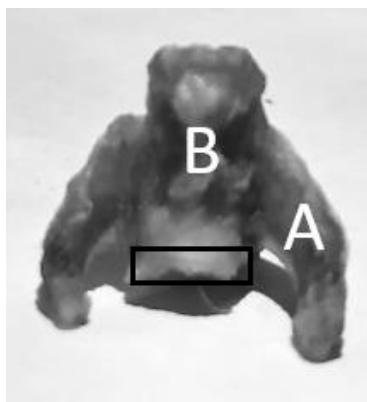


Figura 5: Vista anterior da vértebra L6, a área selecionada com retângulo representa o disco intervertebral. (A = Processo transverso de L6; B = Corpo vertebral de L6)

CONCLUSÃO

Como observado na descrição da nossa metodologia de dissecação, todo o tecido ósseo da vértebra L6 pode ser explorado, bem como, a suposição de análises comparativas quanto as propriedades físicas aplicadas à coluna vertebral, durante exercícios físicos ou processos degenerativos. Com isso, a proposição de um modelo experimental de retirada dos elementos vertebrais para a pesquisa experimental abre uma gama de possibilidades de estudos sobre disfunções músculo esqueléticas ou degenerações articulares.

REFERÊNCIAS

- BARRÉ-SINOUSSE, F.; MONTAGUTELLI, X. Animal models are essential to biological research: issues and perspectives. *Future Science OA*, v.1, n.4, p.57-65, 2015.
- BECKSTEIN, J. C. Comparison of animal discs used in disc research to human lumbar disc: axial compression mechanics and glycosaminoglycan content. *Spine*, v.33, n.6, p.E166-E173, 2008.
- CUNNINGHAM, M.E. In vivo and in vitro analysis of rat lumbar spine mechanics. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, v.468, n.10, p.2695-2703, 2010.
- DA CUNHA, J.M.; GUTTERRES, D.B.; FONSECA, S.R.; JUNIOR, V.D.A.; DE SIQUEIRA, E.C. Dissecção de cadáveres humanos durante graduação médica: Relato de experiência. *Revista de Saúde*, v.8, n.1, p.76-77, 2017.
- DAGENAIS, S.; CARO, J.; HALDEMAN, S. A systematic review of low back pain cost of illness studies in the United States and internationally. *The Spine Journal*, v.8, n.1, p.8-20, 2008.
- DALLEY, A.F.; MOORE, K.L. *Anatomia orientada para a clínica*. 5ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 245p.
- FLYNN, J.R.; BOLTON, P.S. Measurement of the vertebral canal dimensions of the neck of the rat with a comparison to the human. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, v.290, n.7, p.893-899, 2007.
- JAUMARD, N.V.; LEUNG, J.; GOKHALE, A.L.; GUARINO, B.B.; WELCH, W.C.; WINKELSETEIN, B.A. Relevant Anatomic and Morphological Measurements of the Rat Spine. *Spine*, v.40, n.20, p.1084-1092, 2015.
- MAETZEL, A.; LI, L. The economic burden of low back pain: a review of studies published between 1996 and 2001. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, v.16, n.1, p.23-30, 2002.
- PRAVETONI, M.; RALEIGH, M.D.; LE NAOUR, M.; TUCKER, A. M.; HARMON, T.M.; JONES, J.M.; PENTEL, P.R. Co-administration of morphine and oxycodone vaccines reduces the distribution of 6-monoacetylmorphine and oxycodone to brain in rats. *Vaccine*, v.30, n.31, p.4617-4624, 2012.
- SANTOS-JÚNIOR, F.F.U.; DE OLIVEIRA SOUZA, A.L.; FRANCO, F.G.S.; ANDRÉ, N.M.; CECCATTO, V.M. Reabilitação diafragmática de ratos pós-imobilização com terapia aquática. *Fisioterapia Brasileira*, v.13, n.6, p.420-424, 2012.

Ciência Animal, v.28, n.3, p.20-27, 2018.

SHUANG, F. Establishment of a rat model of lumbar facet joint osteoarthritis using intraarticular injection of urinary plasminogen activator. Scientific Reports, v.5, p.9828-9835, 2015.

WAXENBAUM, J.A.; FUTTERMAN, B. Anatomy, Back, Vertebrae, Cervical. 2017. 136p.