
ALDERICO GIRÃO CAMPOS DE BARROS

**Avaliação do efeito da eritropoetina em diferentes doses e
magnitudes de trauma na lesão medular em ratos**

SÃO PAULO

2024

ALDERICO GIRÃO CAMPOS DE BARROS

Avaliação do efeito da eritropoetina em diferentes doses e magnitudes de trauma na lesão medular em ratos

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Fogaça Cristante

SÃO PAULO

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Barros, Alderico Girão Campos de

Avaliação do efeito da eritropoetina em diferentes doses e magnitudes de trauma na lesão medular em ratos / Alderico Girão Campos de Barros; Alexandre Fogaça Cristante. -- São Paulo, 2024.

Tese (Doutorado) -- Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2024.

1. Eritropoetina 2. Traumatismos da medula espinhal
3. Sistema nervoso central/lesões 4. Ratos I. Cristante, Alexandre Fogaça, orient. II. Título

USP/FM/DBD-139/24

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

Barros AGC. *Avaliação do efeito da eritropoetina em diferentes doses e magnitudes de trauma na lesão medular em ratos* [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2024.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Nomes das estruturas anatômicas baseados na Terminologia Anatômica: Terminologia Anatômica Internacional, Editora Manole, 1a ed. São Paulo, 2001.

Vocabulário ortográfico da língua portuguesa, 5a edição, 2009, elaborado pela Academia Brasileira de Letras, em consonância com o Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa, promulgado pelo decreto nº 6583/2008.

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver). Universidade de São Paulo. Sistema Integrado de Bibliotecas. Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: Parte IV (VANCOUVER). Elaborado por Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, Maria Cláudia Pestana, Maria Cristina Cavarette Dziabas, Eliana Maria Garcia, Maria Fátima dos Santos, Maria Marta Nascimento, Suely Campos Cardoso. 3a ed. São Paulo: Sistema Integrado de Bibliotecas; 2016.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **José Roberto** e **Márcia**, pelo suporte e amor incondicional, apesar da distância e obstáculos.

Às minhas irmãs **Carolina**, **Gabriella** e **Daniella**, por sempre me incentivarem a buscar meus objetivos e a relação de amor que mantemos, mesmo fisicamente distante há tantos anos.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Professor Doutor **Alexandre Fogaça Cristante**, meu orientador, pela oportunidade e incentivo ao desenvolvimento acadêmico e aprimoramento de conhecimentos. Por toda a atenção e respeito que se sempre me concedeu.

Aos Professores Doutores, **Tarcísio Eloy de Barros Filho** e **Olavo Pires de Camargo**, por permitirem o acesso a esta casa, referência em ensino e pesquisa para o profissional que deseja seguir na carreira acadêmica e docência.

Ao Professor Dr. **Luís Eduardo Carelli Teixeira da Silva**, pelo companheirismo, pelo estímulo de persistência nos estudos acadêmicos no campo da clínica e cirurgia da coluna vertebral, associado ao brilhantismo e paixão que transmite na prática médica durante todos esses anos trabalhando e dividindo seu conhecimento de forma honesta comigo.

Ao Dr. **Luís Cláudio Vilella Schettino**, pela amizade, por ser referência em ética, compromisso e dedicação na assistência aos pacientes, pelas portas abertas em minha vida profissional e por dividir seu conhecimento de forma honesta comigo.

À Dra. **América Maria Mendonça Limoeiro**, pelo carinho e proteção materna recebidos durante todos esses anos no Rio de Janeiro;

Ao biólogo **Gustavo Bispo dos Santos**, pela atenção, dedicação e profissionalismo sempre presente durante a realização de todo o estudo.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas

Listas de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO.....	20
2	OBJETIVOS.....	24
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	26
3.1	Eritropoetin.....	26
3.2	Eritropoetina como agente neuroprotetor.....	28
3.3	Lesão medular: modelos experimentais e estudos clínicos.....	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	54
4.1	Local de execução.....	54
4.2	Ética.....	54
4.3	Animais de experimentação.....	55
4.4	Seleção dos animais.....	55
4.4.1	Critérios de inclusão.....	55
4.4.2	Critérios de exclusão.....	56
4.5	Formação dos grupos experimentais.....	56
4.6	Protocolo de anestesia.....	57
4.7	Exposição do saco dural e laminectomia.....	58
4.8	Mecanismo de lesão medular.....	60

4.9	Protocolo de cuidados pós operatórios.....	62
4.10	Avaliação da capacidade locomotora pela escala BBB.....	63
4.11	Avaliação comportamental sensório motora: plano horizontal.....	64
4.12	Protocolo de eutanásia.....	65
4.13	Preparo dos tecidos para avaliação histológica.....	65
4.14	Análise histológica qualitativa.....	66
4.15	Análise histológica quantitativa.....	68
4.16	Descarte das carcaças.....	69
4.17	Forma de análise dos resultados.....	69
5	RESULTADOS.....	72
6	DISCUSSÃO.....	102
7	CONCLUSÃO.....	110
8	ANEXOS.....	112
9	REFERÊNCIAS.....	118

ABREVIATURAS, SIMBOLOS E SIGLAS

AIS	ASIA Impairment Scale
ASIA	American Spinal Cord Injury Association
AMP	Amplitude
ATP	Adenosina trifosfato
BBB	Basso, Beattie e Bresnahan
BSF-2	Fator de diferenciação de células B humanas
EPO	Eritropoetina
EPOr	Receptor de eritropoetina
EPOrh	Eritropoetina recombinante humana
HE	Hematoxilina e eosina
IL	Interleucina
IL-6-R	Receptor de interleucina 6
Ip	Intraperitoneal
JAK2	Janus Kinase 2
LAT	Latência
LM	Lesão medular
LMA	Lesão Medular aguda
LME	Lesão da medula espinal
MASCIS	Multicenter Animal Spinal Cord Injury
mm	Milímetros
ms	Milissegundos
mV	Milivolts
MP	Metilprednisolona
NASCIS	National Acute Spinal Cord Injury Study
NF-AT	Fator nuclear de células T ativadas
NGF	Fator de crescimento de nervo
NYU	New York University
°C	Grau Celsius
PAFG	Proteína Ácida Fibrilar Glial
pH	Potencial de hidrogênio

Pré-op	Período pré-operatório
RNA_m	Ácido Ribonucleico mensageiro
SF	Soro Fisiológico
Sgp130	Forma solúvel da proteína gp130
TNF	Fator de necrose tumoral
TRM	Traumatismo raquimedular
UI	Unidade internacional
UI/ml	Unidade internacional por mililitro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição da escala BBB segundo grupos e momentos de avaliação e resultado das comparações.....	72
Tabela 2 - Resultado das comparações múltiplas do BBB entre grupos e momentos avaliados.....	73
Tabela 3 - Descrição dos pesos dos animais segundo grupos no início e ao final do estudo e resultado das comparações.....	79
Tabela 4 - Resultado das comparações múltiplas do peso entre grupos e momentos avaliados.....	80
Tabela 5 - Descrição dos passos e acertos dos animais segundo grupos e momentos de avaliação e resultado das comparações.....	81
Tabela 6 - Descrição dos escorregões e erros dos animais segundo grupos e momentos de avaliação e resultado das comparações.....	82
Tabela 7 - Resultado das comparações múltiplas dos passos entre grupos e momentos avaliados.....	83
Tabela 8 - Resultado das comparações múltiplas dos acertos entre grupos e momentos avaliados.....	86
Tabela 9 - Resultado das comparações múltiplas dos escorregões entre grupos e momentos avaliados.....	89
Tabela 10 - Resultado das comparações múltiplas dos erros entre grupos e momentos avaliados.....	92
Tabela 11 - Descrição da análise histológica qualitativa segundo grupos e resultado das comparações.....	95
Tabela 12 - Resultado das comparações múltiplas do grau de necrose entre os grupos.....	96

Tabela 13 - Resultado das comparações múltiplas do grau de hemorragia entre os grupos.....	97
Tabela 14 - Resultado das comparações múltiplas do grau de degeneração entre os grupos.....	98
Tabela 15 - Descrição da análise histológica quantitativa e resultado dos testes comparativos.....	99
Tabela 16 - Resultado das comparações múltiplas do parâmetro cranial entre os grupos.....	100
Tabela 17 - Resultado das comparações múltiplas do parâmetro caudal entre os grupos.....	101

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	LETRAN.....	54
Figura 2 -	Indução anestésica com isoflurano (1.5–2.0 vols.%) em caixa de acrílico.....	58
Figura 3 -	Animal em plano anestésico profundo em suporte por máscara cobrindo o focinho é realizada a tricotomia.....	58
Figura 4 -	A) Incisão longitudinal mediana em pele e tecido subcutâneo. B) Dissecção subperiosteal dos processos espinhosos e lâminas de T9 a T11.....	59
Figura 5 -	A) laminectomia de T10 e da metade distal de T9 com exposição do saco dural. B) Extremidade da haste de impacto do dispositivo alojada no saco dural.....	59
Figura 6 -	Esquema ilustrativo do equipamento computadorizado NYU Impactor.....	60
Figura 7 -	Garras reguláveis presas aos processos espinhosos das vértebras T8 e T11.....	61
Figura 8 -	Síntese por plano tecidual após realização da lesão medular contusa.....	62
Figura 9 -	Microscopia de corte sagital de fragmento da medula espinal corada por hematoxilina-eosina, mostrando aspecto histológico do achado: hemorragia. Foto realizada no Scanner Olympus, modelo VS120, objetiva de 20x.....	67
Figura 10 -	Microscopia de corte sagital de fragmento da medula espinal corada por hematoxilina-eosina, mostrando aspecto histológico do achado: degenerado. Foto realizada no Scanner Olympus, modelo VS120, objetiva de 20x.....	67

- Figura 11** - Microscopia de corte sagital de fragmento da medula espinal corada por hematoxilina-eosina, mostrando aspecto histológico do achado: necrose. Foto realizada no Scanner Olympus, modelo VS120, objetiva de 20x..... 68

RESUMO

Barros AGC. *Avaliação do efeito da eritropoetina em diferentes doses e magnitudes de trauma na lesão medular em ratos* [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2024.

INTRODUÇÃO: Existe evidência considerável da ação da eritropoetina recombinante humana (EPOrh) na regulação imunológica, na proteção contra a apoptose celular ocorrida durante a lesão medular secundária e na promoção do processo de reparo tecidual após a isquemia. Apesar de todos os avanços ocorridos, muitas variáveis ainda necessitam ser melhor esclarecidas. **OBJETIVO:** Avaliar os efeitos da ação da EPOrh em diferentes doses e diferentes magnitudes de trauma após lesão medular contusa em ratos. **MÉTODOS:** A lesão medular foi induzida pelo equipamento NYU Impactor, com queda de um peso de 10g à distância de 12,5mm ou 25 mm de altura. Foram utilizados 80 ratos da linhagem Wistar, divididos em oito grupos de 10 animais. O grupo I: altura de 12,5 mm, EPOrh em dose única de 500 IU/kg; O grupo II: altura de 25 mm, EPOrh em dose única de 500 UI/kg; O grupo III: altura de 12,5 mm, duas doses 500 UI/kg de EPOrh; O grupo IV: altura de 25 mm, duas doses 500 UI/kg de EPOrh; O grupo V: altura de 12,5 mm, EPOrh em dose única de 5.000 UI/kg; O grupo VI: altura de 25 mm, EPOrh em dose única de 5.000 UI/kg; O grupo VII: altura de 12,5 mm, duas doses 5.000 UI/kg de EPOrh e O grupo VIII: altura de 25 mm, duas doses 5.000 UI/kg de EPOrh. A EPOrh foi administrada por via intraperitoneal e nos grupos que receberam duas doses, o intervalo entre as doses foi de uma semana. Os animais foram acompanhados por 42 dias. A recuperação neurológica foi monitorada pela escala de Basso, Beattie e Bresnahan (BBB) e “plano horizontal”. Foi realizada avaliação histológica qualitativa e quantitativa após eutanásia. **RESULTADO:** Os resultados das avaliações mostram houve aumento da pontuação BBB com o passar das semanas em todos os grupos ($p < 0,05$), porém, a partir da 4ª semana o grupo com lesão 12,5 mm/Dose única 5.000 UI/Kg e o grupo 12,5 mm/Dose repetida 5.000 UI/Kg começaram a apresentar média estatisticamente maior na avaliação BBB que os demais grupos ($p < 0,05$), sendo que na 6ª semana os grupos com lesão 12,5 mm, independente da dose, apresentaram maior BBB que os grupos com lesão 25 mm ($p < 0,05$). Padrão semelhante também observado na avaliação pelo “plano horizontal”: na sexta semana os grupos que sofreram queda de 12,5mm e receberam a dose maior de EPOrh (5.000 UI/Kg, dose única e repetida) apresentaram mais passos que os demais grupos. Não houve diferença estatisticamente significativa quando se repetiu a administração da EPOrh após uma semana. No geral, os grupos que sofreram trauma de maior magnitude, as alterações histológicas qualitativas e quantitativas foram estatisticamente maiores que nos grupos que sofreram trauma de menor magnitude. **CONCLUSÃO:** Os animais que receberam maior dose de EPOrh e sofreram trauma de menor energia apresentaram melhor e mais rápida recuperação neurológica. A repetição da mesma dose após uma semana não mostrou benefícios.

Descritores: Eritropoetina; Traumatismos da medula espinhal; Sistema nervoso central/lesões; Ratos.

ABSTRACT

Barros AGC. Evaluation of the effect of erythropoietin in different doses and magnitudes of trauma on spinal cord injury in rats [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2024.

INTRODUCTION: There is considerable evidence of the action of recombinant human erythropoietin (rhEPO) in the immunologic regulation, protection against cellular apoptosis that happens during the secondary spinal cord injury and in the promotion of tissue repair after ischemia. Despite all published advances in this field, many variables still need to be better clarified. **OBJECTIVE:** Evaluate the effects of rhEPO action on the nerve regeneration process at different doses and at different magnitudes of trauma, after an experimental spinal cord injury in rats. **MATERIALS AND METHODS:** The injury was induced by a standardized equipment for spinal cord contusion injury, the NYU Impactor, with a drop of 10 grams from the height of 12.5 or 25 millimeters. Eighty Wistar rats were divided in eight groups of 10 animals. Group I: Height of 12.5mm, rhEPO in a 500IU/kg single dose; Group II: Height of 25mm, rhEPO in a 500 IU/kg single dose; Group III: Height of 12.5mm, rhEPO in two doses of 500 IU/kg; Group IV: Height of 25mm, rhEPO in two doses of 500 IU/kg; Group V: Height of 12.5mm, rhEPO in a single dose of 5,000 IU/kg; Group VI: Height of 25mm, rhEPO in single dose of 5,000 IU/kg; Group VII: Height of 12.5mm, rhEPO in two doses of 5,000 IU/kg; and Group VIII: Height of 25mm, rhEPO in two doses of 5,000 IU/kg. The rhEPO was administered intraperitoneally, and in the groups that received two doses, the interval between the doses was one week. The animals were followed up for 42 days. The neurological recovery was monitored through the scale of Basso, Beattie, and Bresnahan (BBB) and the “horizontal plane”. Quantitative and qualitative histological evaluations were performed after euthanasia. **RESULTS:** The results of the evaluations showed that there was an increase in the BBB score throughout the weeks in every group ($p < 0,05$). However, from the 4th week onwards, the groups with lesion 12.5mm and a single dose of 5,000 IU/kg, and the groups with 12.5mm and two doses of 5,000 IU/kg started to show a BBB score greater than the other groups ($p < 0,05$). In the 6th week, the groups with 12,5mm, independently of rhEPO dosage, showed greater BBB scores than the groups with 25mm lesion ($p < 0,05$). A similar pattern was also observed in the “horizontal plane” evaluation. In the 6th week, the groups that suffered from the 12.5mm drop and also received the greater dosage of rhEPO (5,000 IU/kg, both single and two doses) showed more steps than the other groups. There was no statistically significant difference when the rhEPO administration was repeated (two doses). The groups that suffered trauma of greater magnitude, the qualitative and quantitative histological changes were statistically greater than in the groups that suffered trauma of lesser magnitude. **CONCLUSION:** Animals that received a greater dose of rhEPO and suffered a minor energy trauma demonstrated better and faster neurological recovery. The recurrence of the same dosage of rhEPO one week after did not show benefit.

Keywords: Erythropoietin; Spinal cord injuries; Central nervous system/injuries; Rats.

1. INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O traumatismo raquimedular apresenta uma distribuição populacional global e possui prevalência sem grandes variações geográficas, principalmente nos grandes centros urbanos. É uma lesão complexa com consequências catastróficas para o paciente e familiares, além de gerar repercussões em vários aspectos da sociedade¹⁻². Entender o processo fisiopatológico que existe em torno da lesão traumática da medula espinal e buscar agentes de diferentes naturezas que possam neutralizar ou regredir dano ocorrido tem sido objeto de bastante estudo em todo o mundo. Ao longo deste esforço, muitos aspectos, antes obscuros, já estão elucidados. Entretanto, muitas perguntas ainda permanecem sem resposta e infelizmente ainda não está bem estabelecido nenhuma medida claramente eficaz no tratamento da lesão medular traumática aguda³. Os estudos experimentais e clínicos já realizados envolvem substâncias que atuam como agentes protetores e ou regenerativos do tecido neural durante a cascata de reações que é comum às várias doenças do sistema nervoso como: inflamação, estresse oxidativo, neuroplasticidade, apoptose, dentre outros⁴.

O dano ocorrido durante o processo traumático de lesão à medula espinal inclui mecanismos primários e secundários⁵⁻⁶. A lesão primária consiste da interrupção fisiológica e estrutural aguda dos axônios e é resultado do impacto sobre a medula espinal com conseqüente rompimento dos axônios e da microvascularização local, alterações eletrolíticas e edema. A conseqüência do estresse mecânico gerado pelo traumatismo inicial é a morte celular de natureza necrótica⁷. Já a lesão medular secundária surge imediatamente após a lesão primária, quando se inicia uma série de reações bioquímicas que podem durar de minutos a dias e tem potencial de aumentar a área lesionada envolvida levando ao maior dano neurológico. Embora a lesão imediata não possa ser evitada, a lesão secundária, de caráter apoptótico⁸, surgida no local da lesão e tecido adjacente pode responder ao tratamento farmacológico. Entretanto, até o momento, as opções terapêuticas serem restritas e os resultados ainda incertos.

O papel da eritropoetina como hormônio na produção e regulação de glóbulos vermelhos já está bem estabelecido na literatura há várias décadas, entretanto, a

descoberta de sua atuação como agente protetor nas lesões do sistema nervoso é relativamente recente e ocorreu de maneira inesperada. RNAm de eritropoetina foi encontrado em células do cérebro e estudos mostraram que esses aumentavam em situações de hipóxia⁹. Posteriormente, foi evidenciado que astrócitos e neurônios poderiam expressar eritropoetina em seus receptores¹⁰ e que esta possui efeito trófico em neurônios colinérgicos do sistema nervoso central¹¹. Classicamente, a barreira hematoencefálica é impermeável à passagem de moléculas maiores, entretanto já foi mostrado que determinadas moléculas maiores podem ser transportadas através do endotélio capilar¹²⁻¹⁴. Receptores para eritropoietina são expressos em neurônios e oligodendrócitos da substância branca e cinzenta de ratos submetidos à lesão da medula espinal¹⁵.

Acredita-se que o principal mecanismo de atuação da eritropoetina nas lesões da medula espinal seja a inibição da apoptose nos tecidos adjacentes à área do trauma¹⁶. Outros mecanismos envolvidos são: liberação de neurotransmissores¹⁷⁻¹⁸; modulação do óxido nítrico, o que proporciona manutenção da auto regulação vascular e previne a expansão da área de penumbra por micro infartos secundários a vasoespamos¹⁹; migração e modulação de células-tronco para reparo tecidual²⁰⁻²¹.

A descoberta destas novas atribuições instigou o desenvolvimento de pesquisas que buscassem espaço para o uso terapêutico da eritropoetina em lesões do tecido nervoso. A partir da evidência de estudos que mostram que a morte das células gliais e neurônios da medula espinal após lesões traumáticas ocorre por mecanismo apoptótico secundário, a inibição deste processo proporcionaria melhor recuperação neurológica^{16,22-27}.

A eritropoetina recombinante humana é uma glicoproteína produzida por tecnologia de DNA recombinante e possui a mesma sequência de aminoácidos e função biológica. É aproximadamente 80% homóloga à eritropoetina dos roedores se mostrou biologicamente ativa para funções eritróides e neurotróficas²⁸⁻²⁹. Isto permitiu a realização de ensaios experimentais envolvendo a ação da eritropoietina em lesões isquêmicas e traumáticas da medula espinal. Na grande maioria dos estudos, foi confirmado seu efeito neuroprotetor, sendo observado melhores

resultados funcionais e histológicos nos animais submetidos ao tratamento com eritropoietina quando comparado a grupos controles com outras substâncias e solução placebo³⁰⁻³³.

Sabe-se que a curva de dose-resposta de citoproteção da eritropoietina apresenta padrão semelhante às citocinas em geral, indicando que muitas vezes, uma dose mais elevada, não resultará em efeito superior^{19,25,34}. No entanto, há ainda muitas variáveis que precisam ser melhor avaliadas e perguntas a serem respondidas. É necessário investigar variações como momento ideal para iniciar a administração, dose adequada, duração do tratamento, energia do trauma sofrido, dentre outras. O presente estudo tem o intuito de pesquisar os efeitos da ação da eritropoietina no resultado neurológico e histológico em diferentes doses e magnitudes de trauma medular experimental sofrido em ratos, contribuindo para um melhor entendimento e possível uso desta substância nesta lesão.

2. OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Avaliar os efeitos da ação da eritropoetina no processo de regeneração nervosa em diferentes doses e em diferentes magnitudes de trauma, utilizando para isso o NYU IMPACTOR, um modelo padronizado e reprodutível de lesão contusa da medula espinal em ratos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Eritropoetina

Em 1906, **Paul Carnot**, um professor de medicina na França, e sua assistente, Clotilde Deflandre, propuseram a teoria de que a produção de glóbulos vermelhos do sangue era regulada por hormônios³⁵. Após a realização de experimentos em coelhos submetidos a sangria, os pesquisadores atribuíram o aumento das células vermelhas do sangue desses coelhos a um fator humoral chamado hemopoietina. Nas décadas seguintes, vários pesquisadores reproduziram a teoria proposta por Carnot e Deflandre. Dentre os estudos experimentais publicados, destacaram-se os trabalhos de **Hjort**³⁶, **Krumdieck**³⁷ e **Erslev**³⁸.

Em 1948, **Javalisto e Bonsdorff**³⁹, trabalharam em experimentos com coelhos, utilizam pela primeira vez o termo eritropoetina para a substância estimuladora da produção de glóbulos vermelhos, até então chamada de hemopoetina.

Em 1950, **Reissmann**⁴⁰, trabalhou em ensaio experimental com ratos conectados por procedimento cirúrgico, evidenciou que quando um dos ratos sofria hipóxia, o outro animal a ele conectado apresentava aumento na concentração de reticulócitos. O achado fortaleceu a teoria de um mecanismo humoral.

Em 1961, os trabalhos de **Fisher e Birdwell**⁴¹ e **Kuratowska et al.**⁴² identificaram o rim como a fonte produtora de eritropoetina.

Em 1977, **Zanjani et al.**⁴³ observaram que fetos de ovelhas produziam quantidades significativas de eritropoetina em resposta à hemorragia. Nefrectomia bilateral antes da hemorragia falhou em influenciar a formação de eritropoietina. A remoção do baço, em adição aos rins, também não provocou o efeito. Hepatectomia subtotal antes de sangramento, no entanto, inibiu a formação do

hormônio nos fetos. Perfusão *in situ* do fígado, mas não do rim, resultou no aparecimento de quantidades significativas do hormônio. Esses resultados sugeriram que o fígado é o principal local da produção de eritropoetina em fetos de mamíferos.

Em 1985, **Lin et al.**⁴⁴ reportaram sobre experimento realizado com ovários de hamsters e conseguiram isolar o gene da eritropoetina a partir de uma biblioteca de fago genômico. Eritropoetina biologicamente ativa foi sintetizada a partir da introdução de seu gene nos ovários dos animais.

Em 1987, **Eschbach et al.**⁴⁵ publicaram estudo clínico avaliando o uso da eritropoetina humana recombinante em 25 pacientes anêmicos com doença renal em estágio final. A eritropoetina humana recombinante foi administrada por via intravenosa três vezes por semana após a diálise. Não foram observadas disfunção de órgão ou outros efeitos tóxicos e anticorpos contra o hormônio recombinante não foram formados. Os resultados demonstraram que a eritropoetina humana recombinante é eficaz, pode eliminar a infecção e a necessidade de transfusões, com os seus riscos de sensibilização imunológica e a sobrecarga de ferro, podendo restaurar o hematócrito normal em muitos pacientes com anemia por doença renal em fase terminal.

Em 1991, **Koury et al.**⁴⁶ publicaram artigo sobre estudo realizado em ratos que consolida o papel hepático como fonte secundária da produção de eritropoetina. Seus resultados demonstraram que os hepatócitos são responsáveis pela produção de eritropoetina em ambos os ratos, transgênicos e não transgênicos, e que um segundo tipo de célula com morfologia semelhante às células intersticiais no rim também produz eritropoetina nos fígados dos ratos não transgênicos.

3.2 Eritropoetina como agente neuroprotetor

Em 2000, **Brines et al.**²⁶ publicaram ensaio experimental demonstrando função adicional da eritropoetina (EPO), além do reconhecido papel central na eritropoiese. A EPO também mediou a neuroproteção. Quando a forma recombinante da eritropoetina (EPOrh) foi administrada no cérebro de ratos portadores de lesão isquêmica, foi evidenciada expressão substancial do receptor da EPO em capilares cerebrais, o que pôde proporcionar uma via para a circulação de EPO com sua entrada no cérebro. Para confirmação dessa hipótese, a administração sistêmica de EPOrh antes ou até seis horas após a isquemia cerebral diminuiu a área da lesão em cerca de 50-75%. EPOrh também melhorou o grau de lesão de concussão cerebral e o dano imune em encefalomielite auto-imune experimental. Os autores sugeriram ainda que, devido ao excelente perfil de segurança da EPOrh, ensaios clínicos deveriam ser realizados para avaliar sua função como agente neuroprotetor.

Em 2001, **Dame et al.**⁴⁷ estudaram fetos humanos, sugeriram que a EPO e seus receptores são expressos por neurônios e células gliais da medula espinal, podendo a EPO exercer efeitos neuroprotetores semelhantes em isquemia medular.

Em 2002, **Celik et al.**³⁰ publicaram modelo de isquemia espinal global transitória em coelhos para testar se a EPO exógena podia atravessar a barreira sangue-medula espinal e proteger seus neurônios motores. Isquemia medular foi produzida em coelhos por oclusão da aorta abdominal durante 20 minutos seguida da injeção de EPOrh em várias doses ou de solução salina. A avaliação neurológica funcional dos animais foi melhor para os animais tratados com EPOrh 1 h após a recuperação anestésica e melhorou dramaticamente ao longo das próximas 48 h. Em contraste, os animais tratados com solução salina apresentaram pontuação neurológica menor em 1 hora e não houve melhora significativa. A análise histopatológica da medula espinal afetada revelou lesão generalizada dos neurônios motores. Essas observações sugeriram uma ação benéfica da EPOrh

em lesões medulares isquêmicas, agudas e tardias. Devido ao seu excelente perfil de segurança, os autores orientaram ainda a realização de ensaios clínicos com EPOrh para avaliação do seu potencial de prevenção de apoptose neuronal e prevenção de déficits neurológicos que ocorrem como consequência da lesão isquêmica.

Ainda em 2002, **Gorio et al.**³¹ realizaram ensaio experimental para avaliar a função neuroprotetora e anti-inflamatória da EPO na recuperação após lesão traumática da medula espinal. O estudo foi constituído de dois modelos. No primeiro modelo, uma compressão moderada de 0,6 N foi produzida por aplicação de um grampo de aneurisma ao nível de T3 durante 1 minuto. EPOrh (1.000 UI/kg) administrada imediatamente após a liberação da compressão foi associada com recuperação parcial da função motora dentro de 12 h após a lesão e praticamente completa no 28º dia. Em contraste, os animais tratados com solução salina apresentaram recuperação neurológica consideravelmente menor. No segundo modelo utilizado, EPOrh (5.000 UI/kg) foi administrada em dose única, 1 h após a lesão. Também foi constatada recuperação neurológica superior comparada aos grupos controles tratados com solução salina após uma contusão de 1 N ao nível de T9. No segundo modelo de lesão da medula espinal (trauma mais grave), a inflamação secundária também foi marcadamente diminuída pela administração de EPOrh. Os autores propuseram que a EPOrh promove recuperação rápida da função neurológica após isquemia da medula espinal. Defenderam uma função neuroprotetora, anti-inflamatória e anti apoptótica para o hormônio.

Em 2004, **Kaptanoglu et al.**³³ baseados na importância que a peroxidação lipídica possui na fisiopatologia das lesões medulares traumáticas e na atividade neurotrófica da EPO no SNC, desenvolveram ensaio experimental com ratos. Os animais sofreram lesão medular contusa de 50 g.cm, sendo divididos em sete grupos de acordo com a terapêutica recebida: grupo controle – apenas laminectomia sem trauma; grupo trauma – lesão medular sem qualquer medicamento; grupo MP – metilprednisolona na dose de 30 mg/kg; grupo placebo – apenas solução-veículo contendo albumina de soro humano, que é um solvente da EPO. Os grupos 5, 6 e 7 receberam EPO em dose única nas dosagens de 100, 1000 e 500 UI/kg, respectivamente. Os resultados mostraram que a peroxidação

aumentou após a lesão. A administração de EPO e metilprednisolona reduziu a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico após o trauma. Os melhores resultados bioquímicos foram obtidos com 5.000 UI/kg de EPO. Microscopia eletrônica mostrou que a EPO protegeu a medula espinal de lesão. Embora 1.000 UI/kg e 5.000 UI/kg de EPO inibam a peroxidação lipídica melhor do que a metilprednisolona, a neuroproteção ultra estrutural foi semelhante.

Em 2006, **Arishima et al.**¹⁵ com o objetivo de avaliar o efeito anti apoptótico da EPO após lesão medular traumática, realizaram ensaio experimental em ratos. Realizam análise histológica e imunoistoquímica, sendo que os resultados confirmaram o efeito anti apoptótico da EPO. O tratamento com EPO diminuiu significativamente a quantidade de neurônios apoptóticos após lesão medular em ratos. Este efeito foi observado até 7 dias após a lesão. Os autores sugeriram que a EPO exógena reduz o número de células apoptóticas observadas entre as fases muito precoces e subcrônicas seguintes.

Em 2012, **Cerri et al.**⁴⁸ baseados nos resultados de trabalhos prévios que mostraram uma recuperação superior na escala locomotora BBB em ratos que receberam EPOrh após lesão medular, realizaram ensaio experimental com o objetivo de avaliar o exame eletrofisiológico em modelos de lesão medular contusa após administração de EPO. Foi analisada a transmissão das vias ascendentes e descendentes em toda a medula nos dias 2, 5, 7, 11 e 30 após a lesão, no grupo tratado com EPOrh e no grupo controle tratado com solução salina. Os animais tratados com EPOrh mostraram uma recuperação superior na transmissão sensorial e motora, o que pode ter como consequência uma melhora na avaliação de escala locomotora, conforme demonstrado nos estudos anteriores.

Em 2015, **Freitag et al.**⁴⁹ avaliaram, através da ressonância magnética reforçada com manganês, a terapia com EPO após lesão medular em ratos. Os animais foram divididos em dois grupos, um grupo tratado com EPO e um grupo controle. Laminectomia foi realizada ao nível de T11, seguida de lesão medular contusa. Ressonância magnética reforçada com manganês da cisterna magna foi realizada e a recuperação funcional foi avaliada pela escala BBB. Em seguida, os ratos foram sacrificados e a medula espinal foi extraída para realização de nova

ressonância magnética. Os animais tratados com EPO mostraram recuperação funcional significativamente melhor e média mais elevada de alterações na ressonância magnética comparados ao grupo controle. Os autores concluíram que a ressonância magnética reforçada com manganês descreve com êxito o efeito terapêutico de EPO na fase precoce da lesão medular, o que leva a uma recuperação importante em ratos, uma resposta imunológica significativamente diminuída e redução do número de células apoptóticas no local da lesão.

Em 2016, **Mesquita Coutinho et al.**⁵⁰ avaliaram os efeitos farmacológicos da EPO e do tacrolimo (FK 506) no tratamento da lesão medular. Nesse estudo experimental, 60 ratos Wistar foram submetidos a lesão contusa da medula espinal produzida pelo sistema NYU Impactor. Os animais foram divididos em cinco grupos, sendo: grupo controle, que recebeu sorofisiológico; EPO, que recebeu eritropoetina; EPO + FK 506, que recebeu EPO associada ao tacrolimo; e o FK 506, que recebeu somente tacrolimo. O grupo Sham foi submetido a lesão medular, porém, não recebeu qualquer droga. Os animais foram avaliados quanto à recuperação da função locomotora pela escala BBB. Foi realizada avaliação eletrofisiológica e análise dos achados histológicos da medula lesionada. O estudo não revelou diferenças na recuperação da função locomotora, nas análises histológica e eletrofisiológica nos animais submetidos ao tratamento farmacológicos com EPO e com tacrolimo, após contusão medular torácica.

Também em 2016, **Marcon et al.**⁵¹ publicaram ensaio experimental desenvolvido com 50 ratos Wistar submetidos a lesão medular contusa. Após o trauma, os animais foram divididos em cinco grupos de acordo com a droga recebida: EPO, gangliosídeo GM-1, solução combinada, placebo e *sham*. Os autores concluíram que a EPO e o GM-1 exercem efeitos terapêuticos sobre a regeneração axonal, função motora e eletrofisiológica e que a administração dessas substâncias de maneira combinada potencializa esses efeitos.

Ainda em 2016, **Caliskan et al.**⁵² compararam os efeitos preventivos do etanercepte, etomidato e EPO, administrados de maneira isolada ou combinados, na lesão medular isquêmica em ratos. Foram analisados parâmetros clínicos, histopatológicos, eletrofisiológicos e bioquímicos. Os animais foram divididos em

oito grupos. Após a LME, as drogas foram administradas por via intraperitoneal ou subcutânea. Os grupos com etomidato mostraram efeito menor na lesão medular do que os grupos contendo EPO e etanercepte em termos clínicos, eletrofisiológicos e bioquímicos. A eficácia neuroprotetora da EPO e etanercepte foi demonstrada isoladamente ou em tratamentos combinados. Resultados mais significativos foram obtidos com o uso da combinação EPO e etanercepte do que com uso da EPO isoladamente. Entretanto, os autores sugeriram que mais trabalhos experimentais são necessários antes de estudos clínicos.

Em 2016, **Kökoğlu et al.**⁵³ investigaram a eficácia do tratamento com EPO e tadalafila na LME experimental em ratos. Foi realizada apenas a análise bioquímica de 35 ratos Sprague Dawley, sendo todos os animais sacrificados 48 horas após a administração das drogas. Os valores de malonaldeído e capacidade antioxidante total foram avaliados em amostras de sangue e tecidos. Os valores mais baixos de malonaldeído sérico e tecidual foram encontrados no grupo com ingestão de EPO. Enquanto os valores séricos de capacidade antioxidante total mais altos de todos os grupos foram observados no grupo tadalafila, os valores mais altos de capacidade antioxidante total tecidual foram observados no grupo que recebeu EPO. Os autores concluíram que, ao diminuir o estresse oxidativo, a tadalafila e a EPO podem inibir o dano secundário na LME.

Em 2017, **Ozkunt et al.**⁵⁴ investigaram a expressão do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)- β e da proteína glial fibrilar ácida (GFAP) em ratos com lesão medular como marcador de recuperação neurológica entre grupos tratados com eritropoetina (EPO) e metilprednisolona (MP). Trinta ratas adultas sofreram lesão isquêmica e foram aleatoriamente divididas em três grupos. O grupo 1 recebeu administração intratecal única de solução salina, o grupo 2 recebeu MP e o grupo 3 recebeu EPO. A função neurológica motora foi avaliada pela escala BBB. Trinta dias após a cirurgia, segmentos da medula espinal foram ressecados e a análise imuno-histoquímica mostrou que o número de células positivas para PDGF- β e GFAP foi significativamente maior no grupo EPO quando comparado aos demais grupos. Ao avaliar o efeito da expressão de PDGF- β na função locomotora, observou-se que a expressão de PDGF- β e a função locomotora tem forte relação após LME. Os autores defenderam que EPO parece

aumentar melhor a expressão de PDGF- β , portanto, produzir melhores resultados nas funções locomotoras quando comparada à MP.

Em 2018, **Cohrs et al.**⁵⁵ investigaram os cursos de tempo e os padrões espaciais e celulares da expressão de EPO e receptor de eritropoetina (EPOr) ao longo do eixo espinal após LM graduada. Ratos Long-Evans machos receberam contusões torácicas de 100 kdyn, 150 kdyn e 200 kdyn ao nível de T9. Análises imuno-histoquímicas anatômicas e quantitativas da expressão de EPOr/EPO ao longo de todo o eixo espinal foram realizadas com 7, 15 e 42 dias após a lesão. A expressão prolongada de EPOr/EPO foi confirmada por reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa em tempo real. As imunorreatividades quantificadas de EPOr/EPO em regiões da medula espinal relacionadas à dor e substância branca ventrolateral foram correlacionadas com os limiares de sensibilidade mecânica e função locomotora dos respectivos animais. EPOr e EPO foram expressos constitutivamente nos neurônios do corno ventral e células vasculares e gliais nas colunas dorsais e substância branca. Após a lesão medular, além da expressão no núcleo da lesão, as imunorreatividades de EPOr/EPO exibiram indução significativa dependente do tempo e do grau da lesão ao longo do eixo espinal. Células imunorreativas a EPOr e EPO foram co-marcadas com marcadores astrogliais, células precursoras neurais e marcadores vasculares. A LME levou à indução multicelular duradoura de EPOr/EPO além do núcleo da lesão, nas regiões da medula espinal que estão envolvidas no desenvolvimento da dor central e nos processos regenerativos. Os autores defenderam que o estudo forneceu um período de tempo para investigar os efeitos da aplicação de EPO na função motora ou no desenvolvimento da dor.

Em 2018, **Zhang et al.**⁵⁶ investigaram os efeitos da EPO em células-tronco neurais endógenas na medula espinal adulta in vitro e in vivo. Para as análises in vivo, ratos normais e ratos após sofrerem contusão medular receberam EPOrh (5.000 UI/kg), ou tratamento salino por 7 dias e as medulas espinais foram subsequentemente analisadas em 2, 8 e 14 dias. Para análise in vitro, células-tronco neurais colhidas de medula espinal de ratos adultos foram expostas a EPO (10 UI/ml). Um aumento significativo em novos neurônios β -tubulina+ foi observado em todos os três momentos de tempo e novos oligodendrócitos O4+ nos dias 8 e

14 no grupo EPO em comparação com o grupo controle. Isso foi concomitante a uma ativação prolongada da sinalização da EPO. No entanto, nenhum efeito sobre a proliferação de células-tronco neurais foi observado. Resultados semelhantes também foram obtidos in vitro. A recuperação funcional motora também foi observada nos dias 8 e 14 apenas nos ratos tratados com EPO. Embora a expressão de EPO e EPOr tenha aumentado significativamente em ratos normais que receberam EPO em comparação com ratos normais que receberam solução salina, o número de células e o fenótipo foram comparáveis entre os dois grupos. Os autores afirmaram que este foi o primeiro estudo a demonstrar que a sinalização da EPO promove tanto a neurogênese quanto a oligodendrogênese após a LME e que estes podem representar os mecanismos subjacentes para a recuperação funcional e os efeitos terapêuticos da EPO após LME.

Em 2018, **Hong et al.**⁵⁷ investigaram os mecanismos moleculares subjacentes e a janela terapêutica para prevenir a astrogliose no tratamento com EPO após LME in vitro. Astrócitos cultivados da medula espinal de ratos foram tratados com cainato e raspagem para gerar um modelo in vitro de LME. EPO (100U/mL ou 300U/mL) foi adicionada imediatamente ou 2, 4 ou 8 horas após a lesão. Algumas culturas também foram tratadas com AG490, um inibidor do mediador da via do receptor EPO-EPO (EpoR) Janus quinase 2 (JAK2). Para avaliar a extensão da neurite, neurônios embrionários da medula espinal de rato foram semeados em culturas de astrócitos e tratados com EPO imediatamente após a lesão na presença ou ausência de anticorpo anti-EpoR. O tratamento com EPO até 8 horas após a lesão reduziu a expressão de moléculas inibidoras do crescimento axonal, proteínas reguladoras do citoesqueleto e citocinas pró-inflamatórias de maneira dependente da dose. A maioria dos efeitos atingiu o pico com o tratamento com EPO de 2 a 4 horas após a lesão. Além disso, o tratamento com EPO até 4 horas após a lesão promoveu duas vezes mais a expressão de EPOr e três vezes mais JAK2 de maneira dose-dependente. Os autores concluíram que o tratamento com EPO nas primeiras 8 horas após a lesão reduziu a astrogliose e o tratamento com EPO dentro de 4 horas promoveu crescimento de neurites e a terapia com EPO imediatamente após a lesão da medula espinal pode regular a glia para gerar um ambiente permissivo à regeneração axonal

Ainda em 2018, **Hong et al.**⁵⁷ investigaram se os efeitos neuroprotetores da EPO na LM são mediados por autofagia através da via de sinalização da proteína quinase ativada por AMP (AMPK). A avaliação funcional e a coloração de Nissl foram usadas para estudar os efeitos da EPO na LM. Expressões de proteínas foram detectadas por Western blot e imuno-histoquímica. Os resultados do estudo mostraram que tratamento com EPO reduziu significativamente a perda de neurônios motores e melhorou a recuperação funcional após a lesão medular. A eritropoietina melhorou significativamente a autofagia através da ativação de AMPK e inativação da sinalização mTOR. Nos estudos in vitro, a EPO aumentou a autofagia induzida por hipóxia de maneira dependente de AMPK. Os autores concluíram que a indução de autofagia dependente de AMPK contribui para a neuroproteção da EPO na LM.

Em 2019, **Barros et al.**⁵⁸ avaliaram o efeito da interleucina 6 (IL-6) e EPO na lesão medular aguda experimental em ratos. Foram utilizados 50 ratos da linhagem Wistar, divididos em cinco grupos de 10 animais. O grupo EPO, ratos tratados com EPO; grupo EPO/IL-6, animais tratados com EPO e IL-6; grupo IL-6, administração de IL-6; grupo placebo, solução placebo; grupo Sham, procedimento *sham* (apenas laminectomia, sem lesão medular). Todas as drogas e soro fisiológico foram administrados por via intraperitoneal, durante três semanas. Os animais foram acompanhados por 42 dias. Os resultados das avaliações da escala BBB mostraram recuperação funcional motora superior no grupo que recebeu EPO. A administração de IL-6 isolada não mostrou benefícios em relação ao grupo que recebeu solução placebo e a associação de IL-6 com EPO mostrou resultados inferiores ao grupo que recebeu apenas EPO.

Também em 2019, **Zhou et al.**⁵⁹ investigaram os efeitos da oxigenoterapia hiperbárica (OHB) e EPO na LME e os mecanismos que fundamentam seus benefícios terapêuticos. Sessenta ratos Sprague-Dawley fêmeas foram aleatoriamente divididos em grupos de 12 ratos recebendo placebo, LME, OHB, EPO ou OHB mais EPO. A OHB foi realizada durante 1 hora por dia durante um total de 21 dias, e a EPO foi administrada uma vez por semana durante um total de 3 semanas. A função locomotora foi avaliada com a Escala BBB, um teste de plano inclinado e uma análise da pegada. Todos os genes foram detectados por

Western blotting e imuno-histoquímica. O nível de apoptose celular foi determinado por coloração Hoechst. Os resultados mostraram que OHB e EPO promoveram a recuperação da função locomotora nos membros posteriores de ratos, inibindo a apoptose de neurônios. Nesse período, a expressão da proteína Bcl-2 aumentou significativamente, enquanto a expressão da proteína X associada a Bcl-2 (Bax) e da caspase 3 clivada diminuiu significativamente, indicando a inibição da apoptose. Enquanto isso, a expressão do receptor 17 acoplado à proteína G diminuiu e a expressão da proteína básica da mielina aumentou, sugerindo que pode haver uma conexão potencial entre desmielinização e apoptose neuronal. Os autores concluíram que a OHB e EPO são benéficas para LME, especialmente quando as duas terapias são combinadas.

Ainda em 2019, **Tanaka et al.**⁶⁰ avaliaram o efeito da EPO na mielopatia cervical induzida por compressão da medula espinal em ratos e a possibilidade de seu uso como tratamento farmacológico. Um polímero expansível foi implantado sob as lâminas C5 e C6 e a administração de EPO foi iniciada 8 semanas após a implantação do dispositivo. A função motora e a força de preensão foram medidas após a cirurgia. Os neurônios motores foram avaliados com coloração por HE, NeuN e colina acetiltransferase. Foram investigados: a morte celular apoptótica, proteção e plasticidade dos axônios e a lesão axonal. Para avaliar a transferência de EPO para o tecido da medula espinal, os níveis teciduais de EPO foram medidos por ELISA para cada grupo após injeção subcutânea. Os autores afirmaram que a EPO melhorou a função motora em ratos com mielopatia cervical induzida por compressão. A EPO suprimiu a apoptose das células neuronais, protegeu os neurônios motores e induziu proteção e plasticidade axonal. Os efeitos neuroprotetores foram produzidos após a transferência de EPO para o tecido da medula espinal. Sugeriram ainda que a EPO tem alto potencial como tratamento para mielopatia cervical degenerativa.

Em 2020, **Zhong et al.**⁶¹ investigaram os mecanismos moleculares neuroprotetores da EPO após LME em ratos. As colorações de H&E, Nissl e TUNEL foram realizadas para avaliar a proporção de cavidades, número de neurônios motores e células apoptóticas na área lesionada. As expressões relativas de proteína e mRNA foram examinadas usando análises de western blot

e qRT-PCR, e os marcadores inflamatórios, proteína especial do axônio e junções neuromusculares foram detectados por imunofluorescência. Ambas as doses de EPO melhoraram notavelmente a função locomotora, mas a EPO em alta dose foi mais eficaz do que a EPO de baixa dose. Adicionalmente, a EPO reduziu a proporção de cavidades, a apoptose celular e a perda de neurônios motores na área danificada, porém aumentou o nível de autofagia e a atividade da proteína quinase regulada extracelularmente (ERK). O tratamento com um inibidor de ERK preveniu significativamente o efeito da EPO na LME, e um ativador imitou os benefícios da EPO. Os autores concluíram que a EPO ativa a autofagia para promover a recuperação da função locomotora em ratos com LME através da via de sinalização ERK.

Em 2021, **Rink et al.**⁶² investigaram se o tratamento combinado de fisioterapia vibratória de corpo inteiro e EPO melhoraria ainda mais as funções motora, sensorial e vegetativa após a lesão medular em ratos. A avaliação da sensibilidade do desempenho motor e da função da bexiga não revelou efeitos significativos da EPO quando comparada aos tratamentos de controle. O tratamento com EPO não reduziu o volume da lesão nem aumentou o número de axônios.

Em 2021, **Gholami et al.**⁶³ fabricaram um hidrogel de eritropoetina-quitosana/alginato (EPO-CH/AL) e investigaram seus efeitos terapêuticos locais nos índices apoptóticos e inflamatórios na lesão secundária da medula espinal. O perfil de liberação de drogas in vitro de hidrogéis de EPO-CH/AL foi avaliado por espectroscopia. A LME experimental foi infligida em ratos que foram então tratados com hidrogéis CH/AL contendo diferentes doses de EPO (1000, 5000 e 10.000 UI/kg). A expressão relativa de Bax e Bcl2 (índice de apoptose) e formas ativas e inativas de NF- κ B (índice de inflamação) foram avaliadas por western blot. Os níveis séricos totais de TNF- α também foram avaliados por ELISA e estudos histopatológicos e imuno-histoquímicos foram realizados para verificar as alterações globais nos tecidos lesados. Todos os hidrogéis fabricados reduziram drasticamente os índices elevados de inflamação e apoptose. No entanto, apenas o hidrogel EPO-CH/AL (1000 UI/kg EPO) melhorou significativamente o reparo tecidual e a aparência histopatológica da medula espinal nos locais de lesão. Os autores concluíram que o hidrogel EPO-CH/AL (1000 UI/kg EPO) pode

efetivamente melhorar o desfecho na LME experimental em ratos através da inibição do apoptose e inflamação e que mais estudos eram necessários para elucidar os efeitos observados.

Em 2022, **He et al.**⁶⁴ realizaram análise genética ampla e de RNAs longos não codificantes para identificar novos alvos para o estudo adicional do tratamento com EPOrh na LME aguda em ratos. Nove ratos foram divididos aleatoriamente em 3 grupos. Nenhuma operação foi realizada no grupo 1. Nos grupos 2 e 3, uma laminectomia foi realizada na 10^a vértebra torácica e uma lesão contusa foi induzida pela aplicação extradural de um clipe de aneurisma. Os ratos do grupo 1 não receberam nenhum tratamento, os ratos do grupo 2 receberam uma única injeção intraperitoneal de solução salina normal e os ratos do grupo 3 receberam EPOrh. Três dias após a lesão, os tecidos da medula espinal foram coletados para análise. Os autores concluíram que o tratamento com EPOrh alterou os perfis de expressão dos RNAs longos não codificantes expressos diferencialmente e genes benéficos para o desenvolvimento de novos tratamentos.

Também em 2022, **Torelli et al.**⁶⁵ avaliaram os efeitos funcionais e imuno-histoquímicas do gangliosídeo GM1 e da eritropoetina após lesão medular experimental. Trinta e dois camundongos foram submetidos a lesão medular experimental usando o dispositivo NYU Impactor e foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos: grupo GM1, recebendo gangliosídeo padrão GM1 (30 mg/kg); grupo eritropoetina, recebendo eritropoetina (1000 UI/kg); grupo combinado, recebendo ambas as drogas; e grupo controle, recebendo soro fisiológico (0,9%). Os animais foram avaliados de acordo com a Basso Mouse Scale (BMS) e Hindlimb Mouse Function Score (MFS). Após a eutanásia, foi analisada a imuno-histoquímica do tecido medular dos camundongos. Os resultados mostraram que a eritropoetina e o GM1 têm efeitos terapêuticos na regeneração axonal em camundongos submetidos a lesão experimental da medula espinal e a administração de GM1 sozinho teve as pontuações mais altas nas escalas BMS e MFS.

3.3 Lesão medular: modelos experimentais e estudos clínicos

O primeiro modelo experimental de lesão de medular em animais foi desenvolvido e publicado por **Allen em 1911**⁶⁶. Os animais utilizados pelo pesquisador foram cães, os quais foram submetidos a lesão medular contusa por queda de peso em nível torácico. A unidade estabelecida para a lesão foi determinada pelo produto da massa do peso em gramas e pela distância do peso à medula espinal em centímetros, g x cm. Estudo experimental do mesmo autor, publicado em 1914⁶⁷, correlaciona a massa do peso com a gravidade da lesão medular sofrida pelo animal e observa os achados histopatológicos de edema e hemorragia surgidos na substância branca e cinzenta minutos após o trauma. O autor ainda sugere que a realização de mielotomia pode trazer benefícios pela redução da pressão intramedular.

Em 1923, **McVeigh**⁶⁸ publicou seu estudo sobre lesão medular através de compressão digital, também em nível torácico, em animais e cadáveres humanos frescos. Evidenciou a presença de achados histopatológicos de edema e hemorragia nas substâncias branca e cinzenta, não só na área que sofreu a lesão, mas também em áreas proximais. Observou o caráter progressivo da lesão, com surgimento de alterações até o segundo dia.

Estudo publicado por **Tarlov et al.**⁶⁹, em 1953, utilizaram um modelo experimental diferente dos anteriores. Após realização de laminectomia ao nível de T12, foi realizada uma compressão medular progressiva através da colocação de um balão que foi inflado no espaço epidural. O autor também apresentou um modelo de avaliação da função locomotora nos animais lesados e correlacionou o maior tempo de compressão medular com pior prognóstico motor.

Em 1956, **Woodard e Freeman**⁷⁰ utilizaram um modelo experimental de lesão medular isquêmica não traumática em cães. Em seu estudo, os vasos nutridores da medula espinal foram ligados do nível de T6 até o nível de T11. Após o sacrifício

dos animais e realização de análise histológica, foram evidenciados perda de neurônios, separação dos elementos neurais intersticiais e cavitação.

Em 1969, **Ducker e Hamit**⁷¹ desenvolveram estudo experimental com cães, dividindo os animais em quatro grupos de acordo com os métodos, físicos ou químicos, utilizados no tratamento da lesão medular, em modelo também provocado por queda de peso na porção torácica da medula espinal. Os autores utilizaram a escala de avaliação motora proposta por Tarlov et al.⁶⁹(69) e concluíram que os grupos que foram tratados com hipotermia e dexametasona intramuscular obtiveram melhor resultado neurológico.

Em 1971, **Ducker et al.**⁷² realizaram ensaio experimental prospectivo randomizado, desta vez com macacos. Os animais foram divididos em grupos de acordo com a massa e a distância que o peso caiu sobre a transição toracolombar da medula. Os animais foram submetidos à eutanásia em diferentes momentos sendo, então, feita a avaliação histológica medular. Os autores observaram que alterações como edema, hemorragia e necrose foram diretamente proporcionais à massa e à distância do trauma sofrido. Concluíram que a lesão aguda era mais localizada na porção central que na porção periférica da medula espinal, sendo a substância cinzenta mais suscetível à lesão traumática que a substância branca, embora não tenham conseguido determinar o motivo.

Em 1970, **Holdsworth**⁷³ escreveu estudo de extrema importância prática sobre fraturas vertebrais e lesões medulares. O autor classificou as fraturas da coluna vertebral de acordo com o mecanismo de trauma, padrões radiográficos e a presença de déficit neurológico. Também fortaleceu o conceito de lesão medular completa e incompleta, de acordo com a preservação de sensibilidade sacral e função motora nos segmentos distais à lesão traumática neste último padrão de lesão.

Em 1971, **Wagner Jr. et al.**⁷⁴ publicaram ensaio experimental utilizando macacos- rhesus como cobaias que foram submetidas a uma lesão medular contusa, preestabelecida, ao nível de T10, por queda de peso de 20 g localizado a uma distância de 15 cm do saco dural. A análise histológica da medula espinal foi

realizada em cinco períodos de tempo diferentes (5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora e 4 horas) após o trauma. O estudo teve importância por enfatizar o caráter progressivo das alterações histopatológicas encontradas na medula espinal. No grupo examinado cinco minutos após a lesão, não foram visualizadas alterações importantes, apenas fluidos serosos sem formação de trombos e a microvasculatura encontrava-se intacta. Já nos grupos examinados uma hora e quatro horas após o trauma, foi encontrada hemorragia crescente, envolvendo tanto a substância branca quanto a substância cinzenta da medula espinal.

Em 1972, **Kelly Jr. et al.**⁷⁵ publicaram ensaio experimental com cães, dividindo as cobaias em quatro grupos, e observam que a concentração de oxigênio estava diminuída na medula espinal 30 minutos após a lesão e que a utilização de oxigênio hiperbárico pode aumentar a pressão parcial de oxigênio (PO₂) no tecido neural lesionado.

Em 1976, **Wagner et al.**⁷⁴ publicaram artigo com ensaio realizado em gatos. Todos os animais foram submetidos a lesão medular contusa em nível torácico por um trauma preestabelecido de 400 g.cm. Os gatos foram divididos em cinco grupos de acordo com a combinação dos valores de peso e altura (80 g x 5 cm, 40 g x 10 cm, 20 g x 20 cm, 10 g x 40 cm e 5 x 80 cm), mas sempre com o mesmo produto final de 400 g.cm. Os autores encontraram que a energia absorvida podia variar em até 100 vezes de um grupo para o outro.

Em 1978, **Balentine**⁷⁶ aplicou o modelo de lesão medular contusa por queda de peso na região torácica alta de ratos adultos. O autor confirmou o caráter crescente da necrose tecidual, inicialmente localizada na substância cinzenta, com posterior progressão para a substância branca da medula espinal. Afirmou ainda que a necrose surge 30 minutos após a ruptura de vasos sanguíneos arteriais e venosos, finalizando-se 8 a 24 horas após a lesão.

No mesmo ano de 1978, **Ducker et al.**⁷⁷, estudaram cães após sofrerem lesão medular traumática, mensuram a concentração tecidual de oxigênio e afirmam que as medidas terapêuticas deveriam ter por finalidade melhorar a concentração de oxigênio e o aporte sanguíneo para a medula espinal.

Em 1979, **Tator e Rowed**⁷⁸, estudaram o fluxo sanguíneo após a lesão medular grave em ratos e defenderam que na maioria das lesões completas e incompletas não ocorria transecção medular. Enfatizaram a existência de uma lesão medular secundária e propuseram que o tratamento da fase aguda deveria visar a interrupção da morte celular secundária. Descreveram os padrões histológicos de lesão vascular na substância cinzenta e branca. Defenderam que os corticosteroides têm papel importante na interrupção da resposta inflamatória secundária patológica.

Em 1981, **Means et al.**⁷⁹ publicaram ensaio experimental realizado em gatos que sofreram lesão medular e receberam metilprednisolona durante a fase aguda do traumatismo. Os autores defenderam os benefícios deste corticosteroide na recuperação neurológica dos animais. Também evidenciaram que o surgimento de cavidades maiores estava relacionado a um pior prognóstico motor.

Em 1982, **Anderson et al.**⁸⁰ publicaram ensaio experimental realizado com gatos submetidos a lesão medular contusa por queda de peso. Os animais foram divididos em três grupos de acordo com a terapêutica administrada. O grupo controle não recebeu qualquer tratamento medicamentoso, um segundo grupo recebeu uma baixa dose (15 mg/kg/24 h) de metilprednisolona e um terceiro grupo recebeu uma alta dose (60 mg/kg/24 h) de metilprednisolona. Os autores concluíram que o grupo que recebeu as maiores doses do corticosteroide permaneceu com perfusão microvascular superior aos demais grupos.

Em 1985, **Bracken et al.**⁸¹ publicaram ensaio clínico multicêntrico mostrando os resultados encontrados em pacientes que receberam 1.000 mg em bolo diariamente de metilprednisolona durante 10 dias comparados ao grupo de pacientes que recebeu metilprednisolona numa dose diária de 100 mg em bolo durante 10 dias. Os autores concluíram que não houve diferença significativa na recuperação neurológica entre os grupos. Concluíram ainda que o grupo que recebeu dose diária de 1.000 mg de metilprednisolona apresentou maior taxa de infecção de ferida operatória, embora essas diferenças não tenham sido estatisticamente significativas.

Em 1987, **Bresnahan et al.**⁸² aprimoraram os estudos experimentais com lesão medular contusa e criam um aparelho de impacção com função eletromecânica, o NYU Impactor. Enfatizaram o papel das propriedades mecânicas do impacto no padrão da lesão medular. Defenderam que as características do tecido lesado podem influenciar a resposta do aparelho. Os autores avaliaram a capacidade de reprodução lesional do método.

Em 1991, **Geisler et al.**⁸³ publicaram ensaio clínico randomizado duplo-cego, placebo-controlado, com pacientes portadores de lesão medular aguda. Os pacientes receberam uma dose diária de 1.000 mg de gangliosídeo GM-1 nos primeiros três dias após o trauma e continuaram a receber durante 18 a 32 dias. Foram acompanhados com exame neurológico seriado padronizado pela escala de Frankel. Após um ano, os autores encontraram melhora neurológica mais importante no grupo que recebeu GM-1 comparados ao grupo que recebeu solução placebo. Os autores propuseram ainda que um estudo maior fosse realizado para confirmação dos achados.

Ainda em 1991, **Tator e Fehlings**⁵ reforçaram o papel da necrose celular pós trauma ocorrida durante a resposta inflamatória secundária no tecido neural. Os autores enfatizaram a importância da interrupção da cascata de reações no tratamento da lesão medular aguda.

Em 1992, **Bracken et al.**⁸⁴ publicaram novo ensaio clínico multicêntrico, randomizado, duplo-cego, com metilprednisolona *versus* naloxene e solução placebo em portadores de lesão medula aguda. A metilprednisolona foi administrada na dose de 30 mg/kg em bolo na primeira hora, seguida de 5,4 mg/kg nas 23 horas seguintes. O naloxene foi administrado na dose de 5,4 mg/kg em bolo na primeira hora, seguido de uma dose de 4,0 mg/kg nas 23 horas seguintes. Resultados mostraram que ocorreu melhora estatisticamente significativa nos escores sensitivos e motores em lesões completas e incompletas no grupo medicado com metilprednisolona, embora a magnitude desse efeito fosse pequena. Essas diferenças alcançaram resultados estatisticamente significativos devido ao grande tamanho da amostra para o estudo.

Em 1994, **Constatini e Young**⁸⁵ realizaram ensaio experimental em ratos sobre o manejo da lesão medular aguda com metilprednisolona, gangliosídeo GM-1 e associação das duas drogas. Os resultados do estudo mostraram que o GM-1 bloqueou a ação da metilprednisolona em ratos. Os autores concluíram que essas duas drogas não deveriam ser administradas em associação aos pacientes.

Em 1995, **Basso et al.**⁸⁶ alteraram o modelo da escala de avaliação locomotora criada por **Tarlov et al.**⁶⁹ para análise da lesão medular contusa em ratos. Resultados do estudo confirmaram a viabilidade e reprodutibilidade da nova escala proposta. A escala BBB forneceu medida confiável aos pesquisadores para avaliar o tratamento da lesão medular em ratos.

Em 1996, **Basso et al.**⁸⁷ reforçaram a validade da escala BBB, afirmando sua sensibilidade superior em relação aos modelos de avaliação locomotora anteriormente descritos e padronizaram o aparelho New York University (NYU) impactor, elaborado para produzir lesão medular contusa em ratos. Os autores defenderam que o sistema NYU impactor pode realizar uma lesão medular reprodutível e graduada, em todos os ratos. Estabeleceram que a análise dos efeitos da administração de medicamentos após a lesão medular contusa por queda de peso foi mais clara quando um peso de 10 g é posicionado a uma distância de 12,5 e 25 mm de altura.

Em 1998, **Bracken et al.**⁸⁸ publicaram ensaio clínico multicêntrico, randomizado duplo-cego com pacientes portadores de lesão medular aguda diagnosticada nas primeiras oito horas, comparando a eficácia da metilprednisolona, administrada por 24 e 48 horas, e do mesilato de tirilazade, administrado por 48 horas. Foram avaliadas a recuperação neurológica e as taxas de morbidade e mortalidade um ano após o trauma. Os pacientes que receberam tratamento medicamentoso nas três primeiras horas apresentaram recuperação neurológica semelhante nos três grupos. Nos pacientes que iniciaram o tratamento medicamentoso após três horas de lesão, o grupo que recebeu metilprednisolona por 24 horas apresentou menor taxa de recuperação neurológica, porém os pacientes que receberam metilprednisolona por 48 horas apresentaram maior taxa de recuperação neurológica. Com isso, os autores concluíram que, se o tratamento

for iniciado nas três primeiras horas, deve ser mantido por 24 horas. Se iniciado entre três e oito horas, a administração de metilprednisolona deve ser mantida por 48 horas.

Ainda em 1998, **Ramón-Cueto et al.**⁸⁹ publicaram ensaio laboratorial com ratos que foram submetidos a transplante de células olfatórias gliais após transecção da medula espinal. Os autores iniciaram uma nova linha de tratamento para lesão medular, inclusive quando há secção medular. O estudo realizado mostrou que as células do bulbo olfatório permearam e transpuseram a fibrose presente na porção medular lesionada percorrendo uma distância de pelos menos 2,5 cm.

Em 1999, **Vialle et al.**⁹⁰ estudaram as alterações histológicas surgidas na medula espinal de ratos após lesão por queda de peso com o aparelho NYU Impactor. Verificaram que, seis horas após o trauma, já existia diminuição volumétrica dos neurônios; após 24 horas, foram encontradas áreas de vacuolização e, com 48 horas de lesão espinal, havia presença de degeneração e vacuolização neuronal importante.

Em 2000, **Bracken**⁹¹ publicou artigo de revisão sobre a terapêutica farmacológica da lesão medular aguda e concluiu que a metilprednisolona foi a única medida farmacológica eficaz. Porém, no mesmo ano, **Short et al.**⁹² utilizaram critérios de inclusão e exclusão preestabelecidos e encontraram resultado diferente. Concluíram não haver suporte para o uso de altas doses de metilprednisolona para melhora neurológica na lesão medular aguda.

Em 2001, **Hurlbert**⁹³ realizou revisão sistemática da literatura para avaliar o uso da metilprednisolona no manejo da lesão medular aguda. Baseado nas evidências, o autor conclui que não existia suporte na literatura para o uso deste corticosteroide em lesões medulares agudas e que seu uso por 48 horas poderia ser prejudicial ao paciente.

Em 2002, **Vialle et al.**⁹⁴ publicaram estudo objetivando avaliar as escalas de avaliação motora para lesão medular contusa em ratos produzida pela NYU

Impactor. Os autores concluíram que a avaliação motora extensa, apesar de preconizada na literatura, não se mostrou necessária.

Em 2005, **Ferreira et al.**⁹⁵ publicaram ensaio experimental objetivando a padronização da técnica para obtenção do potencial evocado motor em ratos através da estimulação elétrica trans craniana. Foram utilizados ratos devidamente anestesiados e preparados. A latência mínima média das respostas dos membros superiores foi de 2,5 ms e de membros inferiores foi de 6,5 ms. A amplitude média das respostas foi de 3,0 mV e de 2,5 mV nos membros superiores e membros inferiores, respectivamente. Os autores concluíram que a técnica para captação do potencial evocado motor em ratos apresentada foi eficaz na análise da evolução eletrofisiológica da lesão medular, podendo ser reproduzida de modo simples, além de apresentar padrões de qualidade e aplicabilidade semelhantes aos observados na literatura mundial.

Em 2006, **Tator**⁹⁶ publicou extensa revisão da literatura sobre os ensaios clínicos realizados em humanos com lesão medular aguda tratados com agentes farmacológicos. Até o ano da publicação, haviam sido realizados 10 ensaios clínicos. O autor revelou que há poucos ganhos para os pacientes, existiam várias deficiências no desenho dos estudos e fez várias recomendações para melhorias.

Em 2006, **Bolton et al.**⁹⁷ estudaram a marcha de ratos sem lesão medular sobre uma escada disposta de maneira horizontal a uma altura de 46 cm do chão e com distância estabelecida de 1,5 cm entre os frisos de metal e as adaptações de apoio e posicionamento das patas dos animais. Em análise cinemática e de eletromiografia, os autores concluíram que após a ocorrência de lesão medular experimental, houve significativo aumento do número de erros e posicionamento das patas.

Em 2009, **Cristante et al.**⁹⁸ publicaram ensaio clínico não randomizado com a finalidade de avaliar o efeito da administração de células-tronco autógenas indiferenciadas no local da lesão medular em pacientes com lesão crônica. A análise foi realizada através do potencial evocado somato-sensitivo. O protocolo

de ensaio de 2,5 anos mostrou-se seguro e ocorreu melhora dos potenciais somato-sensitivos em 66,7% dos pacientes com lesão medular completa.

Em 2010, **Rodrigues et al.**⁹⁹ estabeleceram um padrão para as lesões medulares contusas por queda de peso em ratos Wistar. Conforme publicado no estudo *Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study* (MASCIS), o autor utilizou aparelho computadorizado para produzir uma queda de peso provocando lesões padronizadas. Também evidenciou que houve uma correlação estatisticamente significativa entre o volume da lesão e os parâmetros mecânicos.

Ainda em 2010, **Marcon et al.**¹⁰⁰ publicaram estudo experimental com objetivo de avaliar os efeitos da metilprednisolona administrada previamente à lesão medular contusa em ratos, tanto em relação aos possíveis benefícios, quanto às possíveis complicações surgidas. O autor concluiu que não houve diferença nos resultados motores em relação ao grupo controle e que o grupo que recebeu metilprednisolona quatro horas antes da lesão apresentou maior número de óbitos precoces comparado ao grupo que recebeu a droga após o trauma.

Em 2011, **Souza et al.**¹⁰¹ publicaram ensaio experimental visando avaliar a eficácia do GM1, administrado por via intraperitoneal, após lesão medular experimental em ratos. Foram utilizados 20 ratos da raça Wistar machos, adultos jovens, divididos em dois grupos de dez animais. No grupo EPO foi administrado apenas soro fisiológico. Ao grupo EPO/IL-6, administraram-se 30 mg/kg de GM1 diariamente. As lesões foram produzidas seguindo-se o protocolo internacional MASCIS (*Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study*), com o sistema NYU *Impactor*. Os animais foram avaliados funcionalmente pela escala BBB. O potencial evocado foi realizado em todos os animais, no 42º dia após o trauma. As avaliações funcionais e por meio de potencial evocado não demonstraram diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. Os autores concluíram que o emprego de GM1 intraperitoneal não demonstrou resultados satisfatórios após lesão medular experimental.

Em 2012, **Cristante et al.**³ publicaram estudo de revisão sobre possíveis abordagens terapêuticas para a lesão da medula espinal. Os autores observaram

que a maior parte dos estudos divide a abordagem do paciente com lesão aguda da medula espinal em quatro: cirurgia corretiva, método de tratamento físico, biológico ou farmacológico. Os autores defenderam que, apesar de a ciência ter progredido bastante em desvendar os mecanismos de proteção celular e neuroregeneração, clinicamente, o tratamento desses pacientes consistia ainda em cuidados de apoio. A combinação de várias estratégias terapêuticas devia, no mínimo, permitir recuperações funcionais parciais para esses pacientes, o que poderia melhorar a sua qualidade de vida.

Em 2013, **Hurlbert et al.**¹⁰² produziram artigo de revisão sobre a terapia farmacológica da lesão medular aguda. No estudo, os autores criticaram a metodologia aplicada na elaboração dos ensaios clínicos envolvendo a metilprednisolona e gangliosídeo GM-1, e afirmaram que o uso de altas doses de corticosteroides poderia ser prejudicial, inclusive levando à morte.

Em 2014, **Alibai et al.**¹⁰³ realizaram ensaio clínico randomizado comparando pacientes com traumatismo raquimedular tratados com metilprednisolona associada a eritropoetina (500 UI/kg de EPOrh na admissão e outras 500 UI/kg 24 horas depois) e pacientes que receberam apenas metilprednisolona. Não houve diferença significativa entre os pacientes que receberam os dois tipos de tratamento no exame neurológico de admissão e após 24 e 48 horas. No entanto, uma semana, um mês e seis meses após a admissão, essas diferenças foram estatisticamente significativas. O grupo que recebeu o tratamento combinado pode ter apresentado melhora neurológica mais eficaz do que o grupo que recebeu apenas metilprednisolona. Os autores defenderam que mais estudos com amostras maiores são necessários.

Em 2015, **Costa et al.**¹⁰⁴ publicaram os resultados de ensaio clínico multicêntrico, randomizado, simples cego investigando a tolerabilidade e eficácia do tratamento com EPO comparada à metilprednisolona (MP) na lesão traumática da medula espinal. Pacientes com idade entre 18 e 65 anos após lesão de C5 a T12 e grau A ou B da *ASIA Impairment Scale* (AIS), internados em até 8 horas após o trauma, hemodinamicamente estáveis, foram randomizados para MP de acordo com o protocolo NASCIS III ou EPO intravenosa (500 UI /kg, repetido em 24 e 48

h). Oito pacientes foram randomizados para MP e 11 para EPO. Nenhum evento adverso ou evento adverso grave foi relatado em ambos os grupos. A análise bayesiana detectou uma chance de 91,8% de alcançar taxas de sucesso mais altas no desfecho primário com EPO na população com intenção de tratar, com 95% de chance de a diferença entre EPO e MP cair na faixa (-0,10, 0,51) e um valor médio de 0,2. Os resultados da análise Bayesiana favoreceram o tratamento experimental.

Em 2015, **Alibai et al.**¹⁰⁵ objetivando determinar os efeitos da EPOrh no resultado funcional e incapacidade de pacientes com lesão traumática da medula espinal cervical, desenvolveram ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. Um total de 20 pacientes com LME cervical traumática aguda menos de 8 horas após a lesão foram incluídos. Os pacientes foram aleatoriamente designados para receber EPOrh na dose de 500UI/ml imediatamente e 24 horas depois ou placebo. Todos os pacientes receberam esquema padrão de metilprednisolona. A função neurológica foi avaliada na admissão, 1, 6 e 12 meses após a lesão de acordo com a ASI. Não houve diferença significativa entre os dois grupos de estudo em relação ao resultado motor e sensorial nos subgrupos de lesão medular completa e lesão incompleta. Os autores concluíram que a administração de EPOrh não melhorou o resultado funcional de pacientes com lesão cervical traumática.

Em 2015, **Letaif et al.**¹⁰⁶ publicaram ensaio experimental com objetivo de avaliar a influência do tratamento com estrógeno em ratos submetidos a lesão medular contusa por queda de peso. Foram utilizados 20 ratos Wistar, divididos em 2 grupos de 10 animais cada. No grupo EPO, os animais receberam 17-beta estradiol após a lesão medular. Os ratos do grupo EPO/IL-6 foram submetidos apenas a lesão medular (grupo controle). Os ratos foram avaliados pela escala BBB, sofreram também avaliação histológica e exame de potencial evocado. Os resultados das avaliações por exame de potencial evocado revelaram que o grupo experimental apresentou melhora estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. Os resultados das avaliações anatomopatológicas pela histomorfometria mostraram melhor recuperação do grupo experimental com relação à proporção numérica e ao diâmetro das fibras nervosas contadas. Os

autores concluíram que a administração de estrógeno em ratos submetidos à lesão medular mostrou benefícios na recuperação neurológica e funcional motora dos animais tratados.

Em 2019, **Liu et al.**¹⁰⁷ realizaram meta-análise para avaliar os efeitos terapêuticos e adversos de altas doses de MP de acordo com o protocolo NASCIS-2 em pacientes com lesão medular aguda comparado ao manejo desses pacientes sem esteroides. Foram incluídos 16 estudos (1.863 participantes): 3 ensaios clínicos randomizados e 13 estudos observacionais. Os autores concluíram que o tratamento com MP em altas doses não contribuiu para melhor recuperação neurológica, mas pode aumentar o risco de eventos adversos em pacientes com lesão medular aguda. Portanto, não recomendaram o uso rotineiro de MP em altas doses logo após a lesão medular.

Em 2020 **Joaquim et al.**¹⁰⁸ realizaram revisão sistemática da literatura objetivando avaliar os ensaios clínicos randomizados que abordam potenciais agentes neuroprotetores usados para melhorar o resultado neurológico em pacientes com lesão medular. Um total de 16 ensaios clínicos randomizados foram incluídos e 12 substâncias foram analisadas: metilprednisolona (MP), naloxona, tirilizade, nimodipina, sygen, macrófagos autólogos incubados, células autólogas da medula óssea, minociclina, eritropoetina, gangliosídeo, vitamina D e progesterona. Benefícios modestos foram atribuídos à minociclina e Sygen e alguns benefícios foram obtidos com eritropoetina e progesterona mais vitamina D no resultado neurológico. Para MP, os benefícios também foram controversos e podem ser atribuídos a artefatos estatísticos e com alto risco de efeitos adversos. As demais substâncias não alteraram o resultado final. Os autores sugeriram que algumas substâncias potenciais podem melhorar o resultado neurológico na LME aguda: MP, vitamina D associada à progesterona e eritropoetina. Seus potenciais benefícios foram modestos nos estudos avaliados. Os autores defenderam ainda a realização de novos ensaios clínicos randomizados com grandes amostras de pacientes, para uso clínico rotineiro.

Em 2021, **Ganjeifar et al.**¹⁰⁹ realizaram estudo piloto randomizado, controlado, duplo-cego para investigar o efeito aditivo da EPOrh no resultado

funcional e incapacidade em pacientes com lesão traumática da medula espinal cervical. Um total de 54 pacientes admitidos dentro de 8 h após a lesão foram aleatoriamente designados para receber apenas metilprednisolona ou 500 UI/ml de EPOrh associada a metilprednisolona. Os autores concluíram que não estava claro se a terapia de combinação com eritropoetina em comparação com metilprednisolona isolada melhorou as funções neurológicas de pacientes com lesão medular cervical. Sugeriram ainda que o estudo fornecia dados provisórios para orientar futuros ensaios definitivos maiores.

Também em 2021, **Eryilmaz e Farooque**¹¹⁰ investigaram a eficácia da medicação combinada com metilprednisolona e eritropoetina no tratamento da lesão de isquemia-reperfusão da medula espinal em pacientes com mielopatia espondilótica cervical. O estudo incluiu 110 pacientes que foram randomizados em dois grupos de 55 pacientes cada: um controle e um grupo de observação. Em ambos os grupos de pacientes, foi realizado descompressão e artrodese cervical anterior. A diferença, no entanto, foi que o grupo controle recebeu uma injeção intravenosa de 30 mg/kg de metilprednisolona 30 minutos antes da descompressão, enquanto o grupo de observação recebeu uma injeção intravenosa de 30 mg/kg de metilprednisolona e 3.000 UI/kg de eritropoetina 30 minutos antes da descompressão da medula espinal. A função neurológica foi avaliada antes do procedimento e três meses após o tratamento usando o método da Associação Ortopédica Japonesa. Foram analisados os níveis de enolase neuroespecífica (NSE), S-100 β , IL-1RA, IL-1 β e IL-8. A qualidade de vida dos pacientes de ambos os grupos foi avaliada três meses após o tratamento com o instrumento de avaliação de qualidade de vida da Organização Mundial da Saúde (WHOQOL-100). Os autores concluíram que a terapia combinada com eritropoetina e metilprednisolona foi eficaz para lesões de isquemia-reperfusão da medula espinal. Também reduziu S-100 β e NSE, inibiu IL-1 β e aumenta IL-8 e IL-1RA. Portanto, preservou e melhorou a função do nervo espinal e a qualidade de vida dos pacientes.

Em 2022, **Fang et al.**¹¹¹ descreveram um protocolo destinado a avaliar a eficácia da utilização de EPOrh associada a metilprednisolona em comparação com a metilprednisolona isolada na melhora da função neurológica de pacientes

com LME em ensaios clínicos randomizados, por meio de uma meta-análise. O resultado primário estabelecido foi a pontuação da ASIA no momento do acompanhamento. Os desfechos secundários: a pontuação do instrumento WHOQOL-100, estado neurofisiológico e fatores relacionados.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local de execução

Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e Nervos do Instituto de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (LETRAN) (**figura 1**).

Figura 1- LETRAN



Fonte:Arquivo pessoal do autor

4.2 Ética

O protocolo de pesquisa para realização deste estudo foi aprovado pela Comissão Científica do Instituto de Ortopedia e Traumatologia e pela Comissão de Ética para análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq – HC-FMUSP) (**Anexo A**).

4.3 Animais de experimentação

Ratos da linhagem Wistar foram aleatoriamente divididos em oito grupos homogêneos de 10 animais. Foi realizada lesão medular contusa em nível torácico em todos eles, utilizando-se o equipamento computadorizado de impacto por queda de peso “NYU Weight-Drop Impactor”⁸⁷. O protocolo utilizado para a avaliação da função locomotora dos ratos em momentos predeterminados do estudo foi o proposto por Basso, Beattie e Bresnahan (BBB)⁸⁶. Os animais foram submetidos à primeira avaliação motora pós-lesão, segundo o protocolo BBB e considerados como portadores de lesão medular. O tratamento medicamentoso recebido foi de acordo com o grupo ao qual o rato pertencia. Foram comparadas as taxas de recuperação da função locomotora entre os oito grupos ao final do experimento. No 42º dia de experimento, os animais foram sacrificados e suas medulas espinhais analisadas histologicamente quanto a hiperemia, hemorragia, necrose, infiltrado celular, degeneração de substância nervosa e realizada contagem de neurônios.

4.4 Seleção dos animais

4.4.1 Critérios de inclusão:

- Ratos da linhagem Wistar;
- Machos adultos jovens (20 a 21 semanas de vida inclusive);
- Peso entre 340 gramas e 450 gramas inclusive;
- Pelagem normal sob inspeção visual;
- Condição geral de saúde boa;
- Motricidade inicial normal conforme avaliação pela escala BBB.

4.4.2 Critérios de exclusão:

- Óbito após lesão;
- Infecção persistente após 10 dias de tratamento com antibioticoterapia;
- Anomalias observadas macroscopicamente na região medular;
- Perda maior que 10% do peso corporal após a lesão;
- Movimentação normal após a lesão (21 pontos na escala BBB);
- Autofagia ou mutilação entre os animais.

4.5 Formação dos grupos experimentais

Os 80 animais foram divididos aleatoriamente em oito grupos:

- a) **GRUPO I:** Após lesão medular com haste graduada na altura de **12,5 mm**, os animais receberam eritropoetina recombinante humana (EPOrh) em **dose única de 500 UI/kg**, administrada por via intraperitoneal.
- b) **GRUPO II:** Após lesão medular com haste graduada na altura de **25 mm**, os animais receberam eritropoetina recombinante humana (EPOrh) em **dose única de 500 UI/kg**, administrada por via intraperitoneal.
- c) **GRUPO III:** Após lesão medular com haste graduada na altura de **12,5 mm**, os animais receberam eritropoetina recombinante humana (EPOrh) em **duas doses de 500 UI/kg**, administradas por via intraperitoneal e com intervalo de uma semana entre elas.
- d) **GRUPO IV:** Após lesão medular com haste graduada na altura de **25 mm**, os animais receberam eritropoetina recombinante humana (EPOrh) em **duas doses de 500 UI/kg**, administradas por via intraperitoneal e com intervalo de uma semana entre elas.
- e) **GRUPO V:** Após lesão medular com haste graduada na altura de **12,5 mm**, os animais receberam eritropoetina recombinante humana (EPOrh) em **dose única de 5.000 UI/kg**, administrada por via intraperitoneal.

- f) **GRUPO VI:** Após lesão medular com haste graduada na altura de **25 mm**, os animais receberam eritropoetina recombinante humana (EPOrh) em **dose única de 5.000 UI/kg**, administrada por via intraperitoneal.
- g) **GRUPO VII:** Após lesão medular com haste graduada na altura de **12,5 mm**, os animais receberam eritropoetina recombinante humana (EPOrh) em **duas doses de 5.000 UI/kg**, administradas por via intraperitoneal e com intervalo de uma semana entre elas.
- h) **GRUPO VIII:** Após lesão medular com haste graduada na altura de **25 mm**, os animais receberam eritropoetina recombinante humana (EPOrh) em **duas doses de 5.000 UI/kg**, administradas por via intraperitoneal e com intervalo de uma semana entre elas.

Foi utilizada a EPOrh fabricada pela indústria farmacêutica Janssen-Cilag (Eprex-alfaepoetina, Schaffhausen, Suíça) em ampolas com doses de 10.000 UI e volume de 1 ml.

4.6 Protocolo de anestesia

Para a realização da lesão medular, os animais foram submetidos a injeção subcutânea de cloridrato de tramadol na dose de 3 mg/kg e pentabiótico na dose 24.000 UI/Kg.

Com o uso de uma caixa de acrílico, os animais foram induzidos à anestesia com isoflurano (1.5–2.0 vols.%) em 100% de oxigênio (**Figura 2**). Após sedação leve uma máscara foi colocada para cobrir todo o focinho do animal levando-o a um plano anestésico mais profundo (**Figura 3**). A ausência dos reflexos da córnea e da reação à compressão das patas e cauda confirmou o estabelecimento de plano anestésico profundo¹². Realizou-se a tricotomia e limpeza da região dorsal onde ocorreu a incisão por material cirúrgico.

Figura 2 - Indução anestésica com isoflurano (1.5–2.0 vols.%) em caixa de acrílico



Fonte: Arquivo pessoal do autor

Figura 3 - Com o animal em plano anestésico profundo em suporte por máscara cobrindo o focinho é realizada a tricotomia



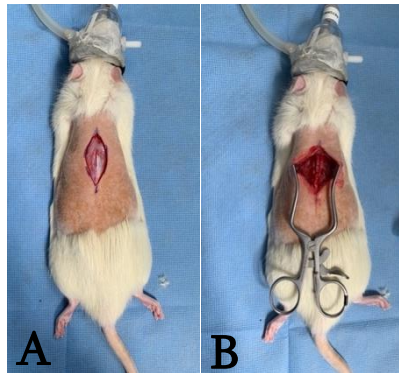
Fonte: Arquivo pessoal do autor

4.7 Exposição do saco dural e laminectomia

Após a tricotomia foi realizada exposição da medula para contusão de maneira padronizada com auxílio de um microscópio cirúrgico. Realizou-se uma incisão na linha média dorsal para expor os arcos posteriores da coluna vertebral, com dissecação subperiosteal dos processos espinhosos e lâminas de T9 a T11(**Figura 4**). Bisturi bipolar auxiliou na hemostasia, quando houve necessidade. Removeram-se, com saca-bocados, o processo espinhoso e a lâmina da vértebra T10 e a metade distal do processo espinhoso de T9 até a completa exposição do

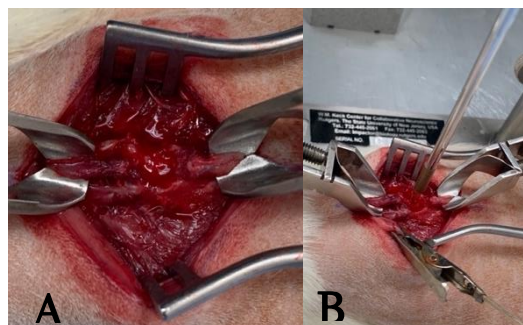
saco dural e posicionamento da ponta da haste (punção) do NYU Impactor (**Figura 5**)⁸⁷. Respeitaram-se todos os demais cuidados relacionados por **Rodrigues**¹¹³ e padronizados por **Santos et al.**¹¹².

Figura 4 - A) Incisão longitudinal mediana em pele e tecido subcutâneo. B) Dissecção subperiosteal dos processos espinhosos e lâminas de T9 a T11



Fonte: Arquivo pessoal do autor

Figura 5 – A) laminectomia de T10 e da metade distal de T9 com exposição do saco dural. B) Extremidade da haste de impacto do dispositivo alojada no saco dural



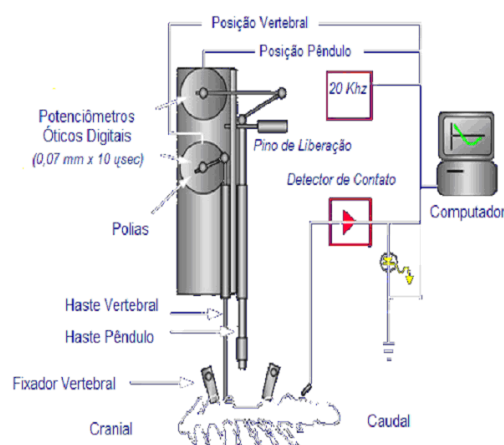
Fonte: Arquivo pessoal do autor

4.8 Mecanismo de lesão medular

Foi utilizado o modelo padronizado para a reprodução de lesão medular contusa por queda de peso, utilizando o dispositivo NYU Impactor. O equipamento computadorizado para impacto medular por queda de peso monitorada NYU Impactor é formado por (**Figura 6**):

- Haste de 10 g a 12,5 ou 25 mm de altura predeterminada para contusão medular;
- Tubo guia;
- Sistema de monitoração de posição, velocidade de queda, instante de contato, período de contato, deformação da coluna e deformação absoluta e relativa da medula;
- Dispositivos de interface (instrumentação);
- Microcomputador com sistema operacional Windows instalado;
- Vídeo monitor com conexão VGA (video graphics array);
- Placa de interface com saída paralela e temporizador.

Figura 6 – Esquema ilustrativo do equipamento computadorizado NYU Impactor



Fonte: LETRAN

Os animais foram posicionados no NYU Impactor de modo a permitir o pleno contato da ponta da haste (punção) na superfície exposta da medula (margem de segurança de 0,2 mm de cada lado), na altura de T10. As duas garras reguláveis foram ajustadas para a fixação da coluna vertebral, presas aos processos espinhosos das vértebras T8 e T11, respectivamente (**Figura 7**). As garras têm por finalidade diminuir deformações do corpo do animal e, conseqüentemente, o movimento da coluna, quando ocorre a queda do peso, reduzindo-se os fatores de erros. Assim, produziram-se lesões homogêneas e reproduzíveis. Foi produzida a contusão por meio da queda de uma haste de impacto pesando 10 g, localizada a uma distância preestabelecida de 12,5 ou 25 mm do saco dural. A queda da haste ocorreu através de um tubo guia monitorado por computador. Durante a queda, foram monitorados a deformação absoluta e relativa da medula, a velocidade da haste, o instante de contato efetivo e o tempo de contato, com o objetivo de aumentar ao máximo a precisão do mecanismo de lesão medular.

Figura 7- Garras reguláveis presas aos processos espinhosos das vértebras T8 e T11



Fonte: Arquivo pessoal do autor

Após a lesão, o sítio da contusão foi inspecionado e lavado com solução fisiológica de cloreto de sódio à temperatura ambiente. Foi realizada a aproximação dos planos musculares, faciais e da pele com sutura de ponto simples com fio nylon monofilamentado 2.0 (**Figura 8**).

Figura 8 - Síntese por plano tecidual após realização da lesão medular contusa



Fonte: Arquivo pessoal do autor

4.9 Protocolo de cuidados pós-operatórios

Após a sutura da pele, realizou-se controle de temperatura para conforto térmico do animal. Foi administrado cloridrato de tramadol na dose de 3 mg/kg a cada 8 horas durante 5 dias, pentabiótico na dose 24.000 UI/Kg a cada 12 horas durante 7 dias, meloxicam na dose 5 Mg/kg 1 x ao dia durante 3 dias¹¹⁴. Todos os animais receberam antibioticoterapia profilática em dose única (cefazolina 2 mg/100 g, via intraperitoneal).

Após a lesão medular, os animais perderam os reflexos de urinar, sendo, diariamente, realizadas manobras de extração de urina dos animais por pressão manual na bexiga e avaliação diária do grau de desidratação pelo turgor da pele e verificada a necessidade de antibioticoterapia (levofloxacina, 2,5 mg/kg, por 10 dias) segundo a presença de sangue na urina. Se após a terapia o animal continuasse a apresentar sangue na urina, a infecção era considerada intratável e o animal era submetido a morte indolor induzida^{112,115,116}.

Os animais regressaram as suas gaiolas e foi preservado o mesmo ambiente pré-operatório: alimentação *ad libitum* e renovação diária das condições de higiene. Durante os 42 dias do estudo foram diariamente investigados a presença de critérios de exclusão, infecção e mutilação, entre os ratos.

4.10 Avaliação da capacidade locomotora pela escala BBB

Após 48 horas do procedimento cirúrgico foram realizadas avaliações motoras seguindo protocolo proposto por Basso, Beattie e Bresnahan (BBB). Esta escala é utilizada universalmente para quantificar a recuperação da função motora em ratos com lesão medular nos estudos realizados pelo MASCIS (Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study). Seu uso foi padronizado em nosso laboratório por **Santos et al.**¹¹². Nesta escala, a função locomotora é avaliada em sete momentos: no 2^o, 7^o, 14^o, 21^o, 28^o, 35^o e 42^o dias. Conforme padronizado, observam-se os movimentos da articulação do quadril, joelho e tornozelo e a posição do tronco, cauda e patas traseiras. A partir dessas observações, foram atribuídos pontos de zero a 21, sendo o zero correspondente à ausência total de movimentos e o 21, à presença de movimentos normais.

Em nosso estudo, as medidas de locomoção foram realizadas por dois examinadores treinados, com domínio prévio da ficha de pontuação, que contém 10 atributos de padrões de recuperação da função locomotora: 1) movimentação dos membros inferiores; 2) posição do tronco; 3) posição do abdome; 4) acomodação das patas; 5) marcha; 6) coordenação; 7) capacidade de limpar as patas; 8) posição predominante das patas traseiras; 9) instabilidade do tronco; 10) posição da cauda de acordo com os termos descritos na escala de avaliação. Os animais são colocados no centro de uma caixa medindo 80 x 80 cm de borda com 17 cm de altura e os avaliadores fizeram as observações simultaneamente de cada animal pelo tempo mínimo de quatro minutos. Os examinadores possuíam uma planilha da escala de BBB, onde realizavam anotações sistemáticas dos resultados, comparando as diferenças encontradas entre eles, para reuplicar o teste, caso necessário, assim, reduzindo o risco de erro de interpretação (**Anexos**

B e C). Caso houvesse discordância entre as avaliações, decidiu-se pela anotação da menor nota.

Os avaliadores neste estudo não tinham conhecimento de qual grupo cada rato pertencia ou qual intervenção terapêutica recebeu, pois não sabiam o significado de cada marca na cauda animal. Desta maneira, o cegamento dos avaliadores ficou garantido.

4.11 Avaliação comportamental sensório motora: plano horizontal

Para análise da função proprioceptiva dos animais foi preparada uma escada horizontal de 100 cm de comprimento com 35 cm de largura. Esta ficou suspensa a uma altura de 46 cm do chão e com distância estabelecida de 1,5 cm entre cada friso de metal^{97,117,118}.

Por dois dias antes do procedimento cirúrgico os animais foram treinados a se deslocarem na escada, pelo menos cinco vezes. Água e açúcar foram colocados ao final do trajeto para estimular a locomoção. Os ratos precisavam andar de maneira voluntária pela escada, sendo anotados: número de passos totais, acertos, escorregos e erros. Foram considerados acertos, o posicionamento correto das patas nos frisos de metal¹¹⁹. Se o posicionamento das patas nos frisos era seguido de queda do membro entre estes, foi considerado escorrego. Foram distinguidos dois tipos de erros: o arrastar das patas posteriores ao longo da escada horizontal e o posicionamento das patas entre os frisos de metal^{120,121}. Os valores das três passagens pela escada horizontal foram obtidos para todos os tipos de respostas (acertos e erros) e realizada sua média¹²²⁻¹²⁴. Nesta escala, a função locomotora foi avaliada em quatro momentos: pré-operatório, duas, quatro e seis semanas após a lesão medular.

4.12 Protocolo de eutanásia

A eutanásia foi realizada no 42º dia com pentobarbital (140 mg/kg) por via intraperitoneal para indução de plano anestésico que, após confirmado, era seguido pela indução de cloreto de potássio por via intravenosa.

4.13 Preparo dos tecidos para avaliação histológica

Primeiramente, foi realizada inspeção macroscópica dos animais a procura da existência de possíveis lesões associadas à mutilação ou autofagia. Foi realizada nova incisão dorsal e disseção cuidadosa da medula espinal com liberação das partes moles e estruturas ósseas adjacentes. O segmento medular desde o nível C3 ao nível T10 foi enviado para análise histológica. Posteriormente, foi aderida linearmente em papel cartão com as respectivas identificações topográficas, principalmente onde se observaram achados macroscópicos de contusão medular, os quais foram identificados como área “B”. As áreas cefálicas foram marcadas como “A” e as caudais à lesão, como “C”. Depois de identificadas e acondicionadas, as medulas foram fixadas em formol a 10%.

Cada área previamente identificada como lesionada foi seccionada no plano axial de forma macroscópica em intervalos de dois milímetros, partindo da área central da lesão, em uma extensão de um centímetro. Todos os fragmentos foram submetidos aos processos histológicos que compreendem a desidratação em banhos de álcool, diafanização em xilol e impregnação por parafina líquida. Cada fragmento foi emblocado em parafina e posteriormente identificado com a topografia do respectivo material.

Os blocos parafinados foram encaminhados para o processo de microtomia, em que se obtiveram cortes histológicos de, no máximo, cinco micra de espessura,

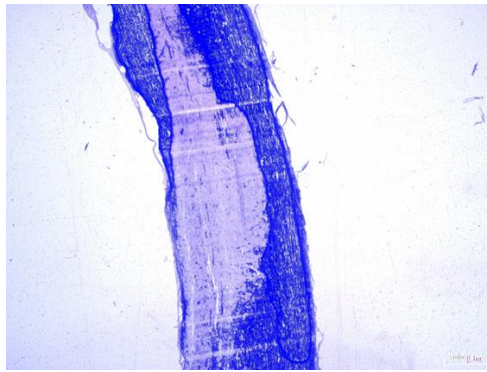
utilizando um micrótomo (Leica RM 2055 – elétrico), e disposição em lâminas descartáveis (Erviagas). As lâminas de vidro utilizadas no processo receberam previamente um banho de silane, para se obter melhor resultado na aderência dos materiais à superfície.

4.14 Análise histológica qualitativa

As lâminas contendo cortes transversais da medula em nível perilesional e regiões próximas (**região B**) foram coradas utilizando o método de hematoxilina-eosina (HE). As alterações anatomopatológicas foram registradas como presente (P) e ausente (A). Foi analisada a presença de: necrose, hemorragia, hiperemia, degeneração da substância nervosa e infiltrado celular. Pontuação que varia de 0 a 3 (ausente, discreto, moderado e intenso) foi atribuída para cada uma das alterações em questão, em cada corte da medula histologicamente estudado.

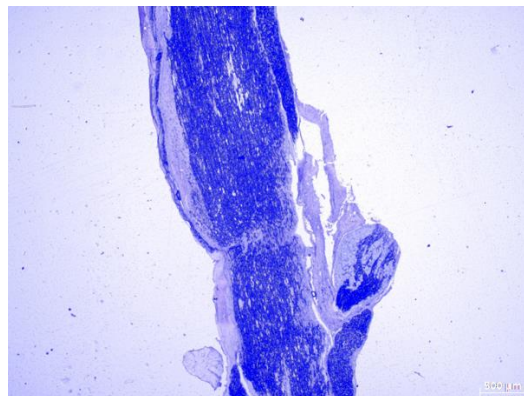
O protocolo para coloração usada com HE consistiu no aquecimento dos segmentos seccionados a 45° por 40 minutos. Adiante, hidratação dos fragmentos em uma diluição seriada de álcool (100%, 80% e 70%) por 5 minutos cada e lavagem com água destilada por 7 minutos. As amostras foram imersas em solução de hematoxilina por 3 minutos e lavadas em água corrente por 3 minutos. Após essa etapa, as amostras foram coradas com solução de eosina por 7 minutos, e na sequência por lavagem em água corrente por 3 minutos. Por último, as secções de medula foram desidratadas e lavadas por duas vezes com xilol, por 5 e 10 minutos (**Figura 9, 10 e 11**).

Figura 9 - Microscopia de corte sagital de fragmento da medula espinal corada por hematoxilina-eosina, mostrando aspecto histológico do achado: hemorragia. Foto realizada no Scanner Olympus, modelo VS120, objetiva de 20x



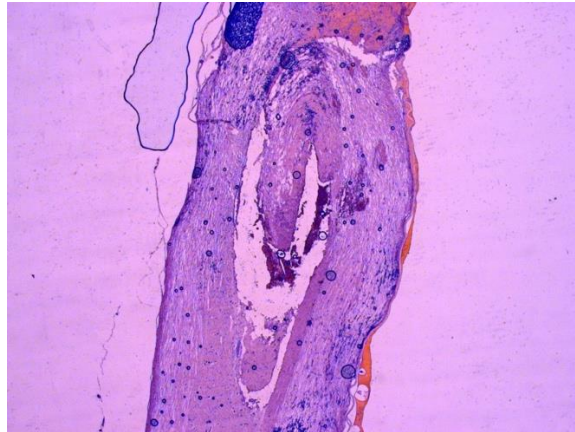
Fonte: Arquivo pessoal do autor

Figura 10 - Microscopia de corte sagital de fragmento da medula espinal corada por hematoxilina-eosina, mostrando aspecto histológico do achado: degenerado. Foto realizada no Scanner Olympus, modelo VS120, objetiva de 20x



Fonte: Arquivo pessoal do autor

Figura 11 - Microscopia de corte sagital de fragmento da medula espinal corada por hematoxilina-eosina, mostrando aspecto histológico do achado: necrose. Foto realizada no Scanner Olympus, modelo VS120, objetiva de 20x



Fonte: Arquivo pessoal do autor

4.15 Análise histológica quantitativa

A análise quantitativa foi realizada através de imagens digitais em grande aumento, utilizando objetiva de 40 vezes de ampliação, das porções medulares cranial e caudal (**regiões A e C**), após fixação em solução de tetróxido de ósmio a 2% e coloração com azul de toluidina a 1%, obtendo-se representação adequada das células neuronais. Foram selecionados dois campos de cada segmento, escolhidos pelo patologista os campos de melhor representação. As imagens foram avaliadas pelo software Sigma Scan Pro5.0 para a contagem das fibras dos axônios regenerados. Foram considerados para contagem somente os neurônios com diâmetro igual ou maior do que 15 μm .

O número de axônios regenerados no segmento distal e o número de axônios regenerados no segmento proximal foram aplicados à seguinte fórmula:

$$\text{IR} = (\text{n}^\circ \text{ de axônios no segmento distal} / \text{n}^\circ \text{ de axônios no segmento proximal}) \times 100.$$

Legenda: IR: índice de regeneração.

As análises em microscopia foram realizadas por um único patologista, vinculado ao LETRAN, cego quanto à alocação dos animais nos grupos.

4.16 Descarte das carcaças

As carcaças foram colocadas em sacos plásticos e devidamente identificadas, seguindo apostila de descarte de animais da FMUSP.

4.17 Forma de análise dos resultados

Para elaboração deste estudo foram avaliados camundongos, nos quais foi induzida uma lesão medular e subdivididos em 8 grupos, variando conforme a magnitude do trauma e dose administrada de eritropoetina. Os parâmetros avaliados foram descritos segundo grupos e momentos de avaliação com uso de medidas resumo (média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo) e comparados os parâmetros com uso de equações de estimação generalizadas (EEG) com distribuição normal e função de ligação identidade, assumindo com matriz de correlações AR(1) entre os momentos de avaliação para o BBB e peso dos animais, para o teste do plano horizontal os parâmetros foram comparados entre grupos e momentos de avaliação com uso de EEG com distribuição Poisson e função de ligação identidade, assumindo matriz de correlações AR(1) entre os momentos e para os acertos, escorregões e erros foi utilizado o número de passos como limitante dos dados (*offset*)¹²⁵, todas as análises foram seguidas de comparações múltiplas de Bonferroni para identificar entre quais grupos ou momentos ocorreram as diferenças. As análises histológicas quantitativas foram descritas segundo grupos com uso de medidas resumo e comparadas com uso de análises de variâncias (ANOVA), seguidas de comparações múltiplas de Bonferroni para identificar as diferenças entre os grupos, enquanto que a análise histológica qualitativa foi descrita segundo grupos com uso de frequências absolutas e relativas

e comparada com uso de testes Kruskal-Wallis seguidas de comparações múltiplas de Dunn¹²⁶.

Para realização das análises foi utilizado o *software IBM-SPSS for Windows* versão 22.0 e para tabulação dos dados foi utilizado o *software Microsoft Excel* 2013. Os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

5 RESULTADOS

Tabela 1 - Descrição da escala BBB segundo grupos e momentos de avaliação e resultado das comparações

Variável	Momento						P Grupo	P Momento	P Interação
	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	5 semanas	6 semanas			
BBB							<0,001	<0,001	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg									
média ± DP	0,9 ± 0,9	1,8 ± 0,9	3,2 ± 1,5	4,7 ± 1,4	8,6 ± 1,9	11,9 ± 1,9			
mediana (mín.; máx.)	1 (0; 2)	2 (0; 3)	3 (2; 7)	5 (3; 7)	9 (5; 11)	12 (8; 14)			
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg									
média ± DP	0,6 ± 1,1	2,2 ± 0,8	4,1 ± 1,8	5,4 ± 2,8	6,6 ± 2,5	7,3 ± 2,1			
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 3)	2 (1; 4)	4 (2; 8)	4 (2; 11)	6 (4; 11)	7,5 (5; 11)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg									
média ± DP	0,5 ± 1	1,6 ± 1,3	5,1 ± 1,4	7,1 ± 1,7	9 ± 1,3	10,3 ± 1,5			
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 3)	1,5 (0; 4)	5 (3; 8)	6,5 (5; 11)	8 (8; 11)	10 (8; 12)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg									
média ± DP	0,5 ± 1	2 ± 0,9	3,7 ± 1,2	4,9 ± 1,4	6,8 ± 1,4	7,8 ± 1,5			
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 3)	2 (1; 4)	4 (2; 6)	5,5 (2; 6)	7 (4; 8)	8 (6; 10)			
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg									
média ± DP	0,6 ± 1,1	2,5 ± 1,2	4,9 ± 1,2	9,2 ± 1,6	12 ± 1,4	14,6 ± 0,8			
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 3)	2 (1; 5)	5 (4; 8)	8,5 (8; 12)	12 (9; 14)	15 (13; 16)			
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg									
média ± DP	0,5 ± 1	1,6 ± 1,3	4,7 ± 1,4	6,5 ± 2,1	8,3 ± 2,9	9,8 ± 3,3			
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 3)	1,5 (0; 4)	4 (3; 8)	6 (5; 12)	8 (5; 15)	9 (6; 18)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg									
média ± DP	0,6 ± 1,1	2,5 ± 1,2	5 ± 1,2	8,2 ± 2,2	10,5 ± 1,7	13 ± 2,2			
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 3)	2 (1; 5)	5 (4; 8)	8 (6; 14)	10,5 (9; 14)	12,5 (10; 17)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg									
média ± DP	0,7 ± 0,8	2 ± 0,9	3,4 ± 1,1	4,5 ± 0,7	6,4 ± 1,3	7,9 ± 1,7			
mediana (mín.; máx.)	0,5 (0; 2)	2 (0; 4)	4 (2; 5)	4 (4; 6)	6 (4; 8)	8 (6; 10)			

EEG com distribuição normal e função de ligação identidade, assumindo matriz de correlações AR(1) entre os momentos

A Tabela 1 mostra que o comportamento médio do BBB nos grupos foi estatisticamente diferente ao longo dos momentos de avaliação ($p_{\text{Interação}} < 0,001$).

Tabela 2 - Resultado das comparações múltiplas do BBB entre grupos e momentos avaliados

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	P	IC (95%)	
					Inferior	Superior
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	1 semana - 2 semanas	-0,90	0,44	>0,999	-2,69	0,89
	1 semana - 3 semanas	-2,30	0,56	0,041	-4,57	-0,03
	1 semana - 4 semanas	-3,80	0,62	<0,001	-6,32	-1,28
	1 semana - 5 semanas	-7,70	0,65	<0,001	-10,37	-5,03
	1 semana - 6 semanas	-11,00	0,67	<0,001	-13,75	-8,25
	2 semanas - 3 semanas	-1,40	0,44	>0,999	-3,19	0,39
	2 semanas - 4 semanas	-2,90	0,56	<0,001	-5,17	-0,63
	2 semanas - 5 semanas	-6,80	0,62	<0,001	-9,32	-4,28
	2 semanas - 6 semanas	-10,10	0,65	<0,001	-12,77	-7,43
	3 semanas - 4 semanas	-1,50	0,44	0,712	-3,29	0,29
	3 semanas - 5 semanas	-5,40	0,56	<0,001	-7,87	-3,13
	3 semanas - 6 semanas	-8,70	0,62	<0,001	-11,22	-6,18
	4 semanas - 5 semanas	-3,90	0,44	<0,001	-5,89	-2,11
	4 semanas - 6 semanas	-7,20	0,56	<0,001	-9,47	-4,93
	5 semanas - 6 semanas	-3,30	0,44	<0,001	-5,09	-1,51
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	1 semana - 2 semanas	-1,60	0,44	0,301	-3,39	0,19
	1 semana - 3 semanas	-3,50	0,56	<0,001	-5,77	-1,23
	1 semana - 4 semanas	-4,80	0,62	<0,001	-7,32	-2,28
	1 semana - 5 semanas	-6,00	0,65	<0,001	-8,67	-3,33
	1 semana - 6 semanas	-6,70	0,67	<0,001	-9,45	-3,95
	2 semanas - 3 semanas	-1,90	0,44	0,017	-3,69	-0,11
	2 semanas - 4 semanas	-3,20	0,56	<0,001	-5,47	-0,93
	2 semanas - 5 semanas	-4,40	0,62	<0,001	-6,92	-1,88
	2 semanas - 6 semanas	-5,10	0,65	<0,001	-7,77	-2,43
	3 semanas - 4 semanas	-1,30	0,44	>0,999	-3,09	0,49
	3 semanas - 5 semanas	-2,50	0,56	0,008	-4,77	-0,23
	3 semanas - 6 semanas	-3,20	0,62	<0,001	-5,72	-0,68
	4 semanas - 5 semanas	-1,20	0,44	>0,999	-2,99	0,59
	4 semanas - 6 semanas	-1,90	0,56	0,730	-4,17	0,37
	5 semanas - 6 semanas	-0,70	0,44	>0,999	-2,49	1,09
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	1 semana - 2 semanas	-1,10	0,44	>0,999	-2,89	0,69
	1 semana - 3 semanas	-4,60	0,56	<0,001	-6,87	-2,33
	1 semana - 4 semanas	-6,60	0,62	<0,001	-9,12	-4,08
	1 semana - 5 semanas	-8,50	0,65	<0,001	-11,17	-5,83
	1 semana - 6 semanas	-9,80	0,67	<0,001	-12,55	-7,05
	2 semanas - 3 semanas	-3,50	0,44	<0,001	-5,29	-1,71
	2 semanas - 4 semanas	-5,50	0,56	<0,001	-7,77	-3,23
	2 semanas - 5 semanas	-7,40	0,62	<0,001	-9,92	-4,88
	2 semanas - 6 semanas	-8,70	0,65	<0,001	-11,37	-6,03
	3 semanas - 4 semanas	-2,00	0,44	0,006	-3,79	-0,21
	3 semanas - 5 semanas	-3,90	0,56	<0,001	-6,17	-1,63
	3 semanas - 6 semanas	-5,20	0,62	<0,001	-7,72	-2,68
	4 semanas - 5 semanas	-1,90	0,44	0,017	-3,69	-0,11
	4 semanas - 6 semanas	-3,20	0,56	<0,001	-5,47	-0,93
	5 semanas - 6 semanas	-1,30	0,44	>0,999	-3,09	0,49
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	1 semana - 2 semanas	-1,50	0,44	0,712	-3,29	0,29
	1 semana - 3 semanas	-3,20	0,56	<0,001	-5,47	-0,93
	1 semana - 4 semanas	-4,40	0,62	<0,001	-6,92	-1,88
	1 semana - 5 semanas	-6,30	0,65	<0,001	-8,97	-3,63
	1 semana - 6 semanas	-7,30	0,67	<0,001	-10,05	-4,55
	2 semanas - 3 semanas	-1,70	0,44	0,121	-3,49	0,09
	2 semanas - 4 semanas	-2,90	0,56	<0,001	-5,17	-0,63
	2 semanas - 5 semanas	-4,80	0,62	<0,001	-7,32	-2,28
	2 semanas - 6 semanas	-5,80	0,65	<0,001	-8,47	-3,13
	3 semanas - 4 semanas	-1,20	0,44	>0,999	-2,99	0,59
	3 semanas - 5 semanas	-3,10	0,56	<0,001	-5,37	-0,63
	3 semanas - 6 semanas	-4,10	0,62	<0,001	-6,62	-1,58
	4 semanas - 5 semanas	-1,90	0,44	0,017	-3,69	-0,11
	4 semanas - 6 semanas	-2,90	0,56	<0,001	-5,17	-0,63
	5 semanas - 6 semanas	-1,00	0,44	>0,999	-2,79	0,79

continua

continuação

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	P	IC (95%)	
					Inferior	Superior
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	1 semana - 2 semanas	-1,90	0,44	0,017	-3,89	-0,11
	1 semana - 3 semanas	-4,30	0,56	<0,001	-6,57	-2,03
	1 semana - 4 semanas	-8,60	0,62	<0,001	-11,12	-6,08
	1 semana - 5 semanas	-11,40	0,65	<0,001	-14,07	-8,73
	1 semana - 6 semanas	-14,00	0,67	<0,001	-16,75	-11,25
	2 semanas - 3 semanas	-2,40	0,44	<0,001	-4,19	-0,61
	2 semanas - 4 semanas	-6,70	0,56	<0,001	-8,97	-4,43
	2 semanas - 5 semanas	-9,50	0,62	<0,001	-12,02	-6,98
	2 semanas - 6 semanas	-12,10	0,65	<0,001	-14,77	-9,43
	3 semanas - 4 semanas	-4,30	0,44	<0,001	-6,09	-2,51
	3 semanas - 5 semanas	-7,10	0,56	<0,001	-9,37	-4,83
	3 semanas - 6 semanas	-9,70	0,62	<0,001	-12,22	-7,18
	4 semanas - 5 semanas	-2,80	0,44	<0,001	-4,59	-1,01
	4 semanas - 6 semanas	-5,40	0,56	<0,001	-7,67	-3,13
	5 semanas - 6 semanas	-2,60	0,44	<0,001	-4,39	-0,81
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	1 semana - 2 semanas	-1,10	0,44	>0,999	-2,89	0,69
	1 semana - 3 semanas	-4,20	0,56	<0,001	-6,47	-1,93
	1 semana - 4 semanas	-8,00	0,62	<0,001	-10,52	-5,48
	1 semana - 5 semanas	-7,80	0,65	<0,001	-10,47	-5,13
	1 semana - 6 semanas	-9,30	0,67	<0,001	-12,05	-6,55
	2 semanas - 3 semanas	-3,10	0,44	<0,001	-4,89	-1,31
	2 semanas - 4 semanas	-4,90	0,56	<0,001	-7,17	-2,63
	2 semanas - 5 semanas	-6,70	0,62	<0,001	-9,22	-4,18
	2 semanas - 6 semanas	-8,20	0,65	<0,001	-10,87	-5,53
	3 semanas - 4 semanas	-1,80	0,44	0,046	-3,59	-0,01
	3 semanas - 5 semanas	-3,60	0,56	<0,001	-5,87	-1,33
	3 semanas - 6 semanas	-5,10	0,62	<0,001	-7,62	-2,58
	4 semanas - 5 semanas	-1,80	0,44	0,046	-3,59	-0,01
	4 semanas - 6 semanas	-3,30	0,56	<0,001	-5,57	-1,03
	5 semanas - 6 semanas	-1,50	0,44	0,712	-3,29	0,29
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1 semana - 2 semanas	-1,90	0,44	0,017	-3,89	-0,11
	1 semana - 3 semanas	-4,40	0,56	<0,001	-6,67	-2,13
	1 semana - 4 semanas	-7,60	0,62	<0,001	-10,12	-5,08
	1 semana - 5 semanas	-9,90	0,65	<0,001	-12,57	-7,23
	1 semana - 6 semanas	-12,40	0,67	<0,001	-15,15	-9,65
	2 semanas - 3 semanas	-2,50	0,44	<0,001	-4,29	-0,71
	2 semanas - 4 semanas	-5,70	0,56	<0,001	-7,97	-3,43
	2 semanas - 5 semanas	-8,00	0,62	<0,001	-10,52	-5,48
	2 semanas - 6 semanas	-10,50	0,65	<0,001	-13,17	-7,83
	3 semanas - 4 semanas	-3,20	0,44	<0,001	-4,99	-1,41
	3 semanas - 5 semanas	-5,50	0,56	<0,001	-7,77	-3,23
	3 semanas - 6 semanas	-8,00	0,62	<0,001	-10,52	-5,48
	4 semanas - 5 semanas	-2,30	0,44	<0,001	-4,09	-0,51
	4 semanas - 6 semanas	-4,80	0,56	<0,001	-7,07	-2,53
	5 semanas - 6 semanas	-2,50	0,44	<0,001	-4,29	-0,71
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1 semana - 2 semanas	-1,30	0,44	>0,999	-3,09	0,49
	1 semana - 3 semanas	-2,70	0,56	0,001	-4,97	-0,43
	1 semana - 4 semanas	-3,80	0,62	<0,001	-6,32	-1,28
	1 semana - 5 semanas	-5,70	0,65	<0,001	-8,37	-3,03
	1 semana - 6 semanas	-7,20	0,67	<0,001	-9,95	-4,45
	2 semanas - 3 semanas	-1,40	0,44	>0,999	-3,19	0,39
	2 semanas - 4 semanas	-2,50	0,56	0,008	-4,77	-0,23
	2 semanas - 5 semanas	-4,40	0,62	<0,001	-6,92	-1,88
	2 semanas - 6 semanas	-5,90	0,65	<0,001	-8,57	-3,23
	3 semanas - 4 semanas	-1,10	0,44	>0,999	-2,89	0,69
	3 semanas - 5 semanas	-3,00	0,56	<0,001	-5,27	-0,73
	3 semanas - 6 semanas	-4,50	0,62	<0,001	-7,02	-1,98
	4 semanas - 5 semanas	-1,90	0,44	0,017	-3,89	-0,11
	4 semanas - 6 semanas	-3,40	0,56	<0,001	-5,67	-1,13
	5 semanas - 6 semanas	-1,50	0,44	0,712	-3,29	0,29

continua

continuação

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	P	IC (95%)	
					Inferior	Superior
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	-0,90	0,70	>0,999	-3,77	1,97
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-1,90	0,70	>0,999	-4,77	0,97
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-0,50	0,70	>0,999	-3,37	2,37
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-1,70	0,70	>0,999	-4,57	1,17
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-1,50	0,70	>0,999	-4,37	1,37
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-1,80	0,70	>0,999	-4,67	1,07
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-0,20	0,70	>0,999	-3,07	2,67
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-1,00	0,70	>0,999	-3,87	1,87
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	0,40	0,70	>0,999	-2,47	3,27
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-0,80	0,70	>0,999	-3,67	2,07
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-0,60	0,70	>0,999	-3,47	2,27
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-0,90	0,70	>0,999	-3,77	1,97
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,70	0,70	>0,999	-2,17	3,57
3 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	1,40	0,70	>0,999	-1,47	4,27
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	0,20	0,70	>0,999	-2,67	3,07
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0,40	0,70	>0,999	-2,47	3,27
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,10	0,70	>0,999	-2,77	2,97
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1,70	0,70	>0,999	-1,17	4,57
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-1,20	0,70	>0,999	-4,07	1,67
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-1,00	0,70	>0,999	-3,87	1,87
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-1,30	0,70	>0,999	-4,17	1,57
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,30	0,70	>0,999	-2,57	3,17
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0,20	0,70	>0,999	-2,67	3,07
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-0,10	0,70	>0,999	-2,97	2,77
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1,60	0,70	>0,999	-1,37	4,37
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-0,30	0,70	>0,999	-3,17	2,57
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1,30	0,70	>0,999	-1,57	4,17
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1,60	0,70	>0,999	-1,27	4,47
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	-0,70	0,70	>0,999	-3,57
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-2,40	0,70	0,729	-5,27	0,47
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-0,20	0,70	>0,999	-3,07	2,67
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-4,50	0,70	<0,001	-7,37	-1,63
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-1,80	0,70	>0,999	-4,67	1,07
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-3,50	0,70	0,001	-6,37	-0,63
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,20	0,70	>0,999	-2,67	3,07
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-1,70	0,70	>0,999	-4,57	1,17
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	0,50	0,70	>0,999	-2,37	3,37
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-3,80	0,70	<0,001	-6,67	-0,93
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-1,10	0,70	>0,999	-3,97	1,77
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-2,80	0,70	0,078	-5,67	0,07
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,90	0,70	>0,999	-1,97	3,77
4 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	2,20	0,70	>0,999	-0,67	5,07
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-2,10	0,70	>0,999	-4,97	0,77
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0,60	0,70	>0,999	-2,27	3,47
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-1,10	0,70	>0,999	-3,97	1,77
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	2,60	0,70	0,247	-0,27	5,47
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-4,30	0,70	<0,001	-7,17	-1,43
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-1,60	0,70	>0,999	-4,47	1,27
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-3,30	0,70	0,003	-6,17	-0,43
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,40	0,70	>0,999	-2,47	3,27
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	2,70	0,70	0,140	-0,17	5,57
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1,00	0,70	>0,999	-1,87	3,87
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	4,70	0,70	<0,001	1,83	7,57
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-1,70	0,70	>0,999	-4,57	1,17
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	2,00	0,70	>0,999	-0,87	4,87
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	3,70	0,70	<0,001	0,83	6,57

continua

continuação

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	P	IC (95%)	
					Inferior	Superior
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	2,00	0,70	>0,999	-0,87	4,87
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-0,40	0,70	>0,999	-3,27	2,47
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	1,80	0,70	>0,999	-1,07	4,67
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-3,40	0,70	0,002	-8,27	-0,53
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0,30	0,70	>0,999	-2,57	3,17
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-1,90	0,70	>0,999	-4,77	0,97
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	2,20	0,70	>0,999	-0,67	5,07
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-2,40	0,70	0,729	-5,27	0,47
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-0,20	0,70	>0,999	-3,07	2,67
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-5,40	0,70	<0,001	-8,27	-2,53
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-1,70	0,70	>0,999	-4,57	1,17
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-3,90	0,70	<0,001	-6,77	-1,03
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,20	0,70	>0,999	-2,67	3,07
5 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	2,20	0,70	>0,999	-0,67	5,07
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-3,00	0,70	0,023	-5,87	-0,13
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0,70	0,70	>0,999	-2,17	3,57
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-1,50	0,70	>0,999	-4,37	1,37
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	2,80	0,70	0,247	-0,27	5,47
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-5,20	0,70	<0,001	-8,07	-2,33
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-1,50	0,70	>0,999	-4,37	1,37
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-3,70	0,70	<0,001	-6,57	-0,83
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,40	0,70	>0,999	-2,47	3,27
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	3,70	0,70	<0,001	0,83	6,57
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1,50	0,70	>0,999	-1,37	4,37
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	5,60	0,70	<0,001	2,73	8,47
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-2,20	0,70	>0,999	-5,07	0,67
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1,90	0,70	>0,999	-0,97	4,77
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	4,10	0,70	<0,001	1,23	6,97
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	4,60	0,70	<0,001	1,73	7,47
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	1,80	0,70	>0,999	-1,27	4,47
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	4,10	0,70	<0,001	1,23	6,97
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-2,70	0,70	0,140	-5,57	0,17
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	2,10	0,70	>0,999	-0,77	4,97
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-1,10	0,70	>0,999	-3,97	1,77
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	4,00	0,70	<0,001	1,13	6,87
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-3,00	0,70	0,023	-5,87	-0,13
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-0,50	0,70	>0,999	-3,37	2,37
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-7,30	0,70	<0,001	-10,17	-4,43
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-2,50	0,70	0,429	-5,37	0,37
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-5,70	0,70	<0,001	-8,57	-2,83
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-0,80	0,70	>0,999	-3,47	2,27
6 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	2,50	0,70	0,429	-0,37	5,37
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-4,30	0,70	<0,001	-7,17	-1,43
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0,50	0,70	>0,999	-2,37	3,37
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-2,70	0,70	0,140	-5,57	0,17
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	2,40	0,70	0,729	-0,47	5,27
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-6,80	0,70	<0,001	-9,67	-3,93
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-2,00	0,70	>0,999	-4,87	0,87
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-5,20	0,70	<0,001	-8,07	-2,33
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-0,10	0,70	>0,999	-2,97	2,77
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	4,80	0,70	<0,001	1,93	7,67
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1,60	0,70	>0,999	-1,27	4,47
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	6,70	0,70	<0,001	3,83	9,57
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-3,20	0,70	0,006	-6,07	-0,33
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1,90	0,70	>0,999	-0,97	4,77
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	5,10	0,70	<0,001	2,23	7,97

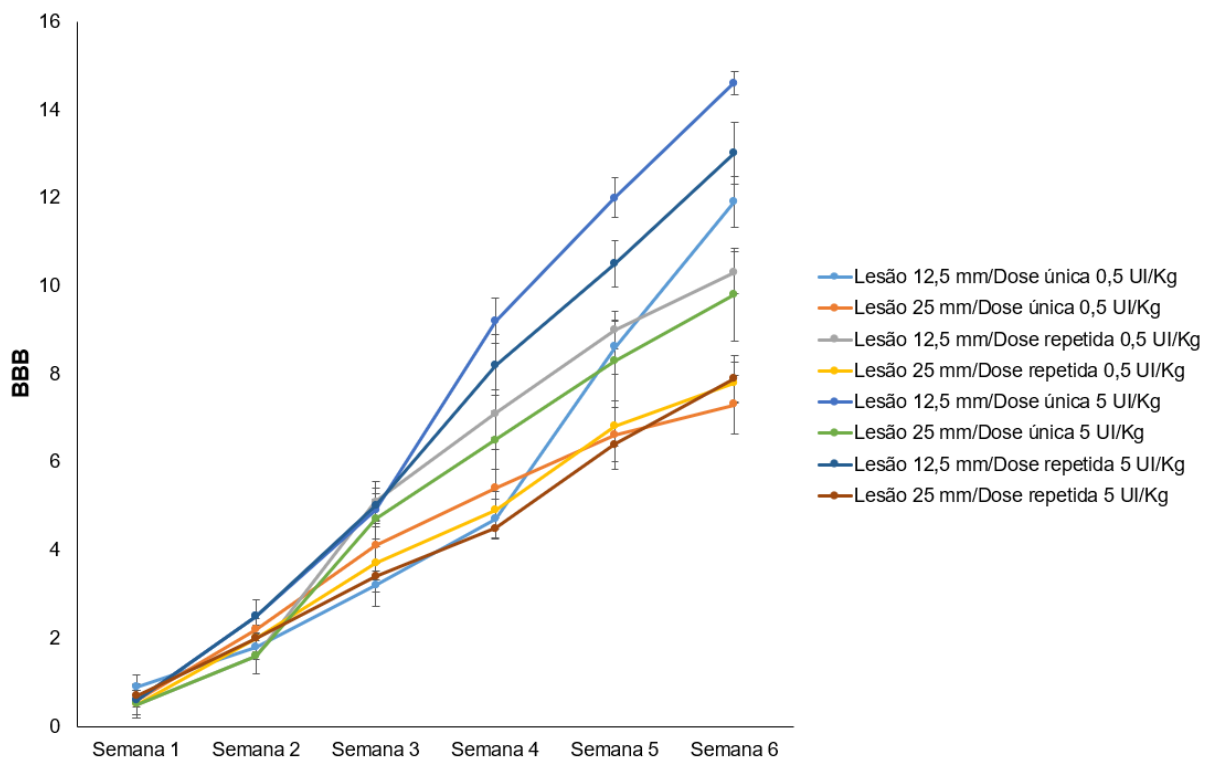
Comparações múltiplas de Bonferroni

conclusão

A Tabela 2 mostra que, num geral, houve aumento do BBB com o passar das semanas em todos os grupos ($p < 0,05$), porém, a partir da 4ª semana o grupo com lesão 12,5 mm/Dose única 5.000 UI/Kg e o grupo 12,5 mm/Dose repetida 5.000 UI/Kg começaram a apresentar em média estatisticamente maior BBB que os demais grupos ($p < 0,05$), sendo que na 6ª semana os grupos com lesão 12,5 mm,

independente da dose, apresentaram maior BBB que os grupos com lesão 25 mm ($p < 0,05$).

Gráfico 1 - Avaliação pela escala BBB ao longo de seis semanas



Avaliação pela escala BBB ao longo de seis semanas. A partir da quarta semana, dentre os animais que sofreram lesão com altura de 12,5 mm, os grupos que receberam a maior dose de EPO (5.000 UI/Kg) apresentaram maior pontuação quando comparados aos grupos que receberam menor dose (500 UI/Kg), entretanto não houve diferença entre os grupos que receberam a mesma dose no resultado quando se repetia a administração da EPOrh após uma semana. Na quinta semana esse padrão se manteve e embora com menor margem, ainda possuía significância estatística. Na sexta semana de pós-operatório, embora houvesse diferença, já não houve mais significância estatística e os grupos que sofreram queda 25 mm de altura mostraram piores resultados, independente da dose administrada e repetição desta.

Tabela 3 - Descrição dos pesos dos animais segundo grupos no início e ao final do estudo e resultado das comparações

Variável	Momento		P Grupo	P Momento	P Interação
	Inicial	Final			
Peso			<0,001	0,311	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg					
média ± DP	341,3 ± 42,4	399,1 ± 70,8			
mediana (mín.; máx.)	343,5 (267; 412)	383 (324; 554)			
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg					
média ± DP	393,9 ± 53,5	330,2 ± 55,2			
mediana (mín.; máx.)	399 (332; 455)	332 (243; 432)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg					
média ± DP	340,6 ± 49,7	350,9 ± 28,6			
mediana (mín.; máx.)	323,5 (301; 467)	350 (301; 389)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg					
média ± DP	322,2 ± 12,9	292,3 ± 24,7			
mediana (mín.; máx.)	321 (300; 345)	293 (245; 325)			
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg					
média ± DP	393,9 ± 53,5	368,2 ± 71,6			
mediana (mín.; máx.)	399 (332; 455)	361,5 (234; 491)			
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg					
média ± DP	340,6 ± 49,7	331,1 ± 23,3			
mediana (mín.; máx.)	323,5 (301; 467)	322,5 (295; 367)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg					
média ± DP	353,3 ± 17,7	372,6 ± 18,1			
mediana (mín.; máx.)	355 (327; 388)	371 (346; 398)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg					
média ± DP	340,6 ± 49,7	333,8 ± 25,2			
mediana (mín.; máx.)	323,5 (301; 467)	325 (298; 368)			

EEG com distribuição normal e função de ligação identidade, assumindo matriz de correlações AR(1) entre os momentos

Pela tabela 3, tem-se que o peso médio dos animais apresentou comportamento dos grupos estatisticamente diferente ao longo do estudo ($p_{\text{Interação}} < 0,001$).

Tabela 4 - Resultado das comparações múltiplas do peso entre grupos e momentos avaliados

Grupo/Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	P	IC (95%)		
					Inferior	Superior	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	Inicial - Final	-57,8	16,8	0,070	-117,1	1,5	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	Inicial - Final	63,7	16,8	0,018	4,4	123,0	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	Inicial - Final	-10,3	16,8	>0,999	-69,6	49,0	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	Inicial - Final	29,9	16,8	>0,999	-29,4	89,2	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	Inicial - Final	25,7	16,8	>0,999	-33,6	85,0	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	Inicial - Final	9,5	16,8	>0,999	-49,8	68,8	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	Inicial - Final	-19,3	16,8	>0,999	-78,6	40,0	
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	Inicial - Final	6,8	16,8	>0,999	-52,5	66,1	
Inicial	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	-52,6	19,9	0,968	-122,7	17,5	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	0,7	19,9	>0,999	-69,4	70,8	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	19,1	19,9	>0,999	-51,0	89,2	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-52,6	19,9	0,968	-122,7	17,5	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0,7	19,9	>0,999	-69,4	70,8	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-12,0	19,9	>0,999	-82,1	58,1	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,7	19,9	>0,999	-69,4	70,8	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	53,3	19,9	0,872	-16,8	123,4	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	71,7	19,9	0,037	1,6	141,8	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	0,0	19,9	>0,999	-70,1	70,1	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	53,3	19,9	0,872	-16,8	123,4	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	40,6	19,9	>0,999	-29,5	110,7	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	53,3	19,9	0,872	-16,8	123,4	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	18,4	19,9	>0,999	-51,7	88,5	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-53,4	19,9	0,872	-123,4	16,8	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0,0	19,9	>0,999	-70,1	70,1	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-12,7	19,9	>0,999	-82,8	57,4	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,0	19,9	>0,999	-70,1	70,1	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	-71,7	19,9	0,037	-141,8	-1,6	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	-18,4	19,9	>0,999	-88,5	51,7	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-31,1	19,9	>0,999	-101,2	39,0	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-18,4	19,9	>0,999	-88,5	51,7	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	53,3	19,9	0,872	-16,8	123,4	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	40,6	19,9	>0,999	-29,5	110,7	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	53,3	19,9	0,872	-16,8	123,4	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	-12,7	19,9	>0,999	-82,8	57,4	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0,0	19,9	>0,999	-70,1	70,1	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	12,7	19,9	>0,999	-57,4	82,8	
	Final	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	68,9	19,9	0,062	-1,2	139,0
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	48,2	19,9	>0,999	-21,9	118,3
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	106,8	19,9	<0,001	36,7	176,9
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	30,9	19,9	>0,999	-39,2	101,0
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	68,0	19,9	0,074	-2,1	138,1
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	26,5	19,9	>0,999	-43,6	96,6
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	65,3	19,9	0,121	-4,8	135,4
		Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	-20,7	19,9	>0,999	-90,8	49,4
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg		37,9	19,9	>0,999	-32,2	108,0	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg		-38,0	19,9	>0,999	-108,1	32,1	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg		-0,9	19,9	>0,999	-71,0	69,2	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		-42,4	19,9	>0,999	-112,5	27,7	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		-3,6	19,9	>0,999	-73,7	66,5	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg		58,6	19,9	0,380	-11,5	128,7	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg		-17,3	19,9	>0,999	-87,4	52,8	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg		19,8	19,9	>0,999	-50,3	89,9	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		-21,7	19,9	>0,999	-91,8	48,4	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		17,1	19,9	>0,999	-53,0	87,2	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg		-75,9	19,9	0,016	-146,0	-5,8	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg		-38,8	19,9	>0,999	-108,9	31,3	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		-80,3	19,9	0,006	-150,4	-10,2	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		-41,5	19,9	>0,999	-111,6	28,6	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg		37,1	19,9	>0,999	-33,0	107,2	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		-4,4	19,9	>0,999	-74,5	65,7	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		34,4	19,9	>0,999	-35,7	104,5	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		-41,5	19,9	>0,999	-111,6	28,6	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		-2,7	19,9	>0,999	-72,8	67,4	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		38,8	19,9	>0,999	-31,3	108,9	

Comparações múltiplas de Bonferroni

A tabela 4 mostra que apenas no grupo lesão 25 mm/dose única 500 UI/Kg houve redução média do peso do início para o final do estudo ($p = 0,018$), no início o grupo lesão 25 mm/dose repetida 500 UI/Kg apresentou em média maior peso que os ratos do grupo lesão 25 mm/dose única 500 UI/Kg ($p = 0,037$) e menor peso que os ratos do grupo lesão 12,5 mm/dose única 5.000 UI/Kg ($p = 0,037$), já ao final do estudo os ratos do grupo lesão 25 mm/dose repetida 500 UI/Kg apresentaram em média menor peso que os ratos dos grupos lesão 12,5 mm/dose

única 500 UI/Kg, lesão 12,5 mm/dose única 5.000 UI/Kg e lesão 12,5 mm/dose repetida 5.000 UI/Kg ($p < 0,05$).

Tabela 5 - Descrição dos passos e acertos dos animais segundo grupos e momentos de avaliação e resultado das comparações

Variável	Momento				P Grupo	P Momento	P Interação
	Pré-op.	2 semanas	4 semanas	6 semanas			
Passos					<0,001	<0,001	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg							
média ± DP	43 ± 1,7	4,6 ± 1,4	6,6 ± 1,1	13,8 ± 1,5			
mediana (mín.; máx.)	43 (40; 46)	4 (2; 6)	6 (5; 8)	14 (12; 16)			
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg							
média ± DP	42,3 ± 1,3	2,2 ± 1,1	6 ± 1,4	12,3 ± 1,6			
mediana (mín.; máx.)	42 (40; 44)	2 (1; 4)	6 (4; 8)	12 (10; 15)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg							
média ± DP	40,5 ± 2,5	1,4 ± 0,8	3,1 ± 0,7	13,3 ± 1,9			
mediana (mín.; máx.)	40 (37; 44)	1 (0; 3)	3 (2; 4)	13,5 (10; 16)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg							
média ± DP	41,8 ± 2,2	3 ± 1,1	10 ± 2,1	12 ± 1,1			
mediana (mín.; máx.)	42,5 (38; 44)	3 (2; 4)	10 (6; 12)	12 (11; 14)			
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg							
média ± DP	43,6 ± 1,2	0,9 ± 0,6	11,4 ± 1,9	14,6 ± 1,9			
mediana (mín.; máx.)	44 (41; 45)	1 (0; 2)	12 (8; 14)	14 (12; 18)			
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg							
média ± DP	44,8 ± 4,5	1,5 ± 0,7	8,2 ± 1,8	11,9 ± 1,4			
mediana (mín.; máx.)	44,5 (38; 53)	2 (0; 2)	8 (6; 10)	12 (10; 14)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg							
média ± DP	41,2 ± 3	4,1 ± 1,7	10,6 ± 1,9	14,4 ± 1,3			
mediana (mín.; máx.)	41 (36; 46)	4 (1; 6)	10 (8; 14)	14 (12; 16)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg							
média ± DP	40,6 ± 2,4	0,7 ± 0,8	1,2 ± 1,2	8 ± 1,3			
mediana (mín.; máx.)	41 (37; 44)	0,5 (0; 2)	1 (0; 3)	8 (6; 10)			
Acertos*					<0,001	<0,001	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg							
média ± DP	96,7 ± 2	70,8 ± 14,8	80,6 ± 5,1	87,7 ± 3,2			
mediana (mín.; máx.)	95,5 (95; 100)	70,8 (50; 100)	83,3 (71,4; 87,5)	86,6 (83,3; 92,9)			
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg							
média ± DP	95,7 ± 1,5	45,8 ± 30,2	75,4 ± 15,6	81,2 ± 10,1			
mediana (mín.; máx.)	95,3 (92,9; 97,7)	50 (0; 100)	83,3 (50; 87,5)	81,7 (66,7; 100)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg							
média ± DP	95,3 ± 0,7	38,3 ± 39,3	50,8 ± 14,9	84,4 ± 5,3			
mediana (mín.; máx.)	95,1 (94,7; 97,3)	41,7 (0; 100)	50 (33,3; 75)	85,2 (73,3; 91,7)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg							
média ± DP	96,6 ± 2,5	57,5 ± 12,1	85,4 ± 5,9	87,6 ± 6,8			
mediana (mín.; máx.)	97,6 (92,1; 100)	50 (50; 75)	85,4 (75; 91,7)	89,9 (72,7; 92,3)			
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg							
média ± DP	96,1 ± 2,6	55 ± 49,7	74,4 ± 12	86,3 ± 6,2			
mediana (mín.; máx.)	95,5 (90,9; 100)	75 (0; 100)	80 (50; 85,7)	85,7 (75; 100)			
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg							
média ± DP	96,2 ± 2,3	45 ± 36,9	78,8 ± 6,3	81,4 ± 6			
mediana (mín.; máx.)	95,6 (93,2; 100)	50 (0; 100)	80 (66,7; 90)	83,3 (71,4; 92,9)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg							
média ± DP	97,6 ± 2,5	64,2 ± 17,6	81,4 ± 9,6	84,3 ± 5,3			
mediana (mín.; máx.)	97,7 (95; 100)	58,3 (50; 100)	83,3 (60; 91,7)	85,7 (75; 91,7)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg							
média ± DP	95,6 ± 2,7	20 ± 35	11,7 ± 19,3	64,4 ± 23,5			
mediana (mín.; máx.)	95,2 (90,9; 100)	0 (0; 100)	0 (0; 50)	70,8 (16,7; 90)			

EEG com distribuição Poisson e função de ligação identidade, assumindo matriz de correlações AR(1) entre os momentos; * Mesmo modelo com número de passos como limitador dos acertos

Tabela 6 - Descrição dos escorregões e erros dos animais segundo grupos e momentos de avaliação e resultado das comparações

Variável	Momento				P Grupo	P Momento	P Interação
	Pré-op.	2 semanas	4 semanas	6 semanas			
Escorregões					0,041	<0,001	0,105
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg							
média ± DP	1,9 ± 1,5	16,7 ± 9,6	13,8 ± 5,4	6,6 ± 2,4			
mediana (mín.; máx.)	2,3 (0; 4,8)	16,7 (0; 25)	15,5 (0; 20)	7,1 (0; 8,3)			
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg							
média ± DP	1,9 ± 1	44,2 ± 29,9	15,1 ± 8,7	11,5 ± 5,9			
mediana (mín.; máx.)	2,4 (0; 2,5)	50 (0; 100)	16,7 (0; 25)	11,7 (0; 20)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg							
média ± DP	2,7 ± 1,4	35 ± 47,4	41,7 ± 22,2	7,4 ± 4,6			
mediana (mín.; máx.)	2,5 (0; 5)	0 (0; 100)	41,7 (0; 66,7)	7,7 (0; 14,3)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg							
média ± DP	2 ± 1,6	30 ± 23	8,8 ± 5,3	7,6 ± 5,1			
mediana (mín.; máx.)	2,3 (0; 5,3)	37,5 (0; 50)	10 (0; 16,7)	8,3 (0; 18,2)			
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg							
média ± DP	1,8 ± 2,1	25 ± 42,5	15,4 ± 6,4	7,5 ± 3,5			
mediana (mín.; máx.)	2,2 (0; 6,8)	0 (0; 100)	16,7 (7,1; 25)	7,1 (0; 12,5)			
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg							
média ± DP	1,9 ± 1,5	40 ± 31,6	14 ± 4,8	11,1 ± 6,1			
mediana (mín.; máx.)	2,2 (0; 4,4)	50 (0; 100)	12,5 (10; 25)	9,2 (0; 20)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg							
média ± DP	2,4 ± 2,5	24,2 ± 17,3	11 ± 5,9	8,2 ± 3,8			
mediana (mín.; máx.)	2,3 (0; 5)	25 (0; 50)	10 (0; 20)	7,1 (0; 12,5)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg							
média ± DP	3,6 ± 2,8	25 ± 42,5	30 ± 42,9	19 ± 11,1			
mediana (mín.; máx.)	3,6 (0; 9,1)	0 (0; 100)	0 (0; 100)	17,4 (0; 33,3)			
Erros					0,707	<0,001	0,189
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg							
média ± DP	1,4 ± 1,2	12,5 ± 16,3	5,6 ± 7,3	5,7 ± 3			
mediana (mín.; máx.)	2,2 (0; 2,5)	8,3 (0; 50)	0 (0; 16,7)	7,1 (0; 8,3)			
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg							
média ± DP	2,4 ± 1,1	10 ± 31,6	9,5 ± 10,9	8,1 ± 6,4			
mediana (mín.; máx.)	2,4 (0; 4,8)	0 (0; 100)	6,3 (0; 25)	8,8 (0; 16,7)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg							
média ± DP	2 ± 1,1	16,7 ± 27,2	7,5 ± 12,1	7,5 ± 4,6			
mediana (mín.; máx.)	2,4 (0; 2,7)	0 (0; 66,7)	0 (0; 25)	7,7 (0; 13,3)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg							
média ± DP	1,4 ± 1,7	15 ± 17,5	5,8 ± 5,1	5,7 ± 5,2			
mediana (mín.; máx.)	1,1 (0; 4,7)	12,5 (0; 50)	8,3 (0; 12,5)	7,7 (0; 14,3)			
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg							
média ± DP	2,1 ± 1,7	0 ± 0	10,3 ± 8,1	5 ± 3,5			
mediana (mín.; máx.)	2,3 (0; 4,5)	0 (0; 0)	8,3 (0; 25)	6,7 (0; 8,3)			
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg							
média ± DP	1,8 ± 1,9	5 ± 15,8	7,2 ± 6,5	7,5 ± 5,9			
mediana (mín.; máx.)	1,9 (0; 5,3)	0 (0; 50)	10 (0; 16,7)	8,3 (0; 16,7)			
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg							
média ± DP	0 ± 0	16,7 ± 20,4	7,6 ± 7,3	7,5 ± 4,8			
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 0)	8,3 (0; 50)	8,3 (0; 20)	7,1 (0; 14,3)			
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg							
média ± DP	0,8 ± 1,3	5 ± 15,8	18,3 ± 33,7	16,6 ± 14,3			
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 2,7)	0 (0; 50)	0 (0; 100)	11,8 (0; 50)			

EEG com distribuição Poisson e função de ligação identidade, assumindo matriz de correlações AR(1) entre os momentos com número de passos como limitador dos escorregões e erros

As tabelas 5 e 6 mostram que os passos e os acertos avaliados no plano horizontal apresentaram comportamento médio estatisticamente diferente dos grupos ao longo dos momentos de avaliação ($p_{\text{Interação}} < 0,05$). Os escorregões em média entre os grupos independente dos momentos de avaliação ($p_{\text{Grupo}} = 0,041$) e entre os momentos independente do grupo ($p_{\text{momento}} < 0,001$), já os erros só diferiram ao longo dos momentos, independente do grupo ($p_{\text{momento}} < 0,001$).

Tabela 7 - Resultado das comparações múltiplas dos passos entre grupos e momentos avaliados

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	p	IC (95%)	
					Inferior	Superior
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	38,40	0,79	<0,001	35,34	41,46
	Pré-op. - 4 semanas	36,40	0,79	<0,001	33,35	39,45
	Pré-op. - 6 semanas	29,20	0,79	<0,001	26,15	32,25
	2 semanas - 4 semanas	-2,00	0,79	>0,999	-5,06	1,06
	2 semanas - 6 semanas	-9,20	0,79	<0,001	-12,25	-6,15
	4 semanas - 6 semanas	-7,20	0,79	<0,001	-10,26	-4,14
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	40,10	0,79	<0,001	37,04	43,16
	Pré-op. - 4 semanas	36,30	0,79	<0,001	33,25	39,35
	Pré-op. - 6 semanas	30,00	0,79	<0,001	26,95	33,05
	2 semanas - 4 semanas	-3,80	0,79	0,001	-6,86	-0,74
	2 semanas - 6 semanas	-10,10	0,79	<0,001	-13,15	-7,05
	4 semanas - 6 semanas	-6,30	0,79	<0,001	-9,36	-3,24
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	39,10	0,79	<0,001	36,04	42,16
	Pré-op. - 4 semanas	37,40	0,79	<0,001	34,35	40,45
	Pré-op. - 6 semanas	27,20	0,79	<0,001	24,15	30,25
	2 semanas - 4 semanas	-1,70	0,79	>0,999	-4,76	1,36
	2 semanas - 6 semanas	-11,90	0,79	<0,001	-14,95	-8,85
	4 semanas - 6 semanas	-10,20	0,79	<0,001	-13,26	-7,14
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	38,80	0,79	<0,001	35,74	41,86
	Pré-op. - 4 semanas	31,80	0,79	<0,001	28,75	34,85
	Pré-op. - 6 semanas	29,80	0,79	<0,001	26,75	32,85
	2 semanas - 4 semanas	-7,00	0,79	<0,001	-10,06	-3,94
	2 semanas - 6 semanas	-9,00	0,79	<0,001	-12,05	-5,95
	4 semanas - 6 semanas	-2,00	0,79	>0,999	-5,06	1,06
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	42,70	0,79	<0,001	39,64	45,76
	Pré-op. - 4 semanas	32,20	0,79	<0,001	29,15	35,25
	Pré-op. - 6 semanas	29,00	0,79	<0,001	25,95	32,05
	2 semanas - 4 semanas	-10,50	0,79	<0,001	-13,56	-7,44
	2 semanas - 6 semanas	-13,70	0,79	<0,001	-16,75	-10,65
	4 semanas - 6 semanas	-3,20	0,79	0,023	-6,26	-0,14
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	43,30	0,79	<0,001	40,24	46,36
	Pré-op. - 4 semanas	36,60	0,79	<0,001	33,55	39,65
	Pré-op. - 6 semanas	32,90	0,79	<0,001	29,85	35,95
	2 semanas - 4 semanas	-6,70	0,79	<0,001	-9,76	-3,64
	2 semanas - 6 semanas	-10,40	0,79	<0,001	-13,45	-7,35
	4 semanas - 6 semanas	-3,70	0,79	0,001	-6,76	-0,64
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	37,10	0,79	<0,001	34,04	40,16
	Pré-op. - 4 semanas	30,60	0,79	<0,001	27,55	33,65
	Pré-op. - 6 semanas	26,80	0,79	<0,001	23,75	29,85
	2 semanas - 4 semanas	-6,50	0,79	<0,001	-9,56	-3,44
	2 semanas - 6 semanas	-10,30	0,79	<0,001	-13,35	-7,25
	4 semanas - 6 semanas	-3,80	0,79	0,001	-6,86	-0,74
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	39,90	0,79	<0,001	36,84	42,96
	Pré-op. - 4 semanas	39,40	0,79	<0,001	36,35	42,45
	Pré-op. - 6 semanas	32,60	0,79	<0,001	29,55	35,65
	2 semanas - 4 semanas	-0,50	0,79	>0,999	-3,56	2,56
	2 semanas - 6 semanas	-7,30	0,79	<0,001	-10,35	-4,25
	4 semanas - 6 semanas	-6,80	0,79	<0,001	-9,86	-3,74

continua

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	p	IC (95%)		
					Inferior	Superior	
Pré-op.	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	0,70	0,79	>0,999	-2,35	3,75	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	2,50	0,79	0,721	-0,55	5,55	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	1,20	0,79	>0,999	-1,85	4,25	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,60	0,79	>0,999	-3,65	2,45	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-1,80	0,79	>0,999	-4,85	1,25	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,80	0,79	>0,999	-1,25	4,85	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	2,40	0,79	>0,999	-0,65	5,45	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	1,80	0,79	>0,999	-1,25	4,85	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	0,50	0,79	>0,999	-2,55	3,55	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-1,30	0,79	>0,999	-4,35	1,75	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-2,50	0,79	0,721	-5,55	0,55	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,10	0,79	>0,999	-1,95	4,15	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,70	0,79	>0,999	-1,35	4,75	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-1,30	0,79	>0,999	-4,35	1,75	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-3,10	0,79	0,039	-6,15	-0,05	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-4,30	0,79	<0,001	-7,35	-1,25	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,70	0,79	>0,999	-3,75	2,35	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,10	0,79	>0,999	-3,15	2,95	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-1,80	0,79	>0,999	-4,85	1,25	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-3,00	0,79	0,066	-6,05	0,05	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,60	0,79	>0,999	-2,45	3,65	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,20	0,79	>0,999	-1,85	4,25	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-1,20	0,79	>0,999	-4,25	1,85	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	2,40	0,79	>0,999	-0,65	5,45	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	3,00	0,79	0,066	-0,05	6,05	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	3,60	0,79	0,002	0,55	6,65	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	4,20	0,79	<0,001	1,15	7,25	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,60	0,79	>0,999	-2,45	3,65	
	2 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	2,40	0,79	>0,999	-0,65	5,45
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	3,20	0,79	0,023	0,15	6,25
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	1,60	0,79	>0,999	-1,45	4,65
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	3,70	0,79	0,001	0,65	6,75
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	3,10	0,79	0,039	0,05	6,15
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,50	0,79	>0,999	-2,55	3,55
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	3,90	0,79	<0,001	0,85	6,95
		Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	0,80	0,79	>0,999	-2,25	3,85
		Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,80	0,79	>0,999	-3,85	2,25
		Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	1,30	0,79	>0,999	-1,75	4,35
		Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,70	0,79	>0,999	-2,35	3,75
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-1,90	0,79	>0,999	-4,95	1,15	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		1,50	0,79	>0,999	-1,55	4,55	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		-1,60	0,79	>0,999	-4,65	1,45	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		0,50	0,79	>0,999	-2,55	3,55	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-0,10	0,79	>0,999	-3,15	2,95	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-2,70	0,79	0,290	-5,75	0,35	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		0,70	0,79	>0,999	-2,35	3,75	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		2,10	0,79	>0,999	-0,95	5,15	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		1,50	0,79	>0,999	-1,55	4,55	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-1,10	0,79	>0,999	-4,15	1,95	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		2,30	0,79	>0,999	-0,75	5,35	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-0,60	0,79	>0,999	-3,65	2,45	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-3,20	0,79	0,023	-6,25	-0,15	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		0,20	0,79	>0,999	-2,85	3,25	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-2,60	0,79	0,461	-5,65	0,45	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		0,80	0,79	>0,999	-2,25	3,85	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		3,40	0,79	0,007	0,35	6,45	

continua

continuação

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	p	IC (95%)		
					Inferior	Superior	
4 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	0,60	0,79	>0,999	-2,45	3,65	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	3,50	0,79	0,004	0,45	6,55	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-3,40	0,79	0,007	-6,45	-0,35	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-4,80	0,79	<0,001	-7,85	-1,75	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-1,60	0,79	>0,999	-4,65	1,45	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-4,00	0,79	<0,001	-7,05	-0,95	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	5,40	0,79	<0,001	2,35	8,45	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	2,90	0,79	0,110	-0,15	5,95	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-4,00	0,79	<0,001	-7,05	-0,95	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-5,40	0,79	<0,001	-8,45	-2,35	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-2,20	0,79	>0,999	-5,25	0,85	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-4,60	0,79	<0,001	-7,65	-1,55	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	4,80	0,79	<0,001	1,75	7,85	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-6,90	0,79	<0,001	-9,95	-3,85	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-8,30	0,79	<0,001	-11,35	-5,25	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-5,10	0,79	<0,001	-8,15	-2,05	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-7,50	0,79	<0,001	-10,55	-4,45	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,90	0,79	>0,999	-1,15	4,95	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-1,40	0,79	>0,999	-4,45	1,65	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	1,80	0,79	>0,999	-1,25	4,85	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,60	0,79	>0,999	-3,65	2,45	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	8,80	0,79	<0,001	5,75	11,85	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	3,20	0,79	0,023	0,15	6,25	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,80	0,79	>0,999	-2,25	3,85	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	10,20	0,79	<0,001	7,15	13,25	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-2,40	0,79	>0,999	-5,45	0,65	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	7,00	0,79	<0,001	3,95	10,05	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	9,40	0,79	<0,001	6,35	12,45	
	6 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	1,50	0,79	>0,999	-1,55	4,55
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	0,50	0,79	>0,999	-2,55	3,55
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	1,80	0,79	>0,999	-1,25	4,85
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,80	0,79	>0,999	-3,85	2,25
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		1,90	0,79	>0,999	-1,15	4,95	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-0,60	0,79	>0,999	-3,65	2,45	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		5,80	0,79	<0,001	2,75	8,85	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		-1,00	0,79	>0,999	-4,05	2,05	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		0,30	0,79	>0,999	-2,75	3,35	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		-2,30	0,79	>0,999	-5,35	0,75	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		0,40	0,79	>0,999	-2,65	3,45	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-2,10	0,79	>0,999	-5,15	0,95	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		4,30	0,79	<0,001	1,25	7,35	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		1,30	0,79	>0,999	-1,75	4,35	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		-1,30	0,79	>0,999	-4,35	1,75	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		1,40	0,79	>0,999	-1,65	4,45	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-1,10	0,79	>0,999	-4,15	1,95	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		5,30	0,79	<0,001	2,25	8,35	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		-2,60	0,79	0,461	-5,65	0,45	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		0,10	0,79	>0,999	-2,95	3,15	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-2,40	0,79	>0,999	-5,45	0,65	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		4,00	0,79	<0,001	0,95	7,05	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		2,70	0,79	0,290	-0,35	5,75	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		0,20	0,79	>0,999	-2,85	3,25	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		6,60	0,79	<0,001	3,55	9,65	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-2,50	0,79	0,721	-5,55	0,55	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		3,90	0,79	<0,001	0,85	6,95	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		6,40	0,79	<0,001	3,35	9,45	

Comparações múltiplas de Bonferroni

conclusão

A tabela 7 mostra que todos os grupos apresentaram alterações nos passos ao longo dos momentos, sendo que no geral diminuiu em média os passos do pré-operatório para as demais semanas, mas foi aumentando ao longo das semanas em quase todos os grupos ($p < 0,05$), sendo que alguns grupos apresentaram diferenças no número de passos já no pré op. ($p < 0,05$), mas, principalmente na quarta semana, os grupos com lesão de maior intensidade apresentaram número de passos menores que os grupos com maior intensidade de lesão, independente da dose ($p < 0,05$), e na sexta semana essa diferença ainda permaneceu, mas nos

grupos que receberam menor dose, o número de passos foi, em média, maior ($p < 0,05$).

Tabela 8 - Resultado das comparações múltiplas dos acertos entre grupos e momentos avaliados

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	p	IC (95%)	
					Inferior	Superior
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	25,91	7,96	0,564	-5,05	56,86
	Pré-op. - 4 semanas	16,18	8,00	>0,999	-14,94	47,30
	Pré-op. - 6 semanas	9,00	8,00	>0,999	-22,12	40,12
	2 semanas - 4 semanas	-9,73	7,96	>0,999	-40,68	21,23
	2 semanas - 6 semanas	-16,90	8,00	>0,999	-48,02	14,21
	4 semanas - 6 semanas	-7,18	7,96	>0,999	-38,13	23,78
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	49,91	7,96	<0,001	18,95	80,86
	Pré-op. - 4 semanas	20,33	8,00	>0,999	-10,78	51,45
	Pré-op. - 6 semanas	14,51	8,00	>0,999	-16,61	45,63
	2 semanas - 4 semanas	-29,57	7,96	0,101	-60,53	1,38
	2 semanas - 6 semanas	-35,40	8,00	0,005	-66,52	-4,28
	4 semanas - 6 semanas	-5,83	7,96	>0,999	-36,78	25,13
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	56,98	7,96	<0,001	26,03	87,94
	Pré-op. - 4 semanas	44,48	8,00	<0,001	13,36	75,60
	Pré-op. - 6 semanas	10,87	8,00	>0,999	-20,25	41,99
	2 semanas - 4 semanas	-12,50	7,96	>0,999	-43,45	18,45
	2 semanas - 6 semanas	-46,12	8,00	<0,001	-77,23	-15,00
	4 semanas - 6 semanas	-33,62	7,96	0,012	-64,57	-2,66
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	39,10	7,96	<0,001	8,15	70,06
	Pré-op. - 4 semanas	11,19	8,00	>0,999	-19,93	42,31
	Pré-op. - 6 semanas	9,01	8,00	>0,999	-22,11	40,13
	2 semanas - 4 semanas	-27,92	7,96	0,225	-58,87	3,04
	2 semanas - 6 semanas	-30,09	8,00	0,084	-61,21	1,02
	4 semanas - 6 semanas	-2,18	7,96	>0,999	-33,13	28,78
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	41,10	7,96	<0,001	10,14	72,05
	Pré-op. - 4 semanas	21,72	8,00	>0,999	-9,40	52,84
	Pré-op. - 6 semanas	9,83	8,00	>0,999	-21,29	40,95
	2 semanas - 4 semanas	-19,38	7,96	>0,999	-50,34	11,57
	2 semanas - 6 semanas	-31,27	8,00	0,046	-62,39	-0,15
	4 semanas - 6 semanas	-11,89	7,96	>0,999	-42,84	19,07
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	51,22	7,96	<0,001	20,27	82,18
	Pré-op. - 4 semanas	17,39	8,00	>0,999	-13,73	48,51
	Pré-op. - 6 semanas	14,85	8,00	>0,999	-16,27	45,98
	2 semanas - 4 semanas	-33,83	7,96	0,011	-64,79	-2,88
	2 semanas - 6 semanas	-36,37	8,00	0,003	-67,49	-5,25
	4 semanas - 6 semanas	-2,53	7,96	>0,999	-33,49	28,42
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	33,47	7,96	0,013	2,52	64,43
	Pré-op. - 4 semanas	16,23	8,00	>0,999	-14,89	47,35
	Pré-op. - 6 semanas	13,29	8,00	>0,999	-17,83	44,41
	2 semanas - 4 semanas	-17,24	7,96	>0,999	-48,19	13,72
	2 semanas - 6 semanas	-20,18	8,00	>0,999	-51,30	10,94
	4 semanas - 6 semanas	-2,94	7,96	>0,999	-33,89	28,01
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	75,58	7,96	<0,001	44,63	106,54
	Pré-op. - 4 semanas	83,92	8,00	<0,001	52,80	115,03
	Pré-op. - 6 semanas	31,15	8,00	0,049	0,02	62,27
	2 semanas - 4 semanas	8,33	7,96	>0,999	-22,62	39,29
	2 semanas - 6 semanas	-44,44	8,00	<0,001	-75,56	-13,32
	4 semanas - 6 semanas	-52,77	7,96	<0,001	-83,72	-21,82

continua

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	p	continuação		
					IC (95%)		
					Inferior	Superior	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	1,00	8,00	>0,999	-30,12	32,12	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	1,42	8,00	>0,999	-29,70	32,54	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	0,14	8,00	>0,999	-30,99	31,26	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,64	8,00	>0,999	-30,48	31,76	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,52	8,00	>0,999	-30,60	31,64	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,90	8,00	>0,999	-32,02	30,22	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,16	8,00	>0,999	-29,96	32,28	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	0,42	8,00	>0,999	-30,70	31,54	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,86	8,00	>0,999	-31,99	30,26	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,36	8,00	>0,999	-31,48	30,76	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,48	8,00	>0,999	-31,60	30,64	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,90	8,00	>0,999	-33,02	29,22	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,16	8,00	>0,999	-30,96	31,28	
Pré-op.	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-1,29	8,00	>0,999	-32,41	29,83	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,78	8,00	>0,999	-31,90	30,34	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,91	8,00	>0,999	-32,03	30,21	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-2,32	8,00	>0,999	-33,44	28,80	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,27	8,00	>0,999	-31,39	30,85	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,51	8,00	>0,999	-30,61	31,63	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,38	8,00	>0,999	-30,74	31,50	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,03	8,00	>0,999	-32,16	30,09	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,02	8,00	>0,999	-30,10	32,14	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,13	8,00	>0,999	-31,25	31,00	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,54	8,00	>0,999	-32,66	29,58	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,52	8,00	>0,999	-30,61	31,64	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,42	8,00	>0,999	-32,54	29,70	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,64	8,00	>0,999	-30,48	31,76	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	2,06	8,00	>0,999	-29,06	33,18	
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	25,00	8,00	0,885	-6,12	56,12
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	32,50	8,00	0,024	1,38	63,62
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	13,33	8,00	>0,999	-17,79	44,45
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	15,83	8,00	>0,999	-15,29	46,95
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	25,83	8,00	0,618	-5,29	56,95
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	6,67	8,00	>0,999	-24,45	37,79	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	50,83	8,00	<0,001	19,71	81,95	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	7,50	8,00	>0,999	-23,62	38,62	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-11,67	8,00	>0,999	-42,79	19,45	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-9,17	8,00	>0,999	-40,29	21,95	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,83	8,00	>0,999	-30,29	31,95	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-18,33	8,00	>0,999	-49,45	12,79	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	25,83	8,00	0,618	-5,29	56,95	
2 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-19,17	8,00	>0,999	-50,29	11,95	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-16,67	8,00	>0,999	-47,79	14,45	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-6,67	8,00	>0,999	-37,79	24,45	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-25,83	8,00	0,618	-56,95	5,29	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	18,33	8,00	>0,999	-12,79	49,45	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	2,50	8,00	>0,999	-28,62	33,62	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	12,50	8,00	>0,999	-18,62	43,62	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-6,67	8,00	>0,999	-37,79	24,45	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	37,50	8,00	0,001	6,38	68,62	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	10,00	8,00	>0,999	-21,12	41,12	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-9,17	8,00	>0,999	-40,29	21,95	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	35,00	8,00	0,006	3,88	66,12	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-19,17	8,00	>0,999	-50,29	11,95	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	25,00	8,00	0,885	-6,12	56,12	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	44,17	8,00	<0,001	13,05	75,29	

continua

continuação

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	p	IC (95%)		
					Inferior	Superior	
4 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	5,15	8,00	>0,999	-25,97	36,28	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	29,73	8,00	0,101	-1,39	60,85	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-4,86	8,00	>0,999	-35,98	26,26	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	6,18	8,00	>0,999	-24,94	37,30	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	1,73	8,00	>0,999	-29,39	32,85	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,85	8,00	>0,999	-31,97	30,28	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	68,89	8,00	<0,001	37,77	100,01	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	24,57	8,00	>0,999	-6,55	55,69	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-10,01	8,00	>0,999	-41,13	21,11	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	1,02	8,00	>0,999	-30,10	32,14	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-3,43	8,00	>0,999	-34,55	27,69	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-6,00	8,00	>0,999	-37,12	25,12	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	63,74	8,00	<0,001	32,62	94,86	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-34,58	8,00	0,008	-65,70	-3,46	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-23,55	8,00	>0,999	-54,67	7,57	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-28,00	8,00	0,232	-59,12	3,12	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-30,57	8,00	0,066	-61,69	0,55	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	39,17	8,00	<0,001	8,05	70,29	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	11,04	8,00	>0,999	-20,09	42,16	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	6,58	8,00	>0,999	-24,54	37,70	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	4,01	8,00	>0,999	-27,11	35,13	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	73,75	8,00	<0,001	42,63	104,87	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-4,45	8,00	>0,999	-25,67	26,67	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-7,02	8,00	>0,999	-38,14	24,10	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	62,71	8,00	<0,001	31,59	93,84	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-2,57	8,00	>0,999	-33,69	28,55	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	67,17	8,00	<0,001	36,05	98,29	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	69,74	8,00	<0,001	38,62	100,86	
	6 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	6,51	8,00	>0,999	-24,62	37,63
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	3,29	8,00	>0,999	-27,83	34,41
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	0,14	8,00	>0,999	-30,98	31,26
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	1,47	8,00	>0,999	-29,65	32,59
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		6,37	8,00	>0,999	-24,75	37,49	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		3,39	8,00	>0,999	-27,73	34,51	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		23,30	8,00	>0,999	-7,82	54,42	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		-3,22	8,00	>0,999	-34,34	27,90	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		-6,36	8,00	>0,999	-37,48	24,76	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		-5,04	8,00	>0,999	-36,16	26,08	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-0,14	8,00	>0,999	-31,26	30,99	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-3,11	8,00	>0,999	-34,23	28,01	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		16,80	8,00	>0,999	-14,32	47,92	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		-3,15	8,00	>0,999	-34,27	27,97	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		-1,82	8,00	>0,999	-32,94	29,30	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		3,08	8,00	>0,999	-28,04	34,20	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		0,10	8,00	>0,999	-31,02	31,22	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		20,01	8,00	>0,999	-11,11	51,13	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		1,33	8,00	>0,999	-29,80	32,45	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		6,23	8,00	>0,999	-24,89	37,35	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		3,25	8,00	>0,999	-27,87	34,37	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		23,16	8,00	>0,999	-7,96	54,28	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		4,90	8,00	>0,999	-26,22	36,02	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		1,92	8,00	>0,999	-29,20	33,05	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		21,83	8,00	>0,999	-9,29	52,95	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-2,98	8,00	>0,999	-34,10	28,14	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		16,93	8,00	>0,999	-14,19	48,05	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		19,91	8,00	>0,999	-11,21	51,03	

Comparações múltiplas de Bonferroni

conclusão

A tabela 8 mostra que os acertos diminuíram em média do pré-op. para os demais momentos na maioria dos grupos ($p < 0,05$) e voltaram a aumentar ao longo das semanas, mas principalmente na sexta semana, houve diferenças entre os grupos apenas na segunda e quarta semana ($p < 0,05$), mas na sexta semana as diferenças no número de acertos entre os grupos desapareceram ($p < 0,05$).

Tabela 9 - Resultado das comparações múltiplas dos escorregões entre grupos e momentos avaliados

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	P	IC (95%)	
					Inferior	Superior
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-14,79	8,49	>0,999	-47,80	18,22
	Pré-op. - 4 semanas	-11,97	8,50	>0,999	-45,01	21,06
	Pré-op. - 6 semanas	-4,73	8,50	>0,999	-37,77	28,30
	2 semanas - 4 semanas	2,82	8,49	>0,999	-30,19	35,83
	2 semanas - 6 semanas	10,06	8,50	>0,999	-22,98	43,10
	4 semanas - 6 semanas	7,24	8,49	>0,999	-25,77	40,25
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-42,28	8,49	<0,001	-75,29	-9,27
	Pré-op. - 4 semanas	-13,21	8,50	>0,999	-46,24	19,83
	Pré-op. - 6 semanas	-9,58	8,50	>0,999	-42,61	23,46
	2 semanas - 4 semanas	29,07	8,49	0,305	-3,94	62,08
	2 semanas - 6 semanas	32,70	8,50	0,059	-0,34	65,74
	4 semanas - 6 semanas	3,63	8,49	>0,999	-29,38	36,64
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-32,32	8,49	0,070	-65,33	0,70
	Pré-op. - 4 semanas	-38,98	8,50	0,002	-72,02	-5,95
	Pré-op. - 6 semanas	-4,75	8,50	>0,999	-37,78	28,29
	2 semanas - 4 semanas	-6,67	8,49	>0,999	-39,68	26,34
	2 semanas - 6 semanas	27,57	8,50	0,582	-5,47	60,60
	4 semanas - 6 semanas	34,24	8,49	0,027	1,22	67,25
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-28,04	8,49	0,474	-61,05	4,97
	Pré-op. - 4 semanas	-6,88	8,50	>0,999	-39,91	26,16
	Pré-op. - 6 semanas	-5,66	8,50	>0,999	-38,70	27,37
	2 semanas - 4 semanas	21,17	8,49	>0,999	-11,84	54,18
	2 semanas - 6 semanas	22,38	8,50	>0,999	-10,66	55,42
	4 semanas - 6 semanas	1,21	8,49	>0,999	-31,80	34,22
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-23,16	8,49	>0,999	-56,17	9,85
	Pré-op. - 4 semanas	-13,52	8,50	>0,999	-46,55	19,52
	Pré-op. - 6 semanas	-5,65	8,50	>0,999	-38,69	27,39
	2 semanas - 4 semanas	9,64	8,49	>0,999	-23,37	42,65
	2 semanas - 6 semanas	17,51	8,50	>0,999	-15,53	50,55
	4 semanas - 6 semanas	7,87	8,49	>0,999	-25,14	40,88
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-38,06	8,49	0,004	-71,07	-5,05
	Pré-op. - 4 semanas	-12,06	8,50	>0,999	-45,10	20,98
	Pré-op. - 6 semanas	-9,19	8,50	>0,999	-42,22	23,85
	2 semanas - 4 semanas	26,00	8,49	>0,999	-7,01	59,01
	2 semanas - 6 semanas	28,87	8,50	0,336	-4,16	61,91
	4 semanas - 6 semanas	2,87	8,49	>0,999	-30,14	35,88
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-21,81	8,49	>0,999	-54,82	11,21
	Pré-op. - 4 semanas	-8,64	8,50	>0,999	-41,67	24,40
	Pré-op. - 6 semanas	-5,79	8,50	>0,999	-38,83	27,24
	2 semanas - 4 semanas	13,17	8,49	>0,999	-19,84	46,18
	2 semanas - 6 semanas	16,01	8,50	>0,999	-17,02	49,05
	4 semanas - 6 semanas	2,85	8,49	>0,999	-30,17	35,86
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-21,37	8,49	>0,999	-54,38	11,65
	Pré-op. - 4 semanas	-26,37	8,50	0,949	-59,40	6,67
	Pré-op. - 6 semanas	-15,33	8,50	>0,999	-48,37	17,70
	2 semanas - 4 semanas	-5,00	8,49	>0,999	-38,01	28,01
	2 semanas - 6 semanas	6,03	8,50	>0,999	-27,00	39,07
	4 semanas - 6 semanas	11,03	8,49	>0,999	-21,98	44,04

continua

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	P	continuação IC (95%)		
					Inferior	Superior	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	-0,02	8,50	>0,999	-33,05	33,02	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,81	8,50	>0,999	-33,85	32,23	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,08	8,50	>0,999	-33,12	32,95	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,03	8,50	>0,999	-33,00	33,07	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,07	8,50	>0,999	-33,10	32,97	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,49	8,50	>0,999	-33,52	32,55	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,76	8,50	>0,999	-34,80	31,27	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,79	8,50	>0,999	-33,83	32,24	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,07	8,50	>0,999	-33,10	32,97	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,05	8,50	>0,999	-32,99	33,09	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,05	8,50	>0,999	-33,09	32,99	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,47	8,50	>0,999	-33,51	32,56	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,75	8,50	>0,999	-34,78	31,29	
Pré-op.	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	0,73	8,50	>0,999	-32,31	33,76	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,84	8,50	>0,999	-32,19	33,88	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,74	8,50	>0,999	-32,29	33,78	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,32	8,50	>0,999	-32,71	33,36	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,95	8,50	>0,999	-33,99	32,09	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,12	8,50	>0,999	-32,92	33,15	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,02	8,50	>0,999	-33,02	33,05	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,40	8,50	>0,999	-33,44	32,63	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,68	8,50	>0,999	-34,71	31,36	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,10	8,50	>0,999	-33,14	32,94	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,52	8,50	>0,999	-33,56	32,51	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,79	8,50	>0,999	-34,83	31,24	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,42	8,50	>0,999	-33,46	32,61	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,70	8,50	>0,999	-34,73	31,34	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,27	8,50	>0,999	-34,31	31,76	
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	-27,50	8,50	0,599	-60,54	5,54
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-18,33	8,50	>0,999	-51,37	14,70
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-13,33	8,50	>0,999	-46,37	19,70
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-8,33	8,50	>0,999	-41,37	24,70
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-23,33	8,50	>0,999	-56,37	9,70
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-7,50	8,50	>0,999	-40,54	25,54	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-8,33	8,50	>0,999	-41,37	24,70	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	9,17	8,50	>0,999	-23,87	42,20	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	14,17	8,50	>0,999	-18,87	47,20	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	19,17	8,50	>0,999	-13,87	52,20	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	4,17	8,50	>0,999	-28,87	37,20	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	20,00	8,50	>0,999	-13,04	53,04	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	19,17	8,50	>0,999	-13,87	52,20	
2 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	5,00	8,50	>0,999	-28,04	38,04	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	10,00	8,50	>0,999	-23,04	43,04	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-5,00	8,50	>0,999	-38,04	28,04	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	10,83	8,50	>0,999	-22,20	43,87	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	10,00	8,50	>0,999	-23,04	43,04	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	5,00	8,50	>0,999	-28,04	38,04	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-10,00	8,50	>0,999	-43,04	23,04	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	5,83	8,50	>0,999	-27,20	38,87	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	5,00	8,50	>0,999	-28,04	38,04	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-15,00	8,50	>0,999	-48,04	18,04	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,83	8,50	>0,999	-32,20	33,87	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,00	8,50	>0,999	-33,04	33,04	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	15,83	8,50	>0,999	-17,20	48,87	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	15,00	8,50	>0,999	-18,04	48,04	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,83	8,50	>0,999	-33,87	32,20	

continua

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	P	continuação		
					IC (95%)		
					Inferior	Superior	
4 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	-1,25	8,50	>0,999	-34,29	31,79	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-27,82	8,50	0,524	-60,86	5,21	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	5,01	8,50	>0,999	-28,02	38,05	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-1,51	8,50	>0,999	-34,55	31,52	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,15	8,50	>0,999	-33,19	32,88	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	2,85	8,50	>0,999	-30,19	35,88	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-16,15	8,50	>0,999	-49,19	16,88	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-26,57	8,50	0,874	-59,61	6,46	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	6,26	8,50	>0,999	-26,77	39,30	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,26	8,50	>0,999	-33,30	32,77	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	1,10	8,50	>0,999	-31,94	34,13	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	4,10	8,50	>0,999	-28,94	37,13	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-14,90	8,50	>0,999	-47,94	18,13	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	32,83	8,50	0,055	-0,20	65,87	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	26,31	8,50	0,970	-6,73	59,35	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	27,67	8,50	0,559	-5,37	60,70	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	30,67	8,50	0,152	-2,37	63,70	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	11,67	8,50	>0,999	-21,37	44,70	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-6,52	8,50	>0,999	-39,56	26,51	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-5,17	8,50	>0,999	-38,20	27,87	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-2,17	8,50	>0,999	-35,20	30,87	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-21,17	8,50	>0,999	-54,20	11,87	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	1,36	8,50	>0,999	-31,68	34,39	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	4,36	8,50	>0,999	-28,68	37,39	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-14,64	8,50	>0,999	-47,68	18,39	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	3,00	8,50	>0,999	-30,04	36,04	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-16,00	8,50	>0,999	-49,04	17,04	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-19,00	8,50	>0,999	-52,04	14,04	
	6 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	-4,86	8,50	>0,999	-37,90	28,18
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,82	8,50	>0,999	-33,86	32,21
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-1,01	8,50	>0,999	-34,05	32,02
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,88	8,50	>0,999	-33,92	32,15
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-4,52	8,50	>0,999	-37,56	28,52	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-1,55	8,50	>0,999	-34,58	31,49	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-12,36	8,50	>0,999	-45,40	20,67	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		4,04	8,50	>0,999	-29,00	37,07	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		3,85	8,50	>0,999	-29,19	36,88	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		3,98	8,50	>0,999	-29,06	37,01	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		0,34	8,50	>0,999	-32,70	33,38	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		3,31	8,50	>0,999	-29,72	36,35	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-7,50	8,50	>0,999	-40,54	25,53	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		-0,19	8,50	>0,999	-33,22	32,85	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-0,06	8,50	>0,999	-33,09	32,98	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-3,70	8,50	>0,999	-36,73	29,34	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-0,72	8,50	>0,999	-33,76	32,31	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-11,54	8,50	>0,999	-44,57	21,50	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		0,13	8,50	>0,999	-32,91	33,17	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-3,51	8,50	>0,999	-36,54	29,53	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-0,53	8,50	>0,999	-33,57	32,50	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-11,35	8,50	>0,999	-44,38	21,69	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-3,64	8,50	>0,999	-36,67	29,40	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-0,66	8,50	>0,999	-33,70	32,37	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-11,48	8,50	>0,999	-44,51	21,56	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		2,97	8,50	>0,999	-30,06	36,01	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-7,84	8,50	>0,999	-40,88	25,20	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-10,81	8,50	>0,999	-43,85	22,22	

Comparações múltiplas de Bonferroni

conclusão

Pela tabela 9, tem-se que os grupos lesão 25 mm/dose única 500 UI e lesão 25 mm/dose repetida 5.000 UI apresentaram em média aumento estatisticamente significativo dos escorregões do pré-operatório para a 2ª semana ($p < 0,001$ e $p = 0,004$ respectivamente), enquanto o grupo 12,5mm/dose repetida 500 UI em 4 semanas apresentou em média escorregões estatisticamente maiores que o pré op. e que na sexta semana ($p < 0,002$ e $p = 0,027$ respectivamente).

Tabela 10 - Resultado das comparações múltiplas dos erros entre grupos e momentos avaliados

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	P	IC (95%)	
					Inferior	Superior
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 Ul/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-11,11	5,32	>0,999	-31,79	9,57
	Pré-op. - 4 semanas	-4,21	5,68	>0,999	-26,29	17,87
	Pré-op. - 6 semanas	-4,27	5,73	>0,999	-26,53	18,00
	2 semanas - 4 semanas	6,90	5,32	>0,999	-13,77	27,58
	2 semanas - 6 semanas	6,85	5,68	>0,999	-15,23	28,92
	4 semanas - 6 semanas	-0,06	5,32	>0,999	-20,74	20,62
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 Ul/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-7,63	5,32	>0,999	-28,31	13,05
	Pré-op. - 4 semanas	-7,13	5,68	>0,999	-29,21	14,95
	Pré-op. - 6 semanas	-5,70	5,73	>0,999	-27,96	16,57
	2 semanas - 4 semanas	0,50	5,32	>0,999	-20,18	21,18
	2 semanas - 6 semanas	1,93	5,68	>0,999	-20,15	24,01
	4 semanas - 6 semanas	1,43	5,32	>0,999	-19,25	22,11
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 Ul/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-14,67	5,32	>0,999	-35,34	6,01
	Pré-op. - 4 semanas	-5,50	5,68	>0,999	-27,58	16,58
	Pré-op. - 6 semanas	-5,45	5,73	>0,999	-27,72	16,81
	2 semanas - 4 semanas	9,17	5,32	>0,999	-11,51	29,84
	2 semanas - 6 semanas	9,21	5,68	>0,999	-12,86	31,29
	4 semanas - 6 semanas	0,05	5,32	>0,999	-20,63	20,72
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 Ul/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-13,56	5,32	>0,999	-34,24	7,12
	Pré-op. - 4 semanas	-4,31	5,68	>0,999	-26,39	17,77
	Pré-op. - 6 semanas	-4,26	5,73	>0,999	-26,52	18,01
	2 semanas - 4 semanas	9,25	5,32	>0,999	-11,43	29,93
	2 semanas - 6 semanas	9,31	5,68	>0,999	-12,77	31,38
	4 semanas - 6 semanas	0,06	5,32	>0,999	-20,62	20,73
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 Ul/Kg	Pré-op. - 2 semanas	2,06	5,32	>0,999	-18,62	22,74
	Pré-op. - 4 semanas	-8,20	5,68	>0,999	-30,28	13,88
	Pré-op. - 6 semanas	-2,93	5,73	>0,999	-25,19	19,34
	2 semanas - 4 semanas	-10,26	5,32	>0,999	-30,94	10,42
	2 semanas - 6 semanas	-4,99	5,68	>0,999	-27,07	17,09
	4 semanas - 6 semanas	5,27	5,32	>0,999	-15,41	25,95
Lesão 25 mm/Dose única 5 Ul/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-3,16	5,32	>0,999	-23,84	17,52
	Pré-op. - 4 semanas	-5,33	5,68	>0,999	-27,41	16,75
	Pré-op. - 6 semanas	-5,67	5,73	>0,999	-27,93	16,60
	2 semanas - 4 semanas	-2,17	5,32	>0,999	-22,84	18,51
	2 semanas - 6 semanas	-2,50	5,68	>0,999	-24,58	19,57
	4 semanas - 6 semanas	-0,34	5,32	>0,999	-21,02	20,34
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 Ul/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-16,67	5,32	0,854	-37,34	4,01
	Pré-op. - 4 semanas	-7,60	5,68	>0,999	-29,67	14,48
	Pré-op. - 6 semanas	-7,50	5,73	>0,999	-29,77	14,77
	2 semanas - 4 semanas	9,07	5,32	>0,999	-11,61	29,75
	2 semanas - 6 semanas	9,17	5,68	>0,999	-12,91	31,24
	4 semanas - 6 semanas	0,10	5,32	>0,999	-20,58	20,77
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 Ul/Kg	Pré-op. - 2 semanas	-4,22	5,32	>0,999	-24,89	16,46
	Pré-op. - 4 semanas	-17,55	5,68	0,989	-39,63	4,53
	Pré-op. - 6 semanas	-15,81	5,73	>0,999	-38,08	6,45
	2 semanas - 4 semanas	-13,33	5,32	>0,999	-34,01	7,34
	2 semanas - 6 semanas	-11,60	5,68	>0,999	-33,67	10,48
	4 semanas - 6 semanas	1,74	5,32	>0,999	-18,94	22,42

continua

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	p	continuação IC (95%)		
					Inferior	Superior	
Pré-op.	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	-0,98	5,73	>0,999	-23,28	21,31	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,61	5,73	>0,999	-22,91	21,68	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,05	5,73	>0,999	-22,35	22,25	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,68	5,73	>0,999	-22,97	21,62	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,45	5,73	>0,999	-22,75	21,85	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,39	5,73	>0,999	-20,91	23,68	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,60	5,73	>0,999	-21,69	22,90	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	0,37	5,73	>0,999	-21,93	22,67	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	0,93	5,73	>0,999	-21,37	23,23	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,31	5,73	>0,999	-21,99	22,61	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,53	5,73	>0,999	-21,76	22,83	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	2,37	5,73	>0,999	-19,93	24,67	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,59	5,73	>0,999	-20,71	23,89	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	0,56	5,73	>0,999	-21,74	22,86	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,06	5,73	>0,999	-22,36	22,24	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,16	5,73	>0,999	-22,14	22,46	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	2,00	5,73	>0,999	-20,30	24,30	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,22	5,73	>0,999	-21,08	23,51	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,62	5,73	>0,999	-22,92	21,67	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,40	5,73	>0,999	-22,70	21,90	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,44	5,73	>0,999	-20,86	23,74	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,66	5,73	>0,999	-21,64	22,95	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,22	5,73	>0,999	-22,07	22,52	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	2,06	5,73	>0,999	-20,24	24,36	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,28	5,73	>0,999	-21,02	23,58	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,84	5,73	>0,999	-20,46	24,14	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,05	5,73	>0,999	-21,24	23,35	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,78	5,73	>0,999	-23,08	21,51	
	2 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	2,50	5,73	>0,999	-19,80	24,80
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-4,17	5,73	>0,999	-26,46	18,13
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		-2,50	5,73	>0,999	-24,80	19,80	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		12,50	5,73	>0,999	-9,80	34,80	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		7,50	5,73	>0,999	-14,80	29,80	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-4,17	5,73	>0,999	-26,46	18,13	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		7,50	5,73	>0,999	-14,80	29,80	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		-6,67	5,73	>0,999	-28,96	15,63	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		-5,00	5,73	>0,999	-27,30	17,30	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		10,00	5,73	>0,999	-12,30	32,30	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		5,00	5,73	>0,999	-17,30	27,30	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-6,67	5,73	>0,999	-28,96	15,63	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		5,00	5,73	>0,999	-17,30	27,30	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		1,67	5,73	>0,999	-20,63	23,96	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		16,67	5,73	>0,999	-5,63	38,96	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		11,67	5,73	>0,999	-10,63	33,96	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		0,00	5,73	>0,999	-22,30	22,30	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		11,67	5,73	>0,999	-10,63	33,96	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		15,00	5,73	>0,999	-7,30	37,30	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		10,00	5,73	>0,999	-12,30	32,30	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-1,67	5,73	>0,999	-23,96	20,63	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		10,00	5,73	>0,999	-12,30	32,30	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-5,00	5,73	>0,999	-27,30	17,30	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-16,67	5,73	>0,999	-38,96	5,63	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-5,00	5,73	>0,999	-27,30	17,30	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-11,67	5,73	>0,999	-33,96	10,63	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		0,00	5,73	>0,999	-22,30	22,30	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		11,67	5,73	>0,999	-10,63	33,96	

continua

continuação

Grupo/ Momento	Comparação	Diferença média	Erro Padrão	p	IC (95%)		
					Inferior	Superior	
4 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	-3,90	5,73	>0,999	-26,20	18,39	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-1,90	5,73	>0,999	-24,20	20,39	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,15	5,73	>0,999	-22,45	22,14	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-4,67	5,73	>0,999	-26,96	17,63	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-1,57	5,73	>0,999	-23,87	20,73	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-2,00	5,73	>0,999	-24,30	20,30	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-12,74	5,73	>0,999	-35,04	9,56	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	2,00	5,73	>0,999	-20,30	24,30	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	3,75	5,73	>0,999	-18,55	26,05	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-0,76	5,73	>0,999	-23,06	21,54	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	2,33	5,73	>0,999	-19,96	24,63	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,90	5,73	>0,999	-20,39	24,20	
	Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-8,83	5,73	>0,999	-31,13	13,46	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	1,75	5,73	>0,999	-20,55	24,05	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-2,76	5,73	>0,999	-25,06	19,54	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,33	5,73	>0,999	-21,96	22,63	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,10	5,73	>0,999	-22,39	22,20	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-10,83	5,73	>0,999	-33,13	11,46	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-4,51	5,73	>0,999	-26,81	17,79	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-1,42	5,73	>0,999	-23,71	20,88	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,85	5,73	>0,999	-24,14	20,45	
	Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-12,58	5,73	>0,999	-34,88	9,71	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	3,10	5,73	>0,999	-19,20	25,39	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	2,67	5,73	>0,999	-19,63	24,96	
	Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-8,07	5,73	>0,999	-30,37	14,23	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,43	5,73	>0,999	-22,73	21,87	
	Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-11,17	5,73	>0,999	-33,46	11,13	
	Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-10,74	5,73	>0,999	-33,04	11,56	
	6 semanas	Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	-2,41	5,73	>0,999	-24,71	19,88
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-1,80	5,73	>0,999	-24,10	20,50
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,04	5,73	>0,999	-22,34	22,26
		Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,66	5,73	>0,999	-21,63	22,96
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-1,85	5,73	>0,999	-24,15	20,45	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-1,85	5,73	>0,999	-24,14	20,45	
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-10,94	5,73	>0,999	-33,24	11,36	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		0,62	5,73	>0,999	-21,68	22,91	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		2,38	5,73	>0,999	-19,92	24,67	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		3,08	5,73	>0,999	-19,22	25,38	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		0,57	5,73	>0,999	-21,73	22,86	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		0,57	5,73	>0,999	-21,73	22,87	
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-8,53	5,73	>0,999	-30,82	13,77	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg		1,76	5,73	>0,999	-20,54	24,06	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		2,46	5,73	>0,999	-19,83	24,76	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-0,05	5,73	>0,999	-22,35	22,25	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-0,05	5,73	>0,999	-22,34	22,25	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-9,14	5,73	>0,999	-31,44	13,16	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg		0,70	5,73	>0,999	-21,59	23,00	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-1,81	5,73	>0,999	-24,11	20,49	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-1,81	5,73	>0,999	-24,10	20,49	
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-10,90	5,73	>0,999	-33,20	11,40	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg		-2,51	5,73	>0,999	-24,81	19,78	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-2,51	5,73	>0,999	-24,81	19,79	
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-11,61	5,73	>0,999	-33,90	10,69	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		0,00	5,73	>0,999	-22,29	22,30	
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-9,09	5,73	>0,999	-31,39	13,21	
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg		-9,10	5,73	>0,999	-31,39	13,20	

Comparações múltiplas de Bonferroni

conclusão

A tabela 10 mostra que, apesar de haver diferença média nos erros entre os momentos de avaliação ($p < 0,001$ – tabela 6), quando realizadas as comparações detalhadamente, não é possível identificar entre quais momentos ocorreram as diferenças ($p < 0,05$).

Tabela 11 - Descrição da análise histológica qualitativa segundo grupos e resultado das comparações

Variável/Grupo	Categoria			
	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso
Necrose				
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	0 (0)	10 (100)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	0 (0)	1 (10)	8 (80)	1 (10)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	9 (90)	1 (10)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	0 (0)	3 (30)	7 (70)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	10 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0 (0)	6 (60)	4 (40)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0 (0)	9 (90)	1 (10)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	2 (20)	2 (20)	6 (60)	0 (0)
p	<0,001			
Hemorragia				
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	0 (0)	7 (70)	3 (30)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	0 (0)	9 (90)	0 (0)	1 (10)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	3 (30)	7 (70)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	2 (20)	3 (30)	5 (50)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	7 (70)	3 (30)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0 (0)	7 (70)	3 (30)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0 (0)	9 (90)	1 (10)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	1 (10)	3 (30)	6 (60)	0 (0)
p	<0,001			
Hiperemia				
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	3 (30)	1 (10)	4 (40)	2 (20)
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	6 (60)	1 (10)	3 (30)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	6 (60)	4 (40)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	5 (50)	3 (30)	2 (20)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	6 (60)	4 (40)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	3 (30)	2 (20)	4 (40)	1 (10)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	6 (60)	3 (30)	1 (10)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	4 (40)	4 (40)	2 (20)	0 (0)
p	0,129			
Degeneração				
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	0 (0)	7 (70)	3 (30)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	0 (0)	6 (60)	4 (40)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	9 (90)	1 (10)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	5 (50)	5 (50)	0 (0)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	10 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	0 (0)	8 (80)	2 (20)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	0 (0)	8 (80)	2 (20)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	6 (60)	0 (0)	4 (40)	0 (0)
p	<0,001			
Infiltrado Celular				
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	7 (70)	1 (10)	2 (20)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg	9 (90)	0 (0)	1 (10)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	7 (70)	3 (30)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg	5 (50)	5 (50)	0 (0)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg	10 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg	7 (70)	2 (20)	1 (10)	0 (0)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	9 (90)	0 (0)	1 (10)	0 (0)
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg	5 (50)	2 (20)	3 (30)	0 (0)
p	0,134			

Teste Kruskal-Wallis

A tabela 11 mostra que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos no grau de necrose, hemorragia e degeneração ($p < 0,001$).

Tabela 12 - Resultado das comparações múltiplas do grau de necrose entre os grupos

Comparação	Valor Z	p
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	-5,78	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	5,02	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-4,27	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	5,58	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-2,44	0,015
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,61	0,542
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-2,55	0,011
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	10,80	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	1,50	0,132
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	11,36	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	3,34	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	5,17	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	3,23	0,001
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-9,29	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,56	0,577
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-7,46	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-5,63	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-7,57	<0,001
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	9,85	<0,001
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	1,83	0,067
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	3,66	<0,001
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,73	0,084
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-8,02	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-6,19	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-8,12	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,83	0,067
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-0,11	0,916
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,94	0,053

Comparações múltiplas de Dunn

Pela tabela 12, tem-se que, o grau de necrose dos grupos que sofreram trauma de maior magnitude (25 mm) foi estatisticamente maior que o grau de necrose dos grupos que sofreram trauma de menor magnitude (12,5 mm) ($p < 0,05$) e em grupos que sofreram trauma de mesma magnitude, a dose única apresentou menor grau de necrose que a dose repetida ($p < 0,05$).

Tabela 13 - Resultado das comparações múltiplas do grau de hemorragia entre os grupos

Comparação	Valor Z	p
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	1,19	0,234
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	4,01	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-0,11	0,916
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	6,58	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,00	>0,999
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,39	0,165
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,44	0,149
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	2,82	0,005
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-1,29	0,195
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	5,39	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-1,19	0,234
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,20	0,842
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-2,63	0,009
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-4,11	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	2,57	0,010
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-4,01	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-2,62	0,009
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-5,45	<0,001
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	6,68	<0,001
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,11	0,916
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,49	0,135
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,34	0,181
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-6,58	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-5,19	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-8,02	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,39	0,165
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,44	0,149
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-2,83	0,005

Comparações múltiplas de Dunn

A tabela 13 mostra que o grau de hemorragia do grupo lesão 12,5 mm/dose única 5.000 UI/Kg foi estatisticamente menor que os demais grupos ($p < 0,05$).

Tabela 14 - Resultado das comparações múltiplas do grau de degeneração entre os grupos

Comparação	Valor Z	p
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	-0,53	0,599
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	7,74	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	5,00	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	8,42	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,53	0,599
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,53	0,599
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	3,58	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	8,26	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	5,53	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	8,95	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	1,05	0,293
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	1,05	0,293
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	4,10	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-2,74	0,006
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	0,68	0,494
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-7,21	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-7,21	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-4,16	<0,001
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	3,42	<0,001
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-4,47	<0,001
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-4,47	<0,001
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-1,42	0,155
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-7,89	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-7,89	<0,001
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-4,84	<0,001
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	0,00	>0,999
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	3,05	0,002
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	3,05	0,002

Comparações múltiplas de Dunn

A tabela 14 mostra que, no geral, doses mais baixas apresentaram grau de degeneração menores que doses mais altas ($p < 0,05$).

Tabela 15 - Descrição da análise histológica quantitativa e resultado dos testes comparativos

Grupo	Variável	
	Cranial	Caudal
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UL/Kg		
média ± DP	574,5 ± 22,5	503,9 ± 50,6
mediana (p25; p75)	579 (553,8; 591,8)	515 (481,5; 544)
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UL/Kg		
média ± DP	498,3 ± 72,3	362,1 ± 63,3
mediana (p25; p75)	527 (454; 549,5)	377 (336; 403)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg		
média ± DP	570,5 ± 27,3	449 ± 68,9
mediana (p25; p75)	562,5 (550; 602,8)	444 (415,8; 512)
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UL/Kg		
média ± DP	448,8 ± 94,9	297,1 ± 65,4
mediana (p25; p75)	431,5 (388; 557)	287,5 (241,8; 345,3)
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UL/Kg		
média ± DP	696 ± 69	596,3 ± 63,9
mediana (p25; p75)	681 (664,8; 776,5)	577,5 (542; 667,3)
Lesão 25 mm/Dose única 5 UL/Kg		
média ± DP	454 ± 73,2	334 ± 65,7
mediana (p25; p75)	455,5 (403,3; 522,5)	350,5 (291,8; 391,5)
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		
média ± DP	642,7 ± 54,6	479,4 ± 78,2
mediana (p25; p75)	659 (597,3; 680,8)	484 (423,3; 554,5)
Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UL/Kg		
média ± DP	389,4 ± 50,3	550,6 ± 201,1
mediana (p25; p75)	387,5 (344,3; 429,5)	560 (332; 754,8)
p	<0,001	<0,001

ANOVA

A tabela 15 mostra que, tanto o parâmetro cranial como caudal diferiram em média estatisticamente entre os grupos ($p < 0,001$).

Tabela 16 - Resultado das comparações múltiplas do parâmetro cranial entre os grupos

Comparação	Diferença média	Erro Padrão	P	IC (95%)	
				Inferior	Superior
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	76,2	27,9	0,222	-14,3	166,7
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	4,0	27,9	>0,999	-86,5	94,5
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	125,7	27,9	0,001	35,2	216,2
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-121,5	27,9	0,001	-212,0	-31,0
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	120,5	27,9	0,001	30,0	211,0
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-68,2	27,9	0,474	-158,7	22,3
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	185,1	27,9	<0,001	94,6	275,6
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-72,2	27,9	0,326	-162,7	18,3
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	49,5	27,9	>0,999	-41,0	140,0
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-197,7	27,9	<0,001	-288,2	-107,2
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	44,3	27,9	>0,999	-46,2	134,8
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-144,4	27,9	<0,001	-234,9	-53,9
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	108,9	27,9	0,006	18,4	199,4
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	121,7	27,9	0,001	31,2	212,2
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-125,5	27,9	0,001	-216,0	-35,0
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	116,5	27,9	0,002	26,0	207,0
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-72,2	27,9	0,326	-162,7	18,3
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	181,1	27,9	<0,001	90,6	271,6
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-247,2	27,9	<0,001	-337,7	-156,7
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-5,2	27,9	>0,999	-95,7	85,3
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-193,9	27,9	<0,001	-284,4	-103,4
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	59,4	27,9	>0,999	-31,1	149,9
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	242,0	27,9	<0,001	151,5	332,5
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	53,3	27,9	>0,999	-37,2	143,8
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	306,6	27,9	<0,001	216,1	397,1
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-188,7	27,9	<0,001	-279,2	-98,2
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	64,6	27,9	0,655	-25,9	155,1
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	253,3	27,9	<0,001	162,8	343,8

Comparações múltiplas de Bonferroni

A tabela 16 mostra que os valores craniais foram em média estatisticamente maiores no grupo lesão 12,5 mm/dose única 5.000 UI/Kg que a maioria dos demais grupos ($p < 0,05$), enquanto que o grupo lesão 25 mm/dose única 500 UI/Kg apresentou em média menor valor que a maioria dos grupos ($p < 0,05$), exceto em algumas comparações com outro grupo de lesão 25 mm.

Tabela 17 - Resultado das comparações múltiplas do parâmetro caudal entre os grupos

Comparação	Diferença média	Erro Padrão	p	IC (95%)	
				Inferior	Superior
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg	141,8	42,0	0,033	5,5	278,1
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	54,9	42,0	>0,999	-81,4	191,2
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	206,8	42,0	<0,001	70,5	343,1
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-92,4	42,0	0,868	-228,7	43,9
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	169,9	42,0	0,004	33,6	306,2
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	24,5	42,0	>0,999	-111,8	160,8
Lesão 12,5 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-46,7	42,0	>0,999	-183,0	89,6
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	-86,9	42,0	>0,999	-223,2	49,4
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	65,0	42,0	>0,999	-71,3	201,3
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-234,2	42,0	<0,001	-370,5	-97,9
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	28,1	42,0	>0,999	-108,2	164,4
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-117,3	42,0	0,187	-253,6	19,0
Lesão 25 mm/Dose única 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-188,5	42,0	0,001	-324,8	-52,2
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg	151,9	42,0	0,015	15,6	288,2
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-147,3	42,0	0,022	-283,6	-11,0
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	115,0	42,0	0,218	-21,3	251,3
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-30,4	42,0	>0,999	-166,7	105,9
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-101,6	42,0	0,506	-237,9	34,7
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg	-299,2	42,0	<0,001	-435,5	-162,9
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	-36,9	42,0	>0,999	-173,2	99,4
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-182,3	42,0	0,001	-318,6	-46,0
Lesão 25 mm/Dose repetida 0,5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-253,5	42,0	<0,001	-389,8	-117,2
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg	262,3	42,0	<0,001	126,0	398,6
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	116,9	42,0	0,192	-19,4	253,2
Lesão 12,5 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	45,7	42,0	>0,999	-90,6	182,0
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-145,4	42,0	0,025	-281,7	-9,1
Lesão 25 mm/Dose única 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-216,6	42,0	<0,001	-352,9	-80,3
Lesão 12,5 mm/Dose repetida 5 UI/Kg - Lesão 25 mm/Dose repetida 5 UI/Kg	-71,2	42,0	>0,999	-207,5	65,1

Comparações múltiplas de Bonferroni

Pela tabela 17, tem-se que, no geral, grupos que sofreram trauma de maior magnitude (25 mm) apresentaram em média estatisticamente menor parâmetro caudal que grupos que sofreram trauma de menor magnitude (12,5 mm) ($p < 0,05$), chamou a atenção que o grupo lesão 25 mm/dose repetida 5.000 UI/Kg apresentou em média maior valor caudal que as demais doses nessa mesma lesão ($p < 0,05$).

6. *DISCUSSÃO*

6 DISCUSSÃO

Definimos por lesão medular primária o dano de natureza mecânica ocorrido no momento do trauma, quando acontece uma interrupção estrutural e fisiológica aguda dos axônios e ruptura dos vasos sanguíneos nutridores do tecido espinal. Este evento provoca uma diminuição da oferta de oxigênio com a consequente morte celular por necrose⁷. Já a lesão secundária ocorre de minutos a dias após a lesão primária e surge na área da lesão e no tecido adjacente. O processo isquêmico da lesão primária desencadeia uma série de reações bioquímicas que tem por via final a morte celular, neste momento ocorrendo por apoptose⁸. Essas alterações ocorrem principalmente na substância cinzenta central, porém a substância branca também recebe os radicais livres e as enzimas líticas liberadas, o que acaba por levar à inflamação e desmielinização medular¹²⁷. A cascata de reações surgidas durante o momento da lesão secundária da medula espinal envolve diferentes vias que abrangem: disfunção das bombas eletrolíticas de membrana com aumento do lactato e diminuição do pH por estímulo à via glicolítica; resposta inflamatória por espécies reativas de oxigênio; aumento da concentração extracelular de aminoácidos; ativação da cascata do ácido araquidônico; dentre outros mecanismos ainda não esclarecidos totalmente¹²⁸⁻¹³¹.

Diferente do que se acreditava há poucas décadas, a EPO não é expressa apenas no fígado fetal e rim de indivíduos adultos, mas também possui atuação no tecido nervoso. Normalmente, sua expressão é regulada de maneira positiva quando os níveis de oxigênio estão baixos¹³²⁻¹³⁴. Estudos experimentais também mostraram que a redução na oferta de EPO disponível leva a um aumento considerável da lesão tecidual¹³⁵⁻¹³⁶. Sabe-se que a atuação da EPO ocorre por meio da ligação a um receptor transmembrana específico (EPOr) pertencente à subfamília de receptores tipo 1 de citocinas. A homodimerização de duas moléculas de EPOr transmembrana promove a ligação de uma única molécula de EPO e induz a uma mudança conformacional que se inicia com a transfosforilação de JAK2 associada ao EPOr. As moléculas de sinalização a jusante são subsequentemente ativadas, incluindo transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STATs), fosfatidilinositol-3 quinase (PI3K) /AKT, RAS/quinase

regulada por sinal extracelular (ERK1/2), fator nuclear kappa B (NF-kappa B) e cálcio. A ativação dessas cascatas de sinalização leva, dependendo do tipo de célula e da situação, à ativação adicional de vias antiapoptóticas, estimulação da diferenciação celular, incluindo indução de mudança de forma celular e crescimento ou modulação da plasticidade^{16,20,137}. Entretanto, ainda não está bem definido se o EPOr encontrado no tecido nervoso possui estrutura molecular idêntica ao EPOr hematopoiético ou se existem outras estruturas receptoras de EPO que podem explicar seus efeitos adicionais na proteção e regeneração do tecido nervoso que ainda serão identificadas^{32,138}.

A descoberta da capacidade da EPO administrada periféricamente atravessar a barreira hematoencefálica³⁰ e seus efeitos neuroprotetores proporcionou o surgimento de estudos com esta substância para o tratamento de afecções que envolvem o sistema nervoso central^{139,140}. Atualmente, já foram publicados vários ensaios experimentais abrangendo a lesão aguda da medula espinal em que foi administrada EPO de maneira isolada ou em combinação com outras substâncias. Já existe evidência do seu papel na regulação imunológica, proteção contra a apoptose celular ocorrida durante a lesão medular secundária e promoção do processo de reparo tecidual após a isquemia. Sabe-se também que a EPO pode proteger os neurônios e radicais livres liberados na cascata inflamatória iniciada após o trauma medular^{15,31,33}. Adicionalmente, há evidência considerável que animais tratados com EPO após sofrerem lesão medular espinal apresentam melhor desfecho neurológico quando avaliados pela escala motora padronizada^{48,51,58}.

Apesar de todos os avanços ocorridos no campo da ciência experimental, muitas variáveis ainda necessitam serem melhores esclarecidas. Mais pesquisas são necessárias para padronização de dose, via de administração, tempo de tratamento, dentre outras¹⁴¹. Este trabalho foi conduzido com o intuito aprofundar o entendimento do papel da EPO como agente neuroprotetor na lesão medular contusa experimental em ratos em diferentes doses e magnitudes de trauma. A escolha do modelo experimental de lesão medular por queda de peso para realização deste estudo possibilitou a padronização da amostra. Optou-se pelo equipamento computadorizado NYU Impactor, já utilizado em outros ensaios

experimentais e disponível no Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e de Nervos (LETRAN) do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IOT-HC-FMUSP). A escolha desse equipamento permite a comparação dos resultados com outras instituições que integram o Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study (MASCIS). Os ratos selecionados foram da raça Wistar devido à maior disponibilidade e utilização prévia pelo Centro de Bioterismo da FMUSP¹⁴². O número de animais necessários para a formação dos grupos foi baseado na padronização da MASCIS e em estudos anteriores que adotaram modelo experimental semelhante^{58,100,106}.

Este ensaio experimental foi realizado com avaliações dos resultados de maneira cega. As avaliações pela pontuação na escala BBB e histológica (quantitativa e qualitativa) e estatística foram realizadas por profissionais especialistas que não conheciam a qual grupo cada animal pertencia^{51,58}.

O sistema NYU Impactor possui três graduações de altura da haste (12,5 mm, 25 mm e 50 mm). Em nosso estudo, optamos pelas alturas da haste em 12,5 mm ou 25 mm por acreditarmos que essa diferença de altura e conseqüentemente de energia do trauma medular sofrido, combinadas às diferentes doses de EPO administrada de acordo com o grupo ao qual o animal pertencia poderiam a vir apresentar desfechos motores e histológicos diferentes quando avaliados pela escala BBB e assim investigar de maneira mais profunda a atuação desta substância em diferentes cenários. A altura de 50 mm apresenta taxas de lesão medular completa e mortalidade elevadas, por isso não foi utilizada em nosso estudo^{87,143}.

A escala de avaliação da recuperação funcional escolhida foi a proposta por Basso, Beattie e Bresnahan, escala BBB⁸⁷. Esta é a principal escala utilizada para quantificar a recuperação motora em ratos portadores de lesão medular e segue o padrão estabelecido pelo MASCIS. Sua avaliação é considerada válida, reprodutível e permite comparações interinstitucionais¹¹². Em nosso estudo, o comportamento médio da avaliação pela escala BBB nos grupos foi estatisticamente diferente ao longo dos momentos de avaliação ($p_{\text{Interação}} < 0,001$),

conforme evidenciado na tabela 1. No geral, houve aumento da pontuação BBB com o passar das semanas em todos os grupos ($p < 0,05$), porém, a partir da 4ª semana o grupo com lesão 12,5 mm/Dose única de 5.000 UI/Kg e o grupo 12,5 mm/Dose repetida de 5.000 UI/Kg começaram a apresentar em média estatisticamente maior na avaliação BBB que os demais grupos ($p < 0,05$), sendo que na 6ª semana os grupos com lesão 12,5 mm, independente da dose recebida, apresentaram maior BBB que os grupos com lesão 25 mm ($p < 0,05$), conforme evidenciado na tabela 2.

A tabela 3 descreve o peso dos animais segundo os grupos no início e ao final do estudo e fornece o resultado das comparações. Por essa tabela, tem-se que o peso médio dos animais apresentou comportamento dos grupos estatisticamente diferente ao longo do estudo ($p_{\text{Interação}} < 0,001$). A tabela 4 descreve o resultado das comparações múltiplas do peso entre grupos e momentos avaliados, mostrando que apenas no grupo lesão 25 mm/dose única 500 UI/Kg houve redução média do peso do início para o final do estudo ($p = 0,018$). No início, o grupo lesão 25 mm/dose repetida 500 UI/Kg apresentou em média maior peso que os ratos do grupo lesão 25 mm/dose única 500 UI/Kg ($p = 0,037$) e menor peso que os ratos do grupo lesão 12,5 mm/dose única 5.000 UI/Kg ($p = 0,037$), já ao final do estudo os ratos do grupo lesão 25 mm/dose repetida 500 UI/Kg apresentaram em média menor peso que os ratos dos grupos lesão 12,5 mm/dose única 500 UI/Kg, lesão 12,5 mm/dose única 5.000 UI/Kg e lesão 12,5 mm/dose repetida 5.000 UI/Kg ($p < 0,05$). A avaliação da variação do peso dos animais ao longo das 6 semanas do estudo é uma ferramenta importante, pois o peso pode sofrer influência indireta da dimensão do impacto que a energia do trauma medular proporcionou e da resposta ao tratamento medicamentoso administrado, além de ser mais uma medida de verificação da homogeneidade da amostra.

A tabela 5 mostra a descrição dos passos e acertos dos animais segundo grupos e momentos de avaliação e resultado das comparações e a tabela 6 na vê-se a descrição dos escorregões e erros dos animais segundo grupos e momentos de avaliação e resultado das comparações. As tabelas 5 e 6 mostram que os passos e os acertos avaliados no plano horizontal apresentaram comportamento médio estatisticamente diferente dos grupos ao longo dos momentos de avaliação

($p_{\text{Interação}} < 0,05$). Os escorregões em média entre os grupos independente dos momentos de avaliação ($p_{\text{Grupo}} = 0,041$) e entre os momentos independente do grupo ($p_{\text{momento}} < 0,001$), já os erros só diferiram ao longo dos momentos, independente do grupo ($p_{\text{momento}} < 0,001$). A tabela 7 mostra que todos os grupos apresentaram alterações nos passos ao longo dos momentos, sendo que no geral diminuiu em média os passos do pré-operatório para as demais semanas, mas foi aumentando ao longo das semanas em quase todos os grupos ($p < 0,05$), sendo que alguns grupos apresentaram diferenças no número de passos já no pré op. ($p < 0,05$), mas, principalmente na quarta semana, os grupos com lesão de maior intensidade apresentaram número de passos menores que os grupos com maior intensidade de lesão, independente da dose ($p < 0,05$), e na sexta semana essa diferença ainda permaneceu, mas nos grupos que receberam menor dose, o número de passos foi, em média, maior ($p < 0,05$). Os resultados das comparações múltiplas dos acertos entre grupos e momentos avaliados mostra que os acertos diminuíram em média do pré-op. para os demais momentos na maioria dos grupos ($p < 0,05$) e voltaram a aumentar ao longo das semanas, mas principalmente na sexta semana, houve diferenças entre os grupos apenas na segunda e quarta semana ($p < 0,05$), mas na sexta semana as diferenças no número de acertos entre os grupos desapareceram ($p < 0,05$), conforme evidenciado na tabela 8. Pela tabela 9, tem-se que os grupos lesão 25 mm/dose única 500 UI e lesão 25 mm/dose repetida 5.000 UI apresentaram em média aumento estatisticamente significativo dos escorregões do pré-operatório para a 2ª semana ($p < 0,001$ e $p = 0,004$ respectivamente), enquanto o grupo 12,5mm/dose repetida 500 UI em 4 semanas apresentou em média escorregões estatisticamente maiores que o pré op. e que na sexta semana ($p < 0,002$ e $p = 0,027$ respectivamente). Apesar de haver diferença média nos erros entre os momentos de avaliação ($p < 0,001$ – tabela 6), quando realizadas as comparações detalhadamente, não é possível identificar entre quais momentos ocorreram as diferenças ($p < 0,05$), conforme mostra a tabela 10.

Os resultados da avaliação histológica qualitativa e quantitativa mostraram correlação com o desfecho neurológico descrito acima. A análise histológica qualitativa mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos no grau de necrose, hemorragia e degeneração ($p < 0,001$), conforme mostra a tabela 11. No

geral, os grupos que sofreram trauma de maior magnitude, as alterações teciduais patológicas foram estatisticamente maiores que nos grupos que sofreram trauma de menor magnitude. Observamos ainda que os grupos que sofreram trauma de mesma magnitude, a dose única apresentou menor grau de necrose que a dose repetida, conforme mostra a tabela 12. A Tabela 13 mostra que o grau de hemorragia do grupo lesão 12,5 mm/dose única 5.000 UI/Kg foi estatisticamente menor que os demais grupos. No geral, doses mais baixas apresentaram grau de degeneração menores que doses mais altas, conforme evidencia a tabela 14. Pela análise histológica quantitativa: no geral, os grupos que sofreram trauma de maior magnitude apresentaram em média estatisticamente menor parâmetro caudal que grupos que sofreram trauma de menor magnitude ($p < 0,05$), conforme mostra a tabela 17.

Conforme discutido nos parágrafos acima, observamos em nosso trabalho que os quatro grupos em que as lesões medulares com queda de peso na altura de 12,5 mm por descarregarem menor energia na medula espinal evoluíram com melhor desfecho neurológico na avaliação pela escala BBB e no plano horizontal que os quatro grupo que sofreram queda de peso na altura de 25 mm, estando esse resultado em conformidade com o pensamento lógico e a literatura prévia⁸⁷. Na avaliação pela escala BBB, a partir da quarta semana, dentre os animais que sofreram lesão com altura de 12,5 mm, os grupos que receberam a maior dose de EPO (5.000 UI/Kg) apresentaram maior pontuação quando comparados aos grupos que a dose de 500 UI/Kg, entretanto não houve diferença no resultado entre os grupos que receberam a mesma dose quando se repetia a administração da EPOrh após uma semana. Na quinta semana esse padrão se manteve e embora com menor margem, ainda possuía significância estatística. Na sexta semana de pós-operatório, embora houvesse diferença, já não houve mais significância estatística e os grupos que sofreram queda 25 mm de altura mostraram piores resultados, independente da dose administrada e da repetição desta. Padrão semelhante também foi observado na avaliação pelo plano horizontal; na sexta semana os grupos que sofreram queda de 12,5mm e receberam a dose maior de EPOrh (5.000 UI/Kg, dose única e dose repetida) apresentaram mais passos que os demais grupos. Também não havendo diferença no resultado quando se repetia a administração de EPOrh após uma semana.

Esses desfechos nos sugerem algumas inferências. Em concordância com os resultados encontrados em outros estudos experimentais descritos na literatura, o uso da EPO em lesões traumáticas da medula espinal mostrou benefícios na recuperação neurológica, havendo uma melhora mais rápida e melhor quando foi utilizada uma dose mais alta do medicamento. Entretanto, a repetição da administração uma semana após a lesão não mostrou benefício adicional. Entendemos esse achado como compatível com a fisiopatologia da lesão medular traumática, pois sabe-se que a cascata de reações bioquímicas ocorrida durante a lesão medular secundária, surge imediatamente após o traumatismo e a janela terapêutica de atuação farmacológica é curta. Nossos resultados corroboram com a importância do tratamento precoce para a obtenção recuperação neurológica mais rápida e melhor e evitarmos o surgimento de sequelas, muitas vezes catastróficas no cenário clínico. Também foi notório o papel que a magnitude do trauma pode influenciar no resultado final. Lesões com alto grau de energia tendem a ter uma resposta menor ao tratamento medicamento, tornando a atuação farmacológica limitada ou até indiferente.

Estamos cientes das limitações metodológicas do nosso estudo. Apesar de toda padronização do mecanismo de lesão medular realizada e das escalas de avaliação neurológica utilizadas serem bem estabelecidas, existe uma distância considerável entre um modelo experimental e o paciente portador de traumatismo raquimedular que encontramos em nossa prática clínica. Muitos fatores podem influenciar no resultado neurológico da administração de qualquer fármaco. Entretanto o que nos motivou a realizar esse trabalho foi todo o contexto envolvendo: a evidência considerável de benefício da EPO em lesão medular experimental em ratos, embora ainda com importantes lacunas existentes em variáveis como: dose, tempo de tratamento, momento e via de administração. Associadas ao fato de a EPO ser amplamente utilizada na prática médica com segurança, sem efeitos colaterais graves frequentes, há vários anos. Acreditamos ter contribuído de sobre o papel da EPO nas lesões medulares traumáticas.

7. CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

O efeito causado pela ação da eritropoetina na lesão medular contusa experimental em ratos mostrou sofrer influência da dose administrada e da magnitude do trauma ocorrido. Os animais que receberam maior dose e sofreram trauma de menor magnitude apresentaram melhor e mais rápida recuperação neurológica. A repetição da mesma dose após uma semana não mostrou benefícios.

8. ANEXOS

8 ANEXOS

Anexo A - Carta de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais.



Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Avenida Dr. Arnaldo, 455
Pacaembu – São Paulo – SP

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Certificamos que a proposta intitulada “**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ERITROPOETINA EM DIFERENTES DOSAGEM E ENERGIA NA LESÃO MEDULAR EM RATOS**”, registrada com o nº **1395/2019**, sob a responsabilidade de **Alexandre Fogaça Cristante e Alderico Girão Campos de Barros**, apresentada pelo Departamento de Ortopedia e Traumatologia - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Faculdade de Medicina da USP em 05.02.2020

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 09-12-2019 Término: 08-08-2022
Espécie/linhagem/raça	Rato wistar
Nº de animais	40
Peso/Idade	8 a 12 semanas
Sexo	machos
Origem	Biotério ICB

A CEUA FMUSP solicita que ao final da pesquisa seja enviado Relatório com todas as atividades.

CEUA-FMUSP, 05 de fevereiro de 2020

Dr. Eduardo Pompeu
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais

Comissão de Ética no Uso de Animais da FMUSP
e-mail: ceua@fm.usp.br

Anexo B – Ficha de pontuação com os atributos que acompanham a escala de avaliação locomotora de BBB

E	D	E	D	E	D	Lad	o	Apoi	o				suporte de peso	suporte de peso	E	D	E	D		E	D	E	D	E	D	E	D	IE		
o	o	o	o	o	o	E	D	E	D				E	D	o	o	o	o	o	o*	o*	I	I	I	I					Para cima (elevada)
S	S	S	S	S	S								E	D	O	O	O	O	O	O	O	E	E	E	E					
E	E	E	E	E	E	Central									F	F	F ₊	F ₊	F	F**	F**			P	P	P	P			Para baixo (abaixada)
															C	C	C	C	C	C										

Comentários: _____

Movimento

0 = Nenhum; S = Suave (discreto); E = Extenso; + = Pisada dorsal > 4 passos da pata posterior; * = Liberação < 50%; ** = Dedos arrastando > 4 passos da pata posterior; 0 = Nunca (0%); O = Ocasional (< 50%); F = Frequente (51-94%); C = Consistente (95-100%); I = Rotação interna; E = Rotação externa; P = Paralelo.

Anexo C – Escala de avaliação locomotora de Basso, Beattie e Bresnahan (BBB)

Pontuação	Definições operacionais de categorias e atributos
0	Nenhum movimento observável do membro posterior.
1	Movimento discreto (limitado) de uma ou das duas articulações, geralmente, do quadril e/ou do joelho.
2	Movimento extenso de uma articulação ou movimento extenso de uma articulação e discreta de uma outra.
3	Movimento extenso de duas articulações.
4	Movimento discreto de todas as três articulações do membro posterior.
5	Movimento discreto de duas articulações e movimento extenso da terceira.
6	Movimento extenso de duas articulações e movimento discreto da terceira.
7	Movimento extenso das três articulações do membro posterior.
8	Pedalada sem suporte de peso <u>ou</u> apoio plantar da pata sem suporte de peso.
9	Apoio plantar da pata com suporte de peso somente em fase de apoio (i.e., quando estático) <u>ou</u> passada dorsal ocasional, frequente ou consistente com suporte de peso e nenhuma passada plantar.
10	Passo plantar com suporte de peso ocasional e nenhuma coordenação dos membros anterior e posterior.
11	Passo plantar com suporte de peso frequente a consistente e nenhuma coordenação dos membros anterior e posterior.
12	Passo plantar com suporte de piso frequente a consistente e coordenação ocasional dos membros anterior e posterior.
13	Passo plantar com suporte de peso frequente à consistente e coordenação frequente dos membros anterior e posterior.

(continua)

(continuação)

Pontuação	Definições operacionais de categorias e atributos
14	Passo plantar com suporte de peso consistente, coordenação consistente dos membros anterior e posterior e posição predominante da pata rodada (interna ou externamente) durante a locomoção, no instante do contato inicial com a superfície (piso) bem como, antes de liberar os dedos no final da fase de apoio <u>ou</u> passada plantar frequente, coordenação consistente dos membros anterior e posterior e passada dorsal ocasional.
15	Passada plantar consistente e coordenação consistente dos membros anterior e posterior e nenhuma liberação dos dedos ou liberação ocasional durante o movimento do membro para frente, posição predominante da pata paralela ao corpo no instante do contato inicial.
16	Passada plantar consistente e coordenação dos membros anterior e posterior durante a marcha e a liberação dos dedos ocorre frequentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante da pata é paralela ao corpo no instante do contato inicial e rodada no instante da liberação.
17	Passada plantar consistente e coordenação dos membros anterior e posterior durante a marcha e a liberação dos dedos ocorre frequentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante da pata é paralela ao corpo nos instantes do contato inicial e da liberação dos dedos.
18	Passada plantar consistente e coordenação dos membros anterior e posterior durante a marcha e a liberação dos dedos ocorre consistentemente durante o movimento do membro para frente, a posição predominante da pata é paralela ao corpo no instante do contato inicial e rodada na liberação dos dedos.
19	Passada plantar consistente e coordenação dos membros anterior e posterior durante a marcha e a liberação dos dedos ocorre consistentemente durante o movimento do membro para frente; a posição predominante da pata é paralela ao corpo nos instantes do contato e da liberação dos dedos e apresenta a cauda para baixo parte do tempo ou por todo o tempo.

(continua)

(continuação)

Pontuação	Definições operacionais de categorias e atributos
20	Passada plantar consistente e coordenação dos membros anterior e posterior durante a marcha e a liberação dos dedos ocorre consistentemente durante o movimento do membro para frente; a posição predominante da pata é paralela ao corpo nos instantes do contato e da liberação dos dedos e apresenta a cauda consistentemente elevada e instabilidade do tronco.
21	Passada plantar consistente e marcha coordenada, liberação consistente dos dedos, a posição predominante da pata é paralela ao corpo durante toda a fase de apoio, estabilidade consistente do tronco, cauda consistentemente elevada.

9. REFERÊNCIAS

9 REFERÊNCIAS

1. Sharif S, Jazaib Ali MY. Outcome prediction in spinal cord injury: myth or reality. *World Neurosurg.* 2020;140:574-90.
2. Vasconcelos ECLM, Riberto M. Caracterização clínica e das situações de fratura da coluna vertebral no município de Ribeirão Preto, propostas para um programa de prevenção do trauma raquimedular. *Coluna/Columna.* 2011;10(1):40–3.
3. Cristante AF, Barros Filho TE, Marcon RM, Letaif OB, Rocha ID. Therapeutic approaches for spinal cord injury. *Clinics (Sao Paulo).* 2012 Oct;67(10):1219-24.
4. Sargin D, Friedrichs H, El-Kordi A, Ehrenreich H. Erythropoietin as neuroprotective and neuroregenerative treatment strategy: comprehensive overview of 12 years of preclinical and clinical research. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2010 Dec;24(4):573-94.
5. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg.* 1991 Jul;75(1):15-26.
6. Tator CH. Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol.* 1995 Oct;5(4):407-13.
7. Beattie MS, Farooqui AA, Bresnahan JC. Review of current evidence for apoptosis after spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 2000 Oct;17(10):915-25.
8. Ray SK, Matzelle DD, Wilford GG, Hogan EL, Banik NL. Cell death in spinal cord injury (SCI) requires de novo protein synthesis. Calpain inhibitor E-64-d provides neuroprotection in SCI lesion and penumbra. *Ann N Y Acad Sci.* 2001 Jun;939:436-49.

9. Tan CC, Eckardt KU, Firth JD, Ratcliffe PJ. Feedback modulation of renal and hepatic erythropoietin mRNA in response to graded anemia and hypoxia. *Am J Physiol.* 1992 Sep;263(3 Pt 2):F474-81.
10. Masuda S, Okano M, Yamagishi K, Nagao M, Ueda M, Sasaki R. A novel site of erythropoietin production. Oxygen-dependent production in cultured rat astrocytes. *J Biol Chem.* 1994 Jul 29;269(30):19488-93.
11. Konishi Y, Chui DH, Hirose H, Kunishita T, Tabira T. Trophic effect of erythropoietin and other hematopoietic factors on central cholinergic neurons in vitro and in vivo. *Brain Res.* 1993 Apr 23;609(1-2):29-35.
12. Pardridge WM, Eisenberg J, Yang J. Human blood-brain barrier transferrin receptor. *Metabolism.* 1987 Sep;36(9):892-5.
13. Golden PL, Maccagnan TJ, Pardridge WM. Human blood-brain barrier leptin receptor. Binding and endocytosis in isolated human brain microvessels. *J Clin Invest.* 1997 Jan 1;99(1):14-8.
14. Duffy KR, Pardridge WM, Rosenfeld RG. Human blood-brain barrier insulin-like growth factor receptor. *Metabolism.* 1988 Feb;37(2):136-40.
15. Arishima Y, Setoguchi T, Yamaura I, Yone K, Komiya S. Preventive effect of erythropoietin on spinal cord cell apoptosis following acute traumatic injury in rats. *Spine (Phila Pa 1976).* 2006 Oct 1;31(21):2432-8.
16. Sirén AL, Fratelli M, Brines M, Goemans C, Casagrande S, Lewczuk P, Keenan S, Gleiter C, Pasquali C, Capobianco A, Mennini T, Heumann R, Cerami A, Ehrenreich H, Ghezzi P. Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Mar 27;98(7):4044-9.
17. Koshimura K, Murakami Y, Sohmiya M, Tanaka J, Kato Y. Effects of erythropoietin on neuronal activity. *J Neurochem.* 1999 Jun;72(6):2565-72.

18. Kawakami M, Iwasaki S, Sato K, Takahashi M. Erythropoietin inhibits calcium-induced neurotransmitter release from clonal neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Dec 9;279(1):293-7.
19. Beleslin-Cokic BB, Cokic VP, Yu X, Weksler BB, Schechter AN, Noguchi CT. Erythropoietin and hypoxia stimulate erythropoietin receptor and nitric oxide production by endothelial cells. *Blood*. 2004 Oct 1;104(7):2073-80.
20. Lee SM, Nguyen TH, Park MH, Kim KS, Cho KJ, Moon DC, Kim HY, Yoon DY, Hong JT. EPO receptor-mediated ERK kinase and NF-kappaB activation in erythropoietin-promoted differentiation of astrocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Aug 6;320(4):1087-95.
21. Shingo T, Sorokan ST, Shimazaki T, Weiss S. Erythropoietin regulates the in vitro and in vivo production of neuronal progenitors by mammalian forebrain neural stem cells. *J Neurosci*. 2001 Dec 15;21(24):9733-43.
22. Crowe MJ, Bresnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nat Med*. 1997 Jan;3(1):73-6.
23. Katoh K, Ikata T, Katoh S, Hamada Y, Nakauchi K, Sano T, Niwa M. Induction and its spread of apoptosis in rat spinal cord after mechanical trauma. *Neurosci Lett*. 1996 Sep 20;216(1):9-12.
24. Li GL, Brodin G, Farooque M, Funa K, Holtz A, Wang WL, Olsson Y. Apoptosis and expression of Bcl-2 after compression trauma to rat spinal cord. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1996 Mar;55(3):280-9.
25. Sakanaka M, Wen TC, Matsuda S, Masuda S, Morishita E, Nagao M, Sasaki R. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Apr 14;95(8):4635-40.

26. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, Agnello D, de Lanerolle NC, Cerami C, Itri LM, Cerami A. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Sep 12;97(19):10526-31.
27. Nakahara S, Yone K, Sakou T, Wada S, Nagamine T, Niiyama T, Ichijo H. Induction of apoptosis signal regulating kinase 1 (ASK1) after spinal cord injury in rats: possible involvement of ASK1-JNK and -p38 pathways in neuronal apoptosis. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1999 May;58(5):442-50.
28. Egrie JC, Strickland TW, Lane J, Aoki K, Cohen AM, Smalling R, Trail G, Lin FK, Browne JK, Hines DK. Characterization and biological effects of recombinant human erythropoietin. *Immunobiology*. 1986 Sep;172(3-5):213-24.
29. Egrie JC, Browne J, Lai P, Lin FK. Characterization of recombinant monkey and human erythropoietin. *Prog Clin Biol Res*. 1985;191:339-50.
30. Celik M, Gökmen N, Erbayraktar S, Akhisaroglu M, Konakc S, Ulukus C, Genc S, Genc K, Sagiroglu E, Cerami A, Brines M. Erythropoietin prevents motor neuron apoptosis and neurologic disability in experimental spinal cord ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Feb 19;99(4):2258-63.
31. Gorio A, Gokmen N, Erbayraktar S, Yilmaz O, Madaschi L, Cichetti C, Di Giulio AM, Vardar E, Cerami A, Brines M. Recombinant human erythropoietin counteracts secondary injury and markedly enhances neurological recovery from experimental spinal cord trauma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Jul 9;99(14):9450-5.
32. Brines M, Grasso G, Fiordaliso F, Sfacteria A, Ghezzi P, Fratelli M, Latini R, Xie QW, Smart J, Su-Rick CJ, Pobre E, Diaz D, Gomez D, Hand C, Coleman T, Cerami A. Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Oct 12;101(41):14907-12.

33. Kaptanoglu E, Solaroglu I, Okutan O, Surucu HS, Akbiyik F, Beskonakli E. Erythropoietin exerts neuroprotection after acute spinal cord injury in rats: effect on lipid peroxidation and early ultrastructural findings. *Neurosurg Rev.* 2004 Apr;27(2):113-20.
34. Li W, Maeda Y, Yuan RR, Elkabes S, Cook S, Dowling P. Beneficial effect of erythropoietin on experimental allergic encephalomyelitis. *Ann Neurol.* 2004 Dec;56(6):767-77.
35. Carnot P, Deflandre C. Sur l'activité hémopoïétique des différents organes au cours de la régénération du sang. *Académie Sci.* 1906;143:432–5.
36. Hjort E. Reticulocyte increase after injection of anemic serum. *Nor Mag Laegevidensk.* 1936;97:270–7.
37. Krumdieck N, Walcott C. Erythropoietic substance in the serum of anemic animals. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1943; 54(1):14-17.
38. Erslev A. Humoral regulation of red cell production. *Blood.* 1953 Apr;8(4):349-57.
39. Bonsdorff E, Jalavisto E. A humoral mechanism in anoxic erythrocytosis. *Acta Physiol Scand.* 1948;16(2-3):150-70.
40. Reissmann KR. Studies on the mechanism of erythropoietic stimulation in parabiotic rats during hypoxia. *Blood.* 1950 Apr;5(4):372-80.
41. Fisher JW, Birdwell BJ. The production of an erythropoietic factor by the in situ perfused kidney. *Acta Haematol.* 1961;26:224-32.
42. Kuratowska Z, Lewartowski B, Michalak E. Studies on the production of erythropoietin by isolated perfused organs. *Blood.* 1961 Nov;18:527-34.

43. Zanjani ED, Poster J, Burlington H, Mann LI, Wasserman LR. Liver as the primary site of erythropoietin formation in the fetus. *J Lab Clin Med.* 1977 Mar;89(3):640-4.
44. Lin FK, Suggs S, Lin CH, Browne JK, Smalling R, Egrie JC, Chen KK, Fox GM, Martin F, Stabinsky Z, et al. Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985 Nov;82(22):7580-4.
45. Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Browne JK, Adamson JW. Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trial. *N Engl J Med.* 1987 Jan 8;316(2):73-8.
46. Koury ST, Bondurant MC, Koury MJ, Semenza GL. Localization of cells producing erythropoietin in murine liver by in situ hybridization. *Blood.* 1991 Jun 1;77(11):2497-503.
47. Dame C, Juul SE, Christensen RD. The biology of erythropoietin in the central nervous system and its neurotrophic and neuroprotective potential. *Biol Neonate.* 2001;79(3-4):228-35.
48. Cerri G, Montagna M, Madaschi L, Merli D, Borroni P, Baldissera F, Gorio A. Erythropoietin effect on sensorimotor recovery after contusive spinal cord injury: an electrophysiological study in rats. *Neuroscience.* 2012 Sep 6;219:290-301.
49. Freitag MT, Márton G, Pajer K, Hartmann J, Walder N, Rossmann M, Parzer P, Redl H, Nógrádi A, Stieltjes B. Monitoring of short-term erythropoietin therapy in rats with acute spinal cord injury using manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *J Neuroimaging.* 2015 Jul-Aug;25(4):582-9.
50. Mesquita Coutinho PR, Cristante AF, de Barros Filho TE, Ferreira R, Dos Santos GB. Effects of tacrolimus and erythropoietin in experimental spinal cord lesion in rats: functional and histological evaluation. *Spinal Cord.* 2016 Jun;54(6):439-44.

51. Marcon RM, Cristante AF, de Barros TE Filho, Ferreira R, Dos Santos GB. Effects of ganglioside G(M1) and erythropoietin on spinal cord lesions in rats: functional and histological evaluations. *Clinics (Sao Paulo)*. 2016 Jul;71(6):351-60.
52. Caliskan M, Simsek S, Vural SA, Besalti O. Comparison of etanercept, etomidate and erythropoietin and their combinations in experimentally-induced spinal cord injury. *Turk Neurosurg*. 2016;26(6):930-6.
53. Kökoğlu Ç, Delen E, Arslantaş A, Arslantaş D, Kökoğlu B, Özbek Z, Uslu S, Akıncı AT. Therapeutic efficacy of tadalafil and erythropoietin in experimental spinal cord injury. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2016 Nov;22(6):521-5.
54. Ozkunt O, Sariyilmaz K, Gemalmaz HC, Gürgen SG, Yener U, Dikici F. Investigation of efficacy of treatment in spinal cord injury: Erythropoietin versus methylprednisolone. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2017 Sep-Dec;25(3):2309499017739481.
55. Cohrs G, Goerden S, Lucius R, Synowitz M, Mehdorn HM, Held-Feindt J, Knerlich-Lukoschus F. Spatial and cellular expression patterns of erythropoietin-receptor and erythropoietin during a 42-day post-lesional time course after graded thoracic spinal cord impact lesions in the rat. *J Neurotrauma*. 2018 Feb 1;35(3):593-607.
56. Zhang H, Fang X, Huang D, Luo Q, Zheng M, Wang K, Cao L, Yin Z. Erythropoietin signaling increases neurogenesis and oligodendrogenesis of endogenous neural stem cells following spinal cord injury both in vivo and in vitro. *Mol Med Rep*. 2018 Jan;17(1):264-72.
57. Hong HN, Shim JH, Won YJ, Yoo JY, Hwang CH. Therapeutic time window for the effects of erythropoietin on astrogliosis and neurite outgrowth in an in vitro model of spinal cord injury. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Mar;97(9):e9913.

-
58. Barros AGC, Cristante AF, Santos GBD, Natalino RJM, Ferreira RJR, Barros-Filho TEP. Evaluation of the effects of erythropoietin and interleukin-6 in rats submitted to acute spinal cord injury. *Clinics (Sao Paulo)*. 2019;74:e674.
59. Zhou Y, Su P, Pan Z, Liu D, Niu Y, Zhu W, Yao P, Song Y, Sun Y. Combination therapy with hyperbaric oxygen and erythropoietin inhibits neuronal apoptosis and improves recovery in rats with spinal cord injury. *Phys Ther*. 2019 Dec 16;99(12):1679-89.
60. Tanaka T, Murata H, Miyazaki R, Yoshizumi T, Sato M, Ohtake M, Tateishi K, Kim P, Yamamoto T. Human recombinant erythropoietin improves motor function in rats with spinal cord compression-induced cervical myelopathy. *PLoS One*. 2019 Dec 10;14(12):e0214351.
61. Zhong L, Zhang H, Ding ZF, Li J, Lv JW, Pan ZJ, Xu DX, Yin ZS. Erythropoietin-induced autophagy protects against spinal cord injury and improves neurological function via the extracellular-regulated protein kinase signaling pathway. *Mol Neurobiol*. 2020 Oct;57(10):3993-4006.
62. Rink S, Manthou ME, Arnold J, Grigo M, Dicken P, Abdulla DSY, Bendella H, Nohroudi K, Angelov DN. Motor, sensitive, and vegetative recovery in rats with compressive spinal-cord injury after combined treatment with erythropoietin and whole-body vibration. *Restor Neurol Neurosci*. 2021;39(2):85-100.
63. Gholami M, Gilanpour H, Sadeghinezhad J, Asghari A. Facile fabrication of an erythropoietin-alginate/chitosan hydrogel and evaluation of its local therapeutic effects on spinal cord injury in rats. *Daru*. 2021 Dec;29(2):255-65.
64. He H, Huang H, Hu P, Chen Z. Microarray and bioinformatics analysis of differential gene and lncrna expression during erythropoietin treatment of acute spinal cord injury in rats. *Comput Math Methods Med*. 2022 Sep 2;2022:4121910.
65. Torelli AG, Cristante AF, de Barros-Filho TEP, Dos Santos GB, Morena BC, Correia FF, Paschon V. Effects of ganglioside GM1 and erythropoietin on spinal cord

injury in mice: Functional and immunohistochemical assessments. *Clinics (Sao Paulo)*. 2022 Feb 19;77:100006.

66. Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury fracture dislocation of spinal column: a preliminary report. *JAMA*. 1911;57(11): 878-80.

67. Allen AR. Remarkes on the histopathological changes in the spinal cord due to impact: an experimental study. *J Nerv Ment Dis*. 1914;41(3):141-7.

68. McVeigh J. Experimental cord crushes: with special reference to the mechanical factors involved and subsequent changes in the areas of the cords affected. *Arch Surg*. 1923;7(3):573–600.

69. Tarlov IM, Klinger H, Vitale S. Spinal cord compression studies. I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. *AMA Arch Neurol Psychiatry*. 1953 Dec;70(6):813-9.

70. Woodard JS, Freeman LW. Ischemia of the spinal cord; an experimental study. *J Neurosurg*. janeiro de 1956;13(1):63–72.

71. Ducker TB, Hamit HF. Experimental treatments of acute spinal cord injury. *J Neurosurg*. 1969 Jun;30(6):693-7.

72. Ducker TB, Kindt GW, Kempf LG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg*. 1971 Dec;35(6):700-8.

73. Holdsworth F. Fractures, dislocations, and fracture-dislocations of the spine. *J Bone Joint Surg Am*. 1970 Dec;52(8):1534-51.

74. Wagner Jr. FC, Dohrmann GJ, Bucy PC. Histopathology of transitory traumatic paraplegia in the monkey. *J Neurosurg*. 1971 Sep;35(3):272-6.

75. Kelly Jr. DL, Lassiter KR, Vongsvivut A, Smith JM. Effects of hyperbaric oxygenation and tissue oxygen studies in experimental paraplegia. *J Neurosurg.* 1972 Apr;36(4):425-9.
76. Balentine JD. Pathology of experimental spinal cord trauma. I. The necrotic lesion as a function of vascular injury. *Lab Invest.* 1978 Sep;39(3):236-53.
77. Ducker TB, Salzman M, Perot PL Jr, Ballantine D. Experimental spinal cord trauma, I: Correlation of blood flow, tissue oxygen and neurologic status in the dog. *Surg Neurol.* 1978 Jul;10(1):60-3.
78. Tator CH, Rowed DW. Current concepts in the immediate management of acute spinal cord injuries. *Can Med Assoc J.* 1979 Dec 8;121(11):1453-64.
79. Means ED, Anderson DK, Waters TR, Kalaf L. Effect of methylprednisolone in compression trauma to the feline spinal cord. *J Neurosurg.* 1981 Aug;55(2):200-8.
80. Anderson DK, Means ED, Waters TR, Green ES. Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. *J Neurosurg.* 1982 Jan;56(1):106-13.
81. Bracken MB, Shepard MJ, Hellenbrand KG, Collins WF, Leo LS, Freeman DF, Wagner FC, Flamm ES, Eisenberg HM, Goodman JH, et al. Methylprednisolone and neurological function 1 year after spinal cord injury. Results of the National Acute Spinal Cord Injury Study. *J Neurosurg.* 1985 Nov;63(5):704-13.
82. Bresnahan JC, Beattie MS, Todd FD 3rd, Noyes DH. A behavioral and anatomical analysis of spinal cord injury produced by a feedback-controlled impaction device. *Exp Neurol.* 1987 Mar;95(3):548-70.
83. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Recovery of motor function after spinal-cord injury--a randomized, placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *N Engl J Med.* 1991 Jun 27;324(26):1829-38.

84. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF Jr, Holford TR, Baskin DS, Eisenberg HM, Flamm E, Leo-Summers L, Maroon JC, Marshall LF, et al. Methylprednisolone or naloxone treatment after acute spinal cord injury: 1-year follow-up data. Results of the second National Acute Spinal Cord Injury Study. *J Neurosurg.* 1992 Jan;76(1):23-31.
85. Constantini S, Young W. The effects of methylprednisolone and the ganglioside GM1 on acute spinal cord injury in rats. *J Neurosurg.* 1994 Jan;80(1):97-111.
86. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma.* 1995 Feb;12(1):1-21.
87. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection. *Exp Neurol.* 1996 Jun;139(2):244-56.
88. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, Leo-Summers L, Aldrich EF, Fazl M, Fehlings MG, Herr DL, Hitchon PW, Marshall LF, Nockels RP, Pascale V, Perot PL Jr, Piepmeier J, Sonntag VK, Wagner F, Wilberger JE, Winn HR, Young W. Methylprednisolone or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury randomized controlled trial. *J Neurosurg.* 1998 Nov;89(5):699-706.
89. Ramón-Cueto A, Plant GW, Avila J, Bunge MB. Long-distance axonal regeneration in the transected adult rat spinal cord is promoted by olfactory ensheathing glia transplants. *J Neurosci.* 1998 May 15;18(10):3803-15.
90. Vialle LRG, Fischer S, Marcon JC, Vialle E, Luzzi R, Bleggi-Torres LF. Histologic study of experimental spinal cord lesion in rats. *Rev Bras Ortop.* 1999;34(2):85-9.
91. Bracken MB. Pharmacological interventions for acute spinal cord injury. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD001046.

92. Short DJ, El Masry WS, Jones PW. High dose methylprednisolone in the management of acute spinal cord injury - a systematic review from a clinical perspective. *Spinal Cord*. 2000 May;38(5):273-86.
93. Hurlbert RJ. The role of steroids in acute spinal cord injury: an evidence-based analysis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2001 Dec 15;26(24 Suppl):S39-46.
94. Vialle E, Vialle L, Rasera E, Cechinel C, Leonel I, Seyboth C. Avaliação da recuperação motora em ratos submetidos a lesão medular experimental. *Rev Bras Ortop*. 2002;37(3):83–96.
95. Ferreira R, Oliveira A, Barros Filho T. Padronização da técnica para captação do potencial evocado motor em ratos através da estimulação elétrica transcraniana. *Acta Ortop Bras*. 2005;13(3):112–4.
96. Tator CH. Review of treatment trials in human spinal cord injury: issues, difficulties, and recommendations. *Neurosurgery*. 2006 Nov;59(5):957-82.
97. Bolton DA, Tse AD, Ballermann M, Misiaszek JE, Fouad K. Task specific adaptations in rat locomotion: runway versus horizontal ladder. *Behav Brain Res*. 2006 Apr 3;168(2):272-9.
98. Cristante AF, Barros-Filho TE, Tatsui N, Mendrone A, Caldas JG, Camargo A, Alexandre A, Teixeira WG, Oliveira RP, Marcon RM. Stem cells in the treatment of chronic spinal cord injury: evaluation of somatosensitive evoked potentials in 39 patients. *Spinal Cord*. 2009 Oct;47(10):733-8.
99. Rodrigues NR, Letaif OB, Cristante AF, Marcon RM, Oliveira RP, de Barros Filho TEP. Padronização da lesão de medula espinal em ratos wistar. *Acta Ortop Bras*. 2010; 18(4):182-6.
100. Marcon RM, de Barros Filho TEP, Oliveira RP, Cristante AF, Taricco MA, Colares G, Barbarini AF, Teixeira WGJ, de Souza FI. Estudo experimental da ação da

metilprednisolona utilizada antes do traumatismo raquimedular em ratos Wistar. *Acta Ortop Bras.* 2010; 18(1):26-30.

101. Souza FI, Barros Filho TEP, Cristante A. Avaliação do emprego do GM1 após lesão medular experimental em ratos. *Coluna/Columna.* 2011;10(4):305-8.

102. Hurlbert RJ, Hadley MN, Walters BC, Aarabi B, Dhall SS, Gelb DE, Rozzelle CJ, Ryken TC, Theodore N. Pharmacological therapy for acute spinal cord injury. *Neurosurgery.* 2013 Mar;72 Suppl 2:93-105.

103. Alibai E, Zand F, Rahimi A, Rezaianzadeh A. Erythropoietin plus methylprednisolone or methylprednisolone in the treatment of acute spinal cord injury: a preliminary report. *Acta Med Iran.* 2014;52(4):275-9.

104. Costa DD, Beghi E, Carignano P, Pagliacci C, Faccioli F, Pupillo E, Messina P, Gorio A, Redaelli T. Tolerability and efficacy of erythropoietin (EPO) treatment in traumatic spinal cord injury: a preliminary randomized comparative trial vs. methylprednisolone (MP). *Neurol Sci.* 2015 Sep;36(9):1567-74.

105. Alibai EA, Baghban F, Farrokhi MR, Mohebbali N, Ashraf MH. Effects of human erythropoietin on functional outcome of patients with traumatic cervical cord injury; a pilot randomized clinical trial. *Bull Emerg Trauma.* 2015 Jul;3(3):79-85.

106. Letaif OB, Cristante AF, Barros Filho TE, Ferreira R, Santos GB, Rocha ID, Marcon RM. Effects of estrogen on functional and neurological recovery after spinal cord injury: an experimental study with rats. *Clinics (Sao Paulo).* 2015 Oct;70(10):700-5.

107. Liu Z, Yang Y, He L, Pang M, Luo C, Liu B, Rong L. High-dose methylprednisolone for acute traumatic spinal cord injury: a meta-analysis. *Neurology.* 2019 Aug 27;93(9):e841-50.

108. Joaquim AF, Daniel JW, Schroeder GD, Vaccaro AR. Neuroprotective agents as an adjuvant treatment in patients with acute spinal cord injuries: a qualitative systematic review of randomized trials. *Clin Spine Surg.* 2020 Mar;33(2):65-75.
109. Ganjeifar B, Rezaee H, Keykhosravi E, Tavallaii A, Bahadorkhan G, Nakhaei M, Abouei Mehrizi MA. The effect of combination therapy with erythropoietin and methylprednisolone in patients with traumatic cervical spinal cord injury: a pilot randomized controlled trial. *Spinal Cord.* 2021 Mar;59(3):347-53.
110. Eryilmaz F, Farooque U. The Efficacy of combined medication with methylprednisolone and erythropoietin in the treatment of ischemia-reperfusion injury to the spinal cord in patients with cervical spondylotic myelopathy. *Cureus.* 2021 Mar 21;13(3):e14018.
111. Fang M, Zhou J, Huang S, Zhang Y, He Y, Zeng Y, Song Y. Recombinant human erythropoietin plus methylprednisolone versus methylprednisolone in treatment of acute spinal cord injury : protocol for a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2022 Dec 7;12(12):e056689.
112. Santos GB, Cristante AF, Marcon RM, Souza FI, Barros Filho TEP, Damasceno ML. Modelo experimental de lesão medular e protocolo de avaliação motora em ratos Wistar. *Acta Ortop Bras.* 2011;19(2):87–91.
113. Rodrigues N. Padronização da lesão medular espinal em ratos Wistar [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 1999.
114. Flecknell P. Analgesics in small mammals. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2018 Jan;21(1):83-103.
115. Cristante AF, Filho TE, Oliveira RP, Marcon RM, Ferreira R, Santos GB. Effects of antidepressant and treadmill gait training on recovery from spinal cord injury in rats. *Spinal Cord.* 2013 Jun;51(6):501-7.

116. Paschon V, Morena BC, Correia FF, Beltrame GR, Dos Santos GB, Cristante AF, Kihara AH. VDAC1 is essential for neurite maintenance and the inhibition of its oligomerization protects spinal cord from demyelination and facilitates locomotor function recovery after spinal cord injury. *Sci Rep*. 2019 Oct 1;9(1):14063.
117. Erschbamer MK, Pham TM, Zwart MC, Baumans V, Olson L. Neither environmental enrichment nor voluntary wheel running enhances recovery from incomplete spinal cord injury in rats. *Exp Neurol*. 2006 Sep;201(1):154-64.
118. Girgis J, Merrett D, Kirkland S, Metz GA, Verge V, Fouad K. Reaching training in rats with spinal cord injury promotes plasticity and task specific recovery. *Brain*. 2007 Nov;130(Pt 11):2993-3003.
119. Huot-Lavoie M, Ting WK, Demers M, Mercier C, Ethier C. Impaired motor learning following a pain episode in intact rats. *Front Neurol*. 2019 Aug 27;10:927.
120. Sedý J, Urdzíkova L, Jendelová P, Syková E. Methods for behavioral testing of spinal cord injured rats. *Neurosci Biobehav Rev*. 2008;32(3):550-80.
121. Krajacic A, Weishaupt N, Girgis J, Tetzlaff W, Fouad K. Training-induced plasticity in rats with cervical spinal cord injury: effects and side effects. *Behav Brain Res*. 2010 Dec 25;214(2):323-31.
122. Miranda TA, Vicente JM, Marcon RM, Cristante AF, Morya E, Valle AC. Time-related effects of general functional training in spinal cord-injured rats. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012 Jul;67(7):799-804.
123. Tamakoshi K, Ishida K, Hayao K, Takahashi H, Tamaki H. Behavioral effect of short- and long-term exercise on motor functional recovery after intracerebral hemorrhage in rats. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2018 Dec;27(12):3630-5.
124. Marques MR, Nicola FC, Sanches EF, Arcego DM, Durán-Carabali LE, Aristimunha D, Dalmaz C, Netto CA. Locomotor Training Promotes Time-dependent

Functional Recovery after Experimental Spinal Cord Contusion. *Neuroscience*. 2018 Nov 10;392:258-269.

125. McCullagh P, Nelder JA. *Generalized linear models*. 2nd ed. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC; 1989.

126. Neter J, Wasserman W, Kutner MH. *Applied linear regression models*. Homewood, Ill: R.D. Irwin; 1983. 547 p.

127. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery*. 1999 May;44(5):1027-39; discussion 1039-40.

128. Farooque M, Hillered L, Holtz A, Olsson Y. Changes of extracellular levels of amino acids after graded compression trauma to the spinal cord: an experimental study in the rat using microdialysis. *J Neurotrauma*. 1996 Sep;13(9):537-48.

129. Ding WX, Shen HM, Ong CN. Critical role of reactive oxygen species and mitochondrial permeability transition in microcystin-induced rapid apoptosis in rat hepatocytes. *Hepatology*. 2000 Sep;32(3):547-55.

130. Sharma HS, Olsson Y, Nyberg F, Dey PK. Prostaglandins modulate alterations of microvascular permeability, blood flow, edema and serotonin levels following spinal cord injury: an experimental study in the rat. *Neuroscience*. 1993 Nov;57(2):443-9.

131. Abou-Mrad Z, Alomari SO, Bsati S, Moussalem CK, Alok K, El Houshiemy MN, Alomari AO, Minassian GB, Omeis IA. Role of connexins in spinal cord injury: an update. *Clin Neurol Neurosurg*. 2020 Oct;197:106102.

132. Jelkmann W. Erythropoietin after a century of research: younger than ever. *Eur J Haematol*. 2007 Mar;78(3):183-205.

133. Sharp FR, Bernaudin M. HIF1 and oxygen sensing in the brain. *Nat Rev Neurosci*. 2004 Jun;5(6):437-48.

134. Fandrey J. Oxygen-dependent and tissue-specific regulation of erythropoietin gene expression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004 Jun;286(6):R977-88.
135. Sakanaka M, Wen TC, Matsuda S, Masuda S, Morishita E, Nagao M, Sasaki R. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Apr 14;95(8):4635-40.
136. Fu QL, Wu W, Wang H, Li X, Lee VW, So KF. Up-regulated endogenous erythropoietin/erythropoietin receptor system and exogenous erythropoietin rescue retinal ganglion cells after chronic ocular hypertension. *Cell Mol Neurobiol*. 2008 Feb;28(2):317-29.
137. Brines M, Cerami A. Emerging biological roles for erythropoietin in the nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2005 Jun;6(6):484-94.
138. Xiong Y, Mahmood A, Qu C, Kazmi H, Zhang ZG, Noguchi CT, Schallert T, Chopp M. Erythropoietin improves histological and functional outcomes after traumatic brain injury in mice in the absence of the neural erythropoietin receptor. *J Neurotrauma*. 2010 Jan;27(1):205-15.
139. Grasso G, Sfacteria A, Passalacqua M, Morabito A, Buemi M, Macrì B, Brines ML, Tomasello F. Erythropoietin and erythropoietin receptor expression after experimental spinal cord injury encourages therapy by exogenous erythropoietin. *Neurosurgery*. 2005 Apr;56(4):821-7
140. Matis GK, Birbilis TA. Erythropoietin in spinal cord injury. *Eur Spine J*. 2009 Mar;18(3):314-23.
141. Curt A. The translational dialogue in spinal cord injury research. *Spinal Cord*. 2012 May;50(5):352-7.
142. Rodrigues NR, Letaif OB, Cristante AF, Marcon RM, Oliveira RP, de Barros Filho TEP. Padronização da lesão de medula espinal em ratos wistar. *Acta Ortop Bras*. 2010; 18(4):182-6.

143. Marcon RM, Cristante AF, de Barros Filho TE, de Oliveira RP, dos Santos GB. Potentializing the effects of GM1 by hyperbaric oxygen therapy in acute experimental spinal cord lesion in rats. *Spinal Cord*. 2010 Nov;48(11):808-13.