



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**  
Centro Biomédico  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Danielle Paes Machado de Andrade Branco

**Hemisferectomia unilateral na vida adulta como modelo para o estudo  
das assimetrias motoras em camundongos**

Rio de Janeiro

2009

Danielle Paes Machado de Andrade Branco

**Hemisferectomia unilateral na vida adulta como modelo para o estudo das assimetrias motoras em camundongos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Carneiro Filgueiras

Coorientador: Prof. Dr. Alex Chistian Manhães

Rio de Janeiro

2009

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

B816 Branco, Danielle Paes Machado de Andrade.  
Hemisferectomia unilateral na vida adulta como modelo para o estudo das assimetrias motoras em camundongos / Danielle Paes Machado de Andrade Branco. - 2009.  
64 f. : il.

Orientador: Cláudio Carneiro Figueiras.  
Coorientador: Alex Christian Manhães.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental.

1. Dominância cerebral - Teses. 2. Hemisferectomia - Teses. 3. Lateralidade - Teses. 4. Camundongo como animal de laboratório - Teses. I. Figueiras, Cláudio Carneiro. II. Manhães, Alex Christian. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 612.82

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Danielle Paes Machado de Andrade Branco

**Hemisferectomia unilateral na vida adulta como modelo para o estudo das assimetrias motoras em camundongos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 31 de julho de 2009.

Orientadores:

---

Prof. Dr. Cláudio Carneiro Filgueiras (Orientador)  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

---

Prof. Dr. Alex Christian Manhães (Coorientador)  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Marcos Rochedo Ferraz  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

---

Prof. Dr. Gustavo Adolpho de Carvalho  
Hospital Adventista Silvestre/RJ

---

Prof. Dr. Cláudio Carneiro Filgueiras  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Rio de Janeiro

2009

## AGRADECIMENTOS

A minha família, em especial minha mãe Cléa e minha avó, tanto pelo carinho e incentivo como pelo apoio financeiro que permitiu a realização desse sonho. Entenderam as ausências, a falta de tempo e aturaram todo mau humor. Obrigada

Aos meus orientadores Prof Cláudio Filgueiras e Prof Alex Manhães que me cativaram com o amor pelo que fazem, que estiveram sempre presentes nessa caminhada e foram verdadeiros mestres me fazendo ter orgulho da equipe que faço parte. A Prof Yael Abreu-Villaça agradeço por ser um exemplo e pela ajuda nesse processo.

Ao pessoal do laboratório de Neurofisiologia que me acolhe desde 2004. Andréia e a Fabi por todo apoio e ajuda com a histologia e com as intermináveis gelatinizações; ao Anderson pelo carinho, incentivo e pelas conversas sempre inspiradas; a Fê pela alegria de sempre; a Mabel, a Carla, Monique, Ulisses, a Ana Heloísa, Anna do flúor, Aninha, Juliana, Nathy que fazem de cada dia um aprendizado e meu amigo André que além de ser 2003/2 agora é meu parceiro no laboratório. Obrigada a todos.

A 2003/2 como um todo que foi minha família por quatro anos. Vocês me fizeram amar ainda mais a Biologia, me ensinaram a ser companheira tanto nas chopadas quanto nas provas. Cada um de vocês é parte de mim e meu agradecimento será eterno. Minha caminhada depois de formada é fruto do que construímos juntos e do que espero construir com aqueles que continuarem fazendo parte do meu convívio.

Aos meus amigos que mesmo sem entender que raios eu fazia no laboratório encontrei apoio em todos os momentos. Ao amigo Kleber Bighi e sua família pela amizade e amor desde sempre. Ao amigo Leonardo Passos pela companhia de todos os momentos. A amiga Djane Heidtmann por tudo. E a todos os amigos que de alguma forma estiveram presentes em minha caminhada.

Não há como saber se os padrões encontrados pelo hemisfério direito são reais ou imaginários, a não ser submetendo-os ao exame pelo hemisfério esquerdo. Por outro lado, o raciocínio exclusivamente crítico é estéril e condenado ao fracasso, na falta da compreensão criativa e intuitiva, sem procura por novos modelos. A solução de problemas complicados através da modificação das circunstâncias exige a atividade dos dois hemisférios cerebrais: o caminho para o futuro atravessa o corpo caloso.

*Carl Sagan, The Dragons of Eden, 1977*

## RESUMO

BRANCO, Danielle Paes Machado de Andrade. *Hemisferectomia unilateral na vida adulta como modelo para o estudo das assimetrias motoras em camundongos*. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

Em humanos, uma série de estudos vem sugerindo que o hemisfério esquerdo é particularmente importante no controle e execução de movimentos. De modo geral, lesões no hemisfério esquerdo promovem déficits motores mais pronunciados que lesões semelhantes no hemisfério direito. Neste trabalho utilizamos a hemisferectomia unilateral para avaliar a contribuição de cada hemisfério na função motora em camundongos. Camundongos Suíços adultos foram submetidos a hemisferectomia unilateral direita (HD) ou esquerda (HE) ou aos procedimentos de controle. Quinze dias após cirurgia, a coordenação motora de cada animal foi avaliada no teste da locomoção forçada em cilindro giratório (Rotarod). A latência para a queda do grupo controle foi significativamente maior que a do grupo HD e não diferiu da do grupo HE. Para auxiliar a interpretação dos resultados obtidos no ROTAROD, uma parte dos animais foi submetida a uma bateria adicional de testes comportamentais na seguinte seqüência: teste de campo aberto, avaliação qualitativa da assimetria sensório-motora, teste da grade elevada e teste de suspensão pela cauda. De modo interessante, no teste da grade elevada, enquanto o grupo HD apresentou o desempenho da pata traseira esquerda (contralateral à lesão) significativamente pior que o da direita, os grupos Controle e HE não apresentaram diferenças entre as duas patas traseiras. De modo análogo ao observado em humanos, nossos resultados sugerem uma ação assimétrica dos hemisférios cerebrais no controle da função motora em camundongos.

Palavras-chave: Assimetria cerebral. Hemisferectomia. Lateralidade. Camundongos.

## ABSTRACT

A series of studies in humans have suggested that the planning and the control of movements are asymmetrically performed by the hemispheres. In general, lesions in the left hemisphere promote motor deficits that are more pronounced than similar lesions in the right hemisphere. In the present work, we used unilateral hemispherectomy to study the relative importance of each hemisphere in the control of movement in mice. Adult Swiss mice were submitted to right unilateral hemispherectomy (RH) or left unilateral hemispherectomy (LH) and sham surgery. Fifteen days after surgery, the motor coordination of each mouse was evaluated in the forced locomotion in rotating cylinder test (Rotarod). The latency to fall was significantly lower in right-hemispherectomized group as compared to control and did not differ from the left-hemispherectomized group. To help the interpretation of results obtained in the Rotarod test, a part of the sample was subjected to a additional battery of behavioral tests in the following sequence: open field test, qualitative assessment of sensory-motor asymmetry, foot fault test and tail suspension test. Interestingly, in the foot fault test, while the RH group showed significantly worse performance with the left hind limb (contralateral to the lesion) than with the right, the control group and the LH group showed no differences between both hind limbs. Similarly to what is observed in humans, our results suggest that the two hemispheres contribute asymmetrically to control of movement in mice.

Keywords: Cerebral asymmetry. Hemispherectomy. Laterality. Mice.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Animal realizando o teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD).....	24
Figura 2 –	Animal realizando o teste de campo aberto. O animal se desloca pelos retângulos da periferia.....	25
Figura 3 –	Foto de um animal mostrando o local onde era feita a estimulação tátil com o cilindro de borracha e esquema de um animal que apresenta abdução da pata traseira contralateral à lesão Radiografia cefalométrica lateral com o traçado utilizado para as análises.....	27
Figura 4 –	Animal realizando o teste da grade elevada.....	28
Figura 5 –	Esquema mostrando o aparelho usado para o teste de suspensão pela cauda e como as imagens eram obtidas.....	29
Figura 6–	Fotografias de cérebros de dois camundongos submetidos à hemisferectomia do lado esquerdo .....	31
Figura 7 –	Médias da latência para a queda no cilindro giratório dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado do lado esquerdo (HE) hemisferectomizado do lado direito (HD).....	32
Figura 8 –	Médias da ambulação dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) na periferia e no centro do campo aberto.....	33
Figura 9 –	Médias da ambulação na periferia do campo aberto para cada um dos intervalos de tempo para o tempo total de teste dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD).....	34
Figura 10–	Médias do percentual de ambulação no centro ( $C/(C+Pe)$ ) dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) para cada um dos intervalos de tempo e para o tempo total de teste.....	35
Figura 11–	Médias do percentual de deslocamentos para esquerda e direita realizados nos retângulos situados nas quinas do campo aberto dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD).....	36

Figura 12– Médias do número de acertos realizados por todas as patas dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada.....	38
Figura 13– Médias do número de acertos realizados pelas patas dianteiras e traseiras e pelas patas esquerdas e direitas dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada.....	39
Figura 14– Médias dos números de erros e percentual de erros cometidos pelas quatro patas dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada.....	40
Figura 15– Médias do número de erros e percentual de erros cometidos pelas patas dianteiras e traseiras dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada.....	41
Figura 16– Médias do número de erros cometidos pelas patas dianteiras e traseiras do lado esquerdo e direito dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada.....	43
Figura 17– Médias do percentual de erros cometidos pelas patas dianteiras e traseiras do lado esquerdo e direito dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada.....	44
Figura 18– Média do número de contrações do tronco ao longo dos intervalos de tempo e para o tempo total de teste dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste de suspensão pela cauda.....	45
Figura 19– Média do percentual de contrações do tronco realizadas para a esquerda e direita dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste de suspensão pela cauda.....	46
Figura 20– Média do percentual de contrações do tronco realizadas para o lado preferido dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste de suspensão pela cauda.....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%ERRO	Percentual de erro
%CLP	Percentual de contrações para o lado preferido
ANOVA	Análise de variância univariada
ANOVA <sub>r</sub>	Análise de variância de repetição
C	Centro do campo aberto
CONT	Animais controle
F -	razão de Fischer.
FSLD	<i>Fisher's Least Significant Difference Test</i>
gl	Graus de liberdade
HD	Animais sem o hemisfério direito
HE	Animais sem o hemisfério esquerdo
n -	Número de animais
P -	Valor de prova
Pe	Periferia do campo aberto
ROTAROD	Teste de locomoção forçada no cilindro giratório
t -	Teste t de Student

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
1	<b>OBJETIVOS</b> .....	21
2	<b>METODOLOGIA</b> .....	22
2.1	<b>Animais</b> .....	22
2.2	<b>Procedimentos cirúrgicos</b> .....	22
2.2.1	<u>Grupo hemisferectomizado</u> .....	22
2.2.2	<u>Grupo controle</u> .....	23
2.3	<b>Testes comportamentais</b> .....	23
2.3.1	<u>Teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD)</u> .....	23
2.3.2	<u>Teste de campo aberto</u> .....	24
2.3.3	<u>Avaliação qualitativa da assimetria sensório-motora e postural</u> .....	26
2.3.4	<u>Teste da grade elevada</u> .....	27
2.3.5	<u>Teste de suspensão pela cauda</u> .....	28
2.4	<b>Processamento histológico dos cérebros</b> .....	29
2.5	<b>Análise estatística</b> .....	30
3	<b>RESULTADOS</b> .....	31
3.1	<b>Análise morfológica</b> .....	31
3.2	<b>Teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD)</b> .....	32
3.3	<b>Teste de campo aberto</b> .....	33
3.4	<b>Avaliação qualitativa da assimetria sensório-motora e postural</b> .....	36
3.5	<b>Teste da grade elevada</b> .....	37
3.5.1	<u>Número de acertos</u> .....	37
3.5.2	<u>Número de erros e percentual de erros (%ERRO)</u> .....	40
3.6	<b>Teste de suspensão pela cauda</b> .....	45
4	<b>DISCUSSÃO</b> .....	47
4.1	<b>Resumo dos resultados</b> .....	47
4.2	<b>Teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD)</b> .....	47
4.3	<b>Efeitos da hemisferectomia unilateral na locomoção e ansiedade</b> .....	48
4.4	<b>Efeitos da hemisferectomia unilateral na função sensorial e na postura</b> .....	49

4.5	<b>Efeitos da hemisferectomia unilateral sobre o movimento do tronco.....</b>	51
4.6	<b>Efeitos da hemisferectomia unilateral sobre o controle do movimento das patas.....</b>	52
5	<b>CONCLUSÕES.....</b>	54
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	55

## INTRODUÇÃO

Assimetrias inter-hemisféricas cerebrais são consideradas diferenças morfológicas, bioquímicas e funcionais existentes entre os dois hemisférios. As assimetrias morfológicas consistem em diferenças estruturais, macroscópicas ou microscópicas, que podem ser analisadas com variáveis tais como peso, área, volume e espessura (Rosen 1996). Assimetrias bioquímicas são caracterizadas por diferenças no conteúdo, metabolismo, liberação e captação de neurotransmissores e na quantidade de receptores (Budilin et al. 2008; Fink et al. 2009; Lent e Schmidt 1993). As assimetrias funcionais são divididas em especializações hemisféricas e comportamentos lateralizados (Geschwind e Galaburda 1987; Harrington 1989; Lent e Schmidt 1993). Entende-se por especialização hemisférica o fato de que um dos hemisférios apresenta uma vantagem funcional para a realização de uma tarefa quando comparado ao outro hemisfério. Os comportamentos lateralizados podem ser caracterizados por um favorecimento sistemático de um dos lados ou podem apresentar-se também no relacionamento do indivíduo com o espaço ou ambiente que o cerca. No primeiro caso, podemos citar como exemplo o fato de que a grande maioria dos humanos utiliza preferencialmente a mão direita para escrever (Annet 2002). No segundo, podemos citar como exemplo, o fato de que tanto humanos como animais tendem, durante o deslocamento, a rodar preferencialmente mais para um lado do que para o outro (Bracha et al. 1987; Filgueiras e Manhães 2004; Filgueiras e Manhães 2005; Krahe et al. 2001; Mohr et al. 2003; Schmidt et al. 1999). De modo geral, é bem aceita a idéia de que os comportamentos lateralizados decorrem de especializações hemisféricas subjacentes e que estas, por sua vez, são geradas por assimetrias morfológicas e bioquímicas (Beaton 1997; Kertesz 1994).

As assimetrias inter-hemisféricas cerebrais podem ser estudadas tanto do ponto de vista individual como populacional. No primeiro caso, importa saber se os hemisférios cerebrais são diferentes entre si e, em havendo uma diferença, a magnitude desta. No segundo caso, é preciso estudar o padrão populacional de distribuição das diferenças individuais que porventura existam. Uma população em que os indivíduos não apresentam diferenças relevantes entre os hemisférios é dita simétrica (Palmer 2004; Vallortigara e Rogers 2005). Por sua vez, populações em que as assimetrias individuais existem sem que, no entanto, um lado seja sistematicamente favorecido (50% de indivíduos com viés para a esquerda e 50% com viés para a direita) são conhecidas como antissimétricas (Palmer 2004; Vallortigara e Rogers 2005). Finalmente, populações em que um lado é sistematicamente favorecido são classificadas como assimétricas (Palmer 2004; Vallortigara e Rogers 2005). Por exemplo,

quase a totalidade dos humanos apresenta uso preferencial de uma das mãos para a escrita (esquerda ou direita), estando fartamente documentado que apenas uma minoria pode ser classificada como ambidestra na realização desta tarefa (Annet 2002). Considerando-se que esta população apresenta um número significativo de indivíduos lateralizados, é possível, em um segundo momento, determinar se esta população apresenta um dos lados sistematicamente favorecido na maior parte destes indivíduos. No caso da escrita, sabemos que a maior parte da população usa a mão direita preferencialmente (Annet 2002). Desta forma, as assimetrias individuais são a base a partir da qual as assimetrias populacionais podem ser estudadas. Curiosamente, embora haja uma relação direta entre as assimetrias individuais e as populacionais, já foi demonstrado, inclusive em nosso laboratório, que os mecanismos genéticos e epigenéticos que levam ao estabelecimento de assimetrias podem agir separadamente no nível individual e/ou no populacional (Aboitiz et al. 2003;Filgueiras e Manhães 2004;Filgueiras e Manhães 2005;Lent e Schmidt 1993).

### **Aspectos históricos**

Até a segunda metade do século XIX prevalecia a crença de que o cérebro era uma massa homogênea e univalente do ponto de vista funcional (Buckingham 2006;Geschwind e Galaburda 1987;Harrington 1989). Bichat, em sua obra “Recherches physiologiques sur la vie et la mort” (Investigações fisiológicas sobre a vida e morte), propôs que as duas metades que compõe o cérebro, além de apresentarem notável regularidade em sua forma, eram completamente idênticas e simetricamente divididas na linha média (Gold 1827). Para muitos investigadores e médicos da época era ilógico que em um cérebro simétrico, os hemisférios cerebrais tivessem funções distintas (Buckingham 2006). A existência de dois hemisférios cerebrais era análoga à presença de dois rins e pulmões, constituindo fundamentalmente uma proteção adicional contra uma eventual injúria em um dos lados (Buckingham 2006;Harrington 1989;Lohr e Caligiuri 1997). Mesmo os localizacionistas, que defendiam a idéia de que as funções mentais eram executadas por porções restritas do cérebro, acreditavam que do ponto de vista funcional, cada hemisfério era a imagem especular do outro sendo cada atividade do cérebro desempenhada bilateralmente pelos dois hemisférios (Harrington 1989).

Apesar dos estudos pioneiros de Marc Dax e seu filho Gustave Dax mostrando que pacientes com hemiplegia do lado direito do corpo apresentavam problemas na fala (Finger e

Roe 1999;Roe e Finger 1996), a primeira série de estudos que chamou a atenção da comunidade científica para o fato de que cada hemisfério cerebral poderia ter atributos particulares foi publicada por Paul Broca em 1861 e 1865 (Berker et al. 1986;Buckingham 2006;Harrington 1989). Broca demonstrou que "a perda da faculdade da linguagem articulada" observada em oito pacientes estava associada à lesões situadas na parte posterior da circunvolução frontal inferior (áreas 44 e 45 de Brodmann) do hemisfério esquerdo sendo que o mesmo não ocorria em um paciente com lesão na mesma região do hemisfério direito (Benton 1977;Keller et al. 2009).

No ano de 1876, Carl Wernicke demonstrou que a lesão de outra parte hemisfério esquerdo, o lobo temporal posterior, causava também problemas na linguagem, mas mais ao nível da compreensão do que da expressão (Harrington 1989). As primeiras observações consistentes de assimetrias morfológicas foram realizadas de forma independente por Eberstaller em 1884 e por Cunningham em 1892 que demonstraram que o comprimento da Fissura de Sylvius era maior no hemisfério esquerdo (Geschwind e Galaburda 1987;Lent e Schmidt 1993). A série de estudos feita por Liepmann entre 1900 e 1910 mostrou que pacientes com lesões no hemisfério esquerdo apresentavam prejuízos na habilidade para executar movimentos e gestos precisos em ambas as mãos enquanto que pacientes com lesões em áreas homólogas do hemisfério direito apresentaram déficits predominantemente restritos a mão esquerda (Goldenberg 2003). Esses trabalhos, além de representarem o ponto de partida na história do conhecimento sobre as assimetrias cerebrais, serviram de base para o conceito de dominância do hemisfério esquerdo para as funções mentais, que vigoraria pelo menos pelos próximos 50 anos (Benton 1977;Geschwind e Galaburda 1987;Harrington 1989).

Durante a primeira metade do século XX, apesar dos trabalhos de John Hughlings Jackson sugerindo que a área posterior do hemisfério direito exercia um papel fundamental no reconhecimento e memória visual (Jackson 1915) e Babinski publicados entre 1918 e 1923 relacionando lesões do hemisfério direito com a anosognosia (Benton 2000) prevalecia a crença de que o hemisfério direito, não-dominante, possuía várias regiões "silenciosas" sem nenhum significado funcional aparente (Benton 2000;Geschwind e Galaburda 1987).

Nas décadas de 1960 e 1970, Sperry e colaboradores submeteram pacientes comissurotomizados na vida adulta a uma série de engenhosas técnicas de investigação neuropsicológica que permitiam o envio de estímulos sensoriais a cada hemisfério de modo exclusivo (Gazzaniga 2005). Desta forma, tornava-se possível testar separadamente as habilidades de cada lado do cérebro, pois, na ausência das comissuras cerebrais, as informações que chegam a um hemisfério não podem ser transmitidas ao outro (Sperry



1961;Sperry 1964). Conseqüentemente, estes pacientes apresentavam uma série de deficiências que passaram a ser conhecidas, em conjunto, como Síndrome de Desconexão Inter-hemisférica (Geschwind 1965a;Geschwind 1965b). Por exemplo, em decorrência da especialização do hemisfério esquerdo para a fala, a maioria dos pacientes comissurotomizados não conseguia descrever verbalmente imagens projetadas no campo visual esquerdo, objetos manipulados pela mão ou pé esquerdo, odores sentidos pela narina direita, assim como outros estímulos processados pelo hemisfério direito. Os estudos realizados nos pacientes comissurotomizados confirmaram boa parte dos achados obtidos com pacientes com lesões cerebrais unilaterais e revelaram uma série de habilidades hemisfério direito como, por exemplo, o processamento espacial e algumas habilidades musicais, derrubando o conceito de dominância cerebral e abrindo o caminho de modo definitivo para o reconhecimento das assimetrias cerebrais (Benowitz et al. 1983;Franco e Sperry 1977;Gazzaniga 1998;Gazzaniga 2005;Geschwind e Galaburda 1987;Harrington 1989;Plourde e Sperry 1984).

Com o desenvolvimento de técnicas como a ressonância magnética nuclear funcional (fMRI) e a tomografia por emissão de pósitrons (PET) no últimos trinta anos, tornou-se possível analisar a atividade cerebral durante a execução de diferentes tarefas não só em pacientes, como também, em sujeitos normais (Fink et al. 2009;Levitin e Tirovolas 2009;Macsweney et al. 2008;Witte et al. 2008). Estas técnicas permitem comparar diferenças entre os hemisférios no grau de atividade de regiões homólogas durante a realização de determinadas tarefas, de modo que é possível fazer inferências quanto à capacidade que cada hemisfério tem para realizar tais tarefas. Nos últimos anos, associação de técnicas de imagem com a estimulação magnética transcraniana (TMS) e a administração de radioligantes, por exemplo, tem permitido a avaliação das assimetrias cerebrais ao nível de neurotransmissão (Cannon et al. 2009;Fink et al. 2009;Ko et al. 2008;Witte et al. 2008) e a investigação da hipótese que as especializações hemisféricas, conhecidas desde o século XIX, apresentam como fato gerador assimetrias morfológicas e bioquímicas (Beaton 1997;Kertesz 1994).

### **Assimetrias funcionais em humanos**

Uma das características mais marcantes da lateralidade humana é que, na grande maioria dos casos, as assimetrias são observadas ao nível populacional. Dentre as especializações hemisféricas mais conhecidas estão a do hemisfério esquerdo da maioria das pessoas para o controle dos aspectos cognitivo-rationais da linguagem e o cálculo

matemático, e a especialização do hemisfério direito para a compreensão musical, a identificação de relações espaciais e o controle do estado emocional e aspectos afetivos da linguagem (Alves et al. 2009; Beaton 1997; Josse e Tzourio-Mazoyer 2004; Kertesz 1994; Rilea 2008; Toga e Thompson 2003; Tranel et al. 2002; Weinberg 2000; Wittling e Roschmann 1993). Dentre os comportamentos lateralizados em humanos, o uso preferencial de uma das mãos para escrever é um dos mais estudados. Destros e canhotos constituem respectivamente 90% e 10% da população (Annet 2002; Geschwind e Galaburda 1987; Schmidt et al. 2000). A preferência manual para escrita já era conhecida pelas civilizações mais antigas (Corballis 1983) e se observa em diversas raças e culturas (Annet 2002; Oldfield 1971), inclusive em povos nos quais a escrita é realizada da direita para a esquerda (Corballis 1983).

De particular interesse para este estudo, nas últimas duas décadas vêm crescendo o número de trabalhos que mostram que a especialização do hemisfério esquerdo vai além do uso mão direita para a escrita. (Bradshaw 2001; Haaland 2006; Schaefer et al. 2007). Estudos realizados em pacientes com lesões unilaterais têm confirmado os achados de Liepmann mostrando que indivíduos com lesões no hemisfério esquerdo apresentam declínios significativos na habilidade motora da mão ipsolateral à lesão que não são observados nos pacientes com lesões em áreas homólogas do hemisfério direito (Haaland e Harrington 1996). Em relação ao membro ipsolateral à lesão, o hemisfério esquerdo tem se mostrado mais eficiente que o hemisfério direito no controle da velocidade da trajetória em tarefas de apreensão (Bradshaw 2001; Haaland et al. 2004b) sendo que, quanto maior o grau de complexidade da tarefa e o planejamento motor exigido para sua execução, mais evidente se torna a vantagem do hemisfério esquerdo (Haaland et al. 2004a; Harrington e Haaland 1991; Harrington e Haaland 1992). Estudos de imagem realizados em indivíduos normais têm mostrado que as áreas pré-frontal, pré-motora e parietal do hemisfério esquerdo são ativadas durante a realização de tarefas com ambas as mãos enquanto que as mesmas áreas do hemisfério direito são apenas ativadas pelo uso da mão contralateral (Schluter et al. 2001). Tomados em conjunto, estes dados suportam a idéia de que o hemisfério esquerdo, não apenas contribui para os movimentos do braço ipsolateral, mas, sugere que tal contribuição é lateralizada uma vez que o hemisfério direito parece não ter a mesma habilidade. (Schaefer et al. 2007). Além disso, tem sido demonstrado que o hemisfério esquerdo tem um desempenho melhor que o direito no monitoramento do sucesso de uma ação em andamento, na correção de erros e no preciso controle de parâmetros do movimento como força, velocidade e amplitude (Bradshaw 2001).

Apesar da grande quantidade de estudos descrevendo assimetrias motoras em humanos, pouco se sabe ainda a respeito dos mecanismos envolvidos com sua origem. Um fator limitante nos estudos realizados em pacientes com lesões unilaterais é a dificuldade de parear lesões de mesma natureza em regiões homólogas de cada hemisfério. Além disso, diferenças com respeito ao gênero, faixa etária, nível socioeconômico, uso de medicamentos ou substâncias psicoativas podem afetar as medidas de assimetria cerebral e contribuir para aumentar a variabilidade dos resultados (Faurie et al. 2008; Jung et al. 2007; O'Mahony et al. 2008; Witelson et al. 2006). Vale mencionar ainda que, a maioria dos trabalhos em indivíduos normais envolve a realização de técnicas de obtenção de imagens de alto custo. Desta forma, a utilização de modelos animais abre grandes possibilidades de investigar os mecanismos biológicos envolvidos com a manifestação das assimetrias motoras o que pode ser de fundamental importância para o desenvolvimento de estratégias que possam reverter ou minimizar os transtornos observados em indivíduos com lesões no sistema nervoso.

### **Assimetrias cerebrais em animais**

Até meados da década de 70 acredita-se que as assimetrias cerebrais eram uma característica exclusiva da espécie humana (Hammond 2002; Harris 2000; Vallortigara et al. 1999). Um marco importante na mudança dessa idéia foram os estudos de Nottebohm e colaboradores (Nottebohm et al. 1976; Nottebohm 1984) que demonstraram que tanto a secção do nervo hipoglosso esquerdo como lesões no núcleo hiperestriado ventral provocavam um defeito mais acentuado na produção de canto do que lesões nas mesmas estruturas do lado direito. Desde então, uma série de estudos demonstrando que diversas espécies apresentam diferenças inter-hemisféricas morfológicas, bioquímicas e funcionais vem se acumulando (Bisazza et al. 1998; Glick e Shapiro 1984a; Glick e Shapiro 1984b; Lent e Schmidt 1993; Yaman et al. 2003).

Atualmente, a diversidade de espécies em que as assimetrias são encontradas é de tal ordem (Bisazza et al. 1998; Cantalupo et al. 2008; Leliveld et al. 2008; Rogers e Andrew 2002; Valencia-Alfonso et al. 2009; Vallortigara 2006; Yaman et al. 2003) que tem sido possível especular sobre a origem evolutiva destas assimetrias. Do ponto de vista teórico, a existência de assimetrias em diversas espécies, passando por peixes, anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos, parece sugerir que os mecanismos associados ao estabelecimento das mesmas têm origem em épocas ainda mais remotas da evolução, e que as assimetrias constituíram-se

em uma vantagem evolutiva significativa (Bradshaw e Rogers 1996;Rogers et al. 2004b;Vallortigara et al. 1999;Vallortigara 2006;Vallortigara e Rogers 2005).

A possível origem comum dos mecanismos que levam ao estabelecimento ontogenético das assimetrias nas diferentes espécies é um fator a mais favorecendo o uso de modelos animais nos estudos que procuram entender como a lateralidade se desenvolve em humanos (Corballis 2008;Lent e Schmidt 1993;Vallortigara et al. 1999). Neste sentido, as bases genéticas e epigenéticas do estabelecimento das assimetrias têm sido sistematicamente estudadas nos diversos modelos animais com os quais podemos contar atualmente (Filgueiras e Manhães 2004;Filgueiras e Manhães 2005;Manhães et al. 1993;Manhães et al. 2003;Rogers e Andrew 2002;Vallortigara 2000;Vallortigara 2006;Yaman et al. 2003). Dentre as espécies mais utilizadas para o estudo das assimetrias cerebrais estão os roedores.

Do ponto de vista funcional, a grande maioria dos estudos realizados em roedores envolve a análise de comportamentos lateralizados. Para tanto vários paradigmas vêm sendo desenvolvidos, tais como: a escolha por um dos braços de um labirinto em “T” (Schwartzing e Borta 2005), o teste do uso preferencial de uma das patas (Manhães et al. 1993;Manhães et al. 2005), o comportamento exploratório em campo aberto (Luhmann et al. 2005;Schwartzing et al. 1993) e o comportamento rotacional (Filgueiras et al. 2009;Filgueiras e Manhães 2004;Filgueiras e Manhães 2005;Glick e Shapiro 1984b;Luhmann et al. 2005;Schwartzing e Borta 2005). Vale mencionar que, na maioria dos casos, as assimetrias comportamentais têm sido observadas apenas a nível individual. Contudo, alguns autores têm descrito assimetrias populacionais. Em uma amostra de 602 ratos, foi demonstrada uma pequena, mas significativa, tendência populacional favorecendo os animais que rodavam preferencialmente para a direita (Glick e Ross 1981). Tal tendência direcional foi descrita também em ratos machos no labirinto em T (Castellano et al. 1987).

Especializações hemisféricas também têm sido descritas em roedores. Estudos realizados em ratos têm mostrado uma especialização do hemisfério direito de ratos no processamento emocional (Besson e Louilot 1995;Denenberg et al. 1980;Thiel e Schwartzing 2001). Estudos de Carlson e colaboradores (Carlson et al. 1987;Carlson et al. 1988;Carlson e Glick 1991) têm demonstrado, em ratos, que os efeitos da exposição a estímulos traumáticos não controláveis parece ser mais pronunciado no hemisfério direito. Lesões localizadas provocadas pela ligação da artéria cerebral média sugerem que o hemisfério esquerdo de ratos está mais envolvido com a atividade motora exploratória (Robinson e Coyle 1979). Contudo, até o presente não temos conhecimento de nenhum estudo mostrando uma assimetria no controle da função motora em roedores.

## **Hemisferectomia como modelo para estudo das assimetrias cerebrais em roedores**

A hemisferectomia pode ser descrita como um processo cirúrgico em que um dos hemisférios cerebrais é removido ou funcionalmente desconectado (Dijkerman et al. 2008; Machado et al. 2003). Em humanos, a hemisferectomia ainda é utilizada em crianças para o tratamento de alguns tipos graves e intratáveis de epilepsia (Spencer e Huh 2008). Esse procedimento cirúrgico também tem sido realizado em idade precoce, quando uma lesão extensa de um dos hemisférios ameaça prejudicar a capacidade funcional do hemisfério ileso (de Almeida e Marino, Jr. 2005).

Apesar do caráter invasivo da hemisferectomia, a maioria dos indivíduos apresenta um bom grau de recuperação dos déficits sensoriais, motores e linguísticos observados logo após a cirurgia (Machado et al. 2003; Marsh et al. 2009), especialmente aqueles indivíduos operados em idade precoce (Spencer e Huh 2008; van et al. 2004; VanLancker-Sidtis 2004). Várias hipóteses vêm sendo propostas para explicar esta notável capacidade de recuperação funcional observada nos pacientes hemisferectomizados (Machado et al. 2003), contudo, na maioria dos casos estas carecem de suporte experimental capaz de validá-las.

A hemisferectomia unilateral também tem sido estudada em roedores (Filgueiras et al. 2006; Hicks e D'Amato 1970; Krahe et al. 2001). Ratos submetidos à hemisferectomia durante o primeiro dia pós-natal apresentam uma boa recuperação dos déficits sensorio motores praticamente não diferindo dos respectivos controles em torno de duas semanas após a cirurgia (Hicks e D'Amato 1970; Krahe et al. 2001). Em contraste, quando a cirurgia é realizada durante a idade adulta, tanto ratos como camundongos apresentam marcantes déficits visuais e táteis no hemicampo sensorial contralateral que persistem por, pelo menos, 15 dias após a cirurgia (Hicks e D'Amato 1970; Krahe et al. 2001). Do ponto de vista motor, ao longo de 21 dias após a cirurgia, os ratos hemisferectomizados durante a vida adulta se mostram capazes de saltar de uma plataforma para outra posicionada a 40 cm de distância de modo equivalente aos controles (Hicks e D'Amato 1970; Krahe et al. 2001). Em nosso laboratório demonstramos que, 15 dias após a cirurgia, camundongos hemisferectomizados durante a vida adulta nadam distâncias similares aos seus controles durante uma sessão de nado livre de 5 minutos (Filgueiras et al. 2006; Krahe et al. 2001).

Considerando que, quando a função de um hemisfério é suprimida, o comportamento observado reflete o funcionamento do hemisfério intacto (Huston 1983; Rotenberg 2004) e que os animais apresentam, em um período relativamente curto, boa recuperação da cirurgia sendo

capazes de realizar vários tipos de testes comportamentais (Filgueiras et al. 2006; Hicks e D'Amato 1970; Krahe et al. 2002), a hemisferectomia unilateral pode ser uma ferramenta valiosa para o estudo de especializações hemisféricas, especialmente em roedores. Neste sentido a hemisferectomia unilateral em camundongos tem sido utilizada em nosso laboratório para avaliar a contribuição de cada hemisfério na realização de determinados comportamentos (Filgueiras et al. 2006; Krahe et al. 2001). Em estudo recente, sugerimos que a remoção do hemisfério direito durante a vida adulta afeta de modo diferenciado a resposta ao estresse de roedores em testes de nado livre, sem afetar a capacidade natatória dos animais (Filgueiras et al. 2006). O fato de que a capacidade dos animais locomoverem, medida em testes de campo aberto (Hicks e D'Amato 1970) ou de nado livre (Filgueiras et al. 2006; Krahe et al. 2002) está relativamente preservada em ratos e camundongos submetidos à hemisferectomia unilateral torna este modelo particularmente interessante para avaliar se, de modo análogo ao observado em humanos, o controle motor é lateralizado em camundongos.

## 1 OBJETIVOS

O objetivo geral do presente estudo foi testar a hipótese de que o controle do movimento é lateralizado em camundongos. Para tanto, submetemos animais hemisferectomizados na vida adulta ao teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD). Vale mencionar que este teste comportamental tem sido amplamente utilizado para avaliar a coordenação motora em roedores (Brooks e Dunnett 2009; Lalonde e Strazielle 2007). Além disso, com o intuito de auxiliar a interpretação dos resultados obtidos no ROTAROD, uma parte dos animais foi submetido a uma bateria adicional de testes: campo aberto, avaliação qualitativa das assimetrias sensório-motora e postural, teste da grade elevada e teste de suspensão pela cauda. Estes testes têm sido classicamente utilizados para avaliar vários aspectos da função neural que potencialmente podem afetar o desempenho motor dos camundongos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Animais

Os experimentos descritos a seguir foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG) da UERJ e estão de acordo com a declaração de Helsinque e com o Guia de cuidados e uso de animais de laboratório adotado e promulgado pelo Instituto Nacional de Saúde.

Os animais usados nesse estudo foram 68 camundongos Suíços machos. Dentre estes, 25 camundongos foram criados e mantidos no biotério do Laboratório de Neurofisiologia da UERJ e 43 camundongos foram adquiridos do Instituto Vital Brasil (Niterói, RJ) e mantidos no biotério do Laboratório de Neurofisiologia da UERJ por pelo menos 15 dias antes dos testes. Todos os animais tiveram livre acesso à ração e água. O ciclo de luminosidade do biotério era de 12 horas (início do período escuro = 13:00h) e a temperatura ambiente de aproximadamente de 23 °C.

### 2.2 Procedimentos cirúrgicos

Na idade adulta (mínimo = 3 meses, máximo = 5 meses), 24 animais foram submetidos à hemisferectomia unilateral direita (grupo HD), 22 animais submetidos à hemisferectomia esquerda (grupo HE) e 22 animais foram submetidos ao procedimento controle. Todos os animais foram individualizados após os procedimentos cirúrgicos.

#### 2.2.1 Grupo hemisferectomizado

Para a realização das cirurgias, os animais do grupo hemisferectomizado foram anestesiados com injeção intraperitoneal de tribromoetanol. Com auxílio de um microscópio cirúrgico, e de instrumentação cirúrgica adequada, era feito um corte na pele na porção superior da cabeça dos animais. O crânio era exposto do lado a ser lesado e era feita uma pequena abertura (aproximadamente 5 x 3mm) com a utilização de uma broca cirúrgica. A hemisferectomia unilateral era realizada por sucção e a cavidade resultante preenchida com Gelfoam® (Upjohn, Canada) na tentativa de minimizar o sangramento. Após a hemostasia, o pedaço do crânio removido era recolocado em seu lugar e a abertura na pele fechada com cola



acrílica. A escolha do lado a ser hemisferectomizado foi feita randomicamente. O objetivo da cirurgia foi remover o hemisfério cerebral da sua porção rostral até o tentório sem cruzar a linha média.

### 2.2.2 Grupo controle

No grupo controle, os animais foram anestesiados e tiveram a pele cortada de maneira idêntica aos animais do grupo hemisferectomizado. Alguns minutos após esse procedimento, a abertura na pele foi fechada com cola acrílica.

## 2.3 **Testes comportamentais**

A avaliação comportamental foi realizada quinze dias após os procedimentos cirúrgicos. Todos os animais foram submetidos ao teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD) que é um dos testes mais utilizados para a avaliação da coordenação motora em roedores (Brooks e Dunnett 2009; Lalonde e Strazielle 2007). Para auxiliar a interpretação dos resultados obtidos no ROTAROD, uma parte dos animais (24 animais, sendo 8 de cada grupo) foi submetida a uma bateria de testes comportamentais na seguinte sequência: teste de campo aberto, avaliação qualitativa da assimetria sensório-motora, teste da grade elevada e teste de suspensão pela cauda. Todos os testes foram realizados na fase escura do ciclo circadiano (entre as 13:30h e 18:00h). O posicionamento dos aparelhos na sala de testes, a temperatura da sala e o horário de início das sessões foram mantidos ao longo de todo o estudo.

### 2.3.1 Teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD)

Neste estudo foi utilizado o ROTAROD (*Letica Scientific Instruments*, Barcelona, Espanha) para camundongos (Figura 1). Apesar do aparelho possuir quatro baias, com espaço de 8cm para cada camundongo, apenas um animal foi testado por vez. No ROTAROD, cada camundongo deve caminhar continuamente sobre o cilindro em rotação para evitar a queda. A validade deste teste se baseia no fato de que o medo da queda faz com que o animal tente permanecer sobre o aparelho o máximo de tempo possível (Dunham e Miya 1957; Lalonde e Strazielle 2007). Considerando que a maior parte das tentativas de salto ocorrem quando as condições do teste são incompatíveis com as capacidades motoras do animal, é bem aceita a

idéia que quanto maior for a capacidade de coordenação motora do animal, mais tempo ele permanecerá sobre o cilindro (Brooks e Dunnett 2009; Dunham e Miya 1957; Hamm et al. 1994; Lalonde e Strazielle 2007).

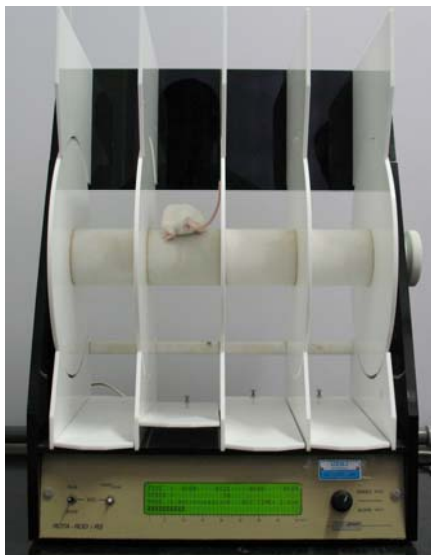


Figura 1. Animal realizando o teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD).

Para a realização do teste, os animais eram colocados sobre o cilindro (diâmetro = 3.2cm, altura = 20 cm), que acelerava continuamente de 4 a 40 rpm/min em 2 minutos. A latência para a queda foi registrada automaticamente através de um sensor mecânico localizado no chão do aparelho. Vale mencionar que o aparelho também registrava a velocidade do cilindro no momento da queda. Contudo, como houve uma alta correlação entre as medidas de latência e a velocidade (coeficientes de correlação de Pearson maiores que 0,990), optamos por apresentar apenas os resultados relativos às medidas de latência. Cada animal foi submetido a três sessões experimentais com intervalo de 60 segundos entre cada sessão.

A opção pelo protocolo no qual a velocidade é aumentada de 4 a 40 rpm/min em 2 minutos foi feita porque esta condição permite ao animal o ajuste gradual à velocidade de rotação do cilindro e minimiza a quantidade de saltos não associados à capacidade do animal se manter sobre o cilindro (Lalonde e Strazielle 2007).

### 2.3.2 Teste de campo aberto

Desde o seu desenvolvimento (Hall 1934), o teste de campo aberto vem sendo amplamente utilizado e é hoje uma das ferramentas mais populares para estudo da atividade

locomotora em roedores (Prut e Belzung 2003;Whishaw et al. 2006). Além disso, com base no fato de que os roedores têm uma tendência natural de evitar espaços abertos, a atividade medida na parte central do campo é normalmente utilizada como um indicador de ansiedade (Choleris et al. 2001;Prut e Belzung 2003;Van e Raber 2005). Um aumento da atividade ou permanência na porção central do campo pode ser interpretado como um efeito ansiolítico, enquanto que o contrário, isto é, a diminuição destas medidas, como um efeito ansiogênico (Prut e Belzung 2003).

O teste de campo aberto foi realizado uma hora após o término do ROTAROD. A arena do teste de campo aberto consiste de uma caixa retangular de polipropileno (37,6 x 30,4 x 17 cm), que foi dividida em 16 retângulos (9,4 cm x 7,6 cm), sendo 12 periféricos e 4 centrais (Figura 2). Para realização dos testes, os animais foram colocados sempre no centro da caixa. O tempo de duração da sessão experimental foi de 10 minutos. Após o fim de cada sessão, a caixa era lavada com água com o intuito de eliminar excretas e minimizar odores que poderiam interferir no comportamento dos animais testados subsequentemente. Todas as sessões foram gravadas por uma câmera de vídeo posicionada a um metro acima da caixa e a avaliação do comportamento foi feita a partir do material gravado.

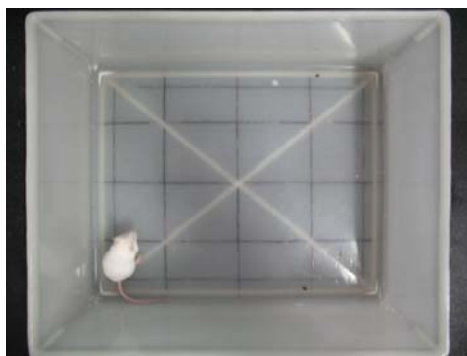


Figura 2. Animal realizando o teste de campo aberto. O animal se desloca pelos retângulos da periferia.

Para a análise do comportamento no campo aberto, foram registrados escores de ambulação ao longo de intervalos de 1 minuto. A ambulação é medida pelo número de retângulos em que o animal coloca as quatro patas. Foram avaliadas a ambulação total, a ambulação nos 4 retângulos do centro (C), nos 12 retângulos da periferia (Pe) e o percentual de atividade no centro ( $C/(C+Pe)$ ). Considerando-se que os resultados referentes às comparações entre as medidas de centro e periferia podem ser influenciados pelo maior número de retângulos na periferia da arena, as medidas de ambulação no centro e na periferia foram respectivamente divididas pelo número de retângulos em cada região da arena ( $C/4$  e  $Pe/12$ ). Adicionalmente, foram registrados o número e o sentido dos deslocamentos realizados pelos animais nos retângulos situados nas quinas do campo aberto.

### 2.3.3 Avaliação qualitativa da assimetria sensório-motora e postural

Com o intuito de avaliar os déficits sensório-motores e posturais dos camundongos hemisferectomizados, os animais foram submetidos a uma série de exames neurológicos simples logo após a realização do teste de campo aberto. Particularmente, foram examinados: o reflexo de piscar os olhos, a inclinação da cabeça, resposta à estimulação de cada campo visual, resposta à estimulação tátil e posicionamento da pata traseira durante a marcha. Vale mencionar que toda esta avaliação durava em torno de 5 minutos por animal.

Para a avaliação do reflexo de piscar, o animal era removido da sua gaiola e contido por um experimentador. Em seguida foi observado se o animal era capaz de fechar as pálpebras em resposta a um suave jato de ar projetado separadamente sobre cada olho. Após este exame, o animal foi devolvido a sua gaiola. Em seguida foram avaliadas as respostas à estimulação de cada campo visual e a resposta à estimulação tátil. No primeiro caso, um cilindro de borracha (diâmetro = 0.5 cm) foi progressivamente aproximado em direção a um dos lados da cabeça do animal e foi observado se o animal reagia à aproximação antes que o cilindro tocasse suas vibrissas. No segundo caso, o mesmo cilindro foi suavemente encostado sobre a pele do animal na região lateral do corpo próxima a pata traseira (Figura 3A) e foi observado se o animal reagia ao toque.

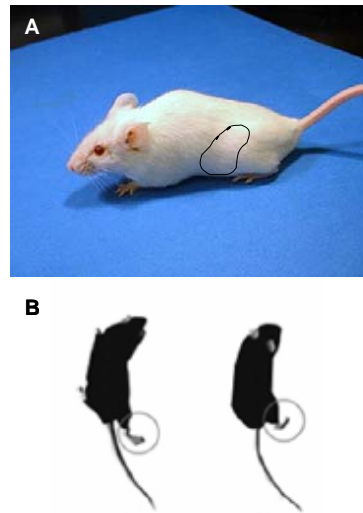


Figura 3. Em A, foto de um animal com esquema mostrando o local onde era feita a estimulação tátil com o cilindro de borracha. Em B, esquema retirado de Shelton et al 2008 mostrando um animal que apresenta abdução da pata traseira contralateral à lesão durante o deslocamento (esquerda) e parado (direita).

Com base no material gravado durante o teste de campo aberto, foram avaliados a inclinação da cabeça em relação ao eixo vertical e o posicionamento das patas traseiras. No segundo caso, observamos principalmente se as patas traseiras apresentavam alterações no movimento como hiperextensão ou abdução durante a locomoção ou se eram posicionadas de modo desalinhado enquanto o animal permanecia parado (Figura 3B). Vale mencionar que tanto a inclinação da cabeça como o posicionamento das patas traseiras são medidas amplamente utilizadas para avaliar a postura em roedores submetidos à lesão unilateral do sistema nervoso (Shelton et al. 2008; Smith e Curthoys 1989).

#### 2.3.4 Teste da grade elevada

Uma hora após o teste de campo aberto, os animais foram submetidos ao teste da grade elevada. Para tanto, uma grade metálica (50cm x 55cm) com espaçamento de 1cm entre as barras de 2mm de diâmetro foi posicionada horizontalmente a uma altura de 52cm (Figura 4). Os animais foram colocados na porção central da grade e o comportamento foi filmado por uma câmera posicionada por baixo da grade.



Figura 4. Animal realizando o teste da grade elevada. Notar que a gravação das imagens foi feita por baixo da grade.

O número de acertos e erros cometidos por cada pata foi registrado durante 1 minuto enquanto o animal se locomovia pela grade. Foi considerado um erro cada vez que o animal, ao tentar dar um passo, falhava em apoiar uma das patas sobre as barras escorregando ou simplesmente colocando a pata diretamente no espaço entre as barras. O percentual de erros (% ERRO) foi determinado para cada pata pela fórmula:  $\%ERRO = 100 \times \text{número de erros com uma pata} / \text{total de passos com a respectiva pata}$ .

A medida do número de erros no teste da grade elevada tem sido utilizada como um indicador da habilidade proprioceptiva e de coordenação motora das patas (Hernandez e Schallert 1988; Shelton et al. 2008). Além disso, as medidas de erro têm mostrado uma boa correlação com a extensão de lesões corticais em roedores (Bona et al. 1997).

### 2.3.5 Teste de suspensão pela cauda

O teste de suspensão pela cauda foi realizado uma hora após o teste da grade elevada e foi utilizado para avaliar os movimentos do tronco do animal. O teste foi realizado em um cilindro metálico com 32cm de altura e 28cm de diâmetro com uma abertura na parede de 7cm de diâmetro que permitia a filmagem dos movimentos do animal (Figura 5). Para a realização das filmagens, a base do cilindro era colocada sobre uma mesa de luz com um filtro que só permitia a passagem de luz vermelha ( $\lambda > 620 \text{ nm}$ ). Com o auxílio de fita adesiva, o

animal era preso pela cauda a uma haste metálica ligada a um disco metálico. Em seguida, o disco de metal era colocado no plano superior do cilindro e a haste metálica era erguida até que a base da cauda dos animais tocasse o disco. Esta medida visava evitar que o animal agarrasse a própria cauda, mas permitia que este movimentasse o tronco livremente.

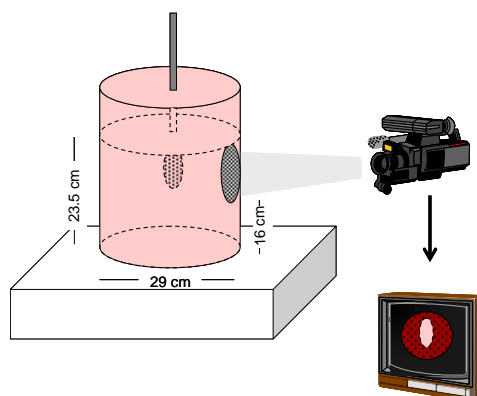


Figura 5 Esquema mostrando o aparelho usado para o teste de suspensão pela cauda e como as imagens eram obtidas.

Os testes duraram 6 minutos. Os movimentos de contração de tronco para os lados do corpo (esquerda e direita) foram registrados ao longo de intervalos consecutivos de 1 minuto de teste. Os movimentos do animal na direção de seu ventre e de seu dorso (em direção da câmera e afastando-se dela) não foram contados. Adicionalmente, para avaliar a magnitude da assimetria no teste de suspensão para cauda foi utilizado o percentual de contrações para o lado preferido que foi determinado pela seguinte fórmula:  $\%CLP = (\text{maior valor entre as medidas obtidas para a esquerda e direita} / \text{número total de contrações}) \times 100$ .

## 2.4 Processamento histológico dos cérebros

Após a realização do teste comportamental, todos os animais dos grupos controle e hemisferectomizado foram anestesiados profundamente com éter e em seguida, utilizando-se uma bomba peristáltica, os animais foram perfundidos por via cardíaca com solução salina (NaCl a 0,9 %), seguida de solução de paraformaldeído 4%. Os cérebros foram retirados dos respectivos crânios e guardadas em solução crioprotetora de paraformaldeído 4% e sacarose 20%. Após um período mínimo de aproximadamente 24h, os cérebros foram embebidos em OCT (*Optimal Cutting Temperature*, Sakura Finetek Inc. EUA), para poderem ser congelados

em nitrogênio líquido a  $-96^{\circ}\text{C}$  e cortados em seções coronais de  $40\ \mu\text{m}$  num criostato (SLEE Mainz/MEV. Alemanha) a  $-20\ ^{\circ}\text{C}$ . Foram montados apenas o primeiro de cada três cortes realizados. Todos os cortes foram corados com Cresil Violeta (Sigma Chemical Co. EUA) pelo método de Nissl para posterior avaliação morfológica. Os objetivos da análise morfológica foram avaliar a reprodutibilidade da extensão da hemisferectomia e se esta se restringiu a apenas um dos hemisférios.

## 2.5 Análise estatística

Os dados são apresentados como médias e erros padrões. Para todos os testes estatísticos o limite de significância foi de  $P < 0,05$  (bicaudal).

Para avaliar o efeito da hemisferectomia no ROTAROD, no campo aberto, no teste da grade elevada e no teste de suspensão pela cauda, foram utilizadas análises de variância de repetição (ANOVA). Em todos os casos, os animais foram classificados em função do Tratamento (controle, HE ou HD). O fator de repetição para o ROTAROD foi a sessão e para as medidas no campo aberto e no teste de suspensão pela cauda foi o intervalo tempo. No teste da grade elevada foram utilizados como fatores de repetição o eixo Antero-posterior (pata dianteira ou traseira) e o lado (pata esquerda ou direita). Testes FLSD (*Fisher's Least Significant Difference Test*) foram utilizados para as análises *post hoc*.

Análises de variância univariadas (ANOVA) foram utilizadas para as comparações envolvendo as medidas de centro e periferia e o sentido dos deslocamentos realizados pelos animais nos retângulos situados nas quinas do campo aberto e para as comparações envolvendo o número de acertos e erros no teste da grade elevada. Em todos os casos, os animais foram classificados em função do Tratamento (controle, HE ou HD). Testes FLSD foram utilizados para as análises *post hoc*.

O teste exato de Fisher foi utilizado para as comparações envolvendo o percentual de animais que apresentou respostas à estimulação sensorial bilateral ou unilateral.



### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Análise morfológica

A análise histológica mostrou que em nenhum caso a lesão ultrapassou os limites da linha média atingindo o outro hemisfério. Todos os animais apresentaram a eliminação de praticamente todo o prosencéfalo (Figura 6). Um pequeno remanescente do córtex foi visto em alguns animais nas extremidades rostral e caudal. O tálamo foi praticamente todo eliminado, restando em alguns casos, apenas um pequeno remanescente. O tronco cerebral não foi aspirado.

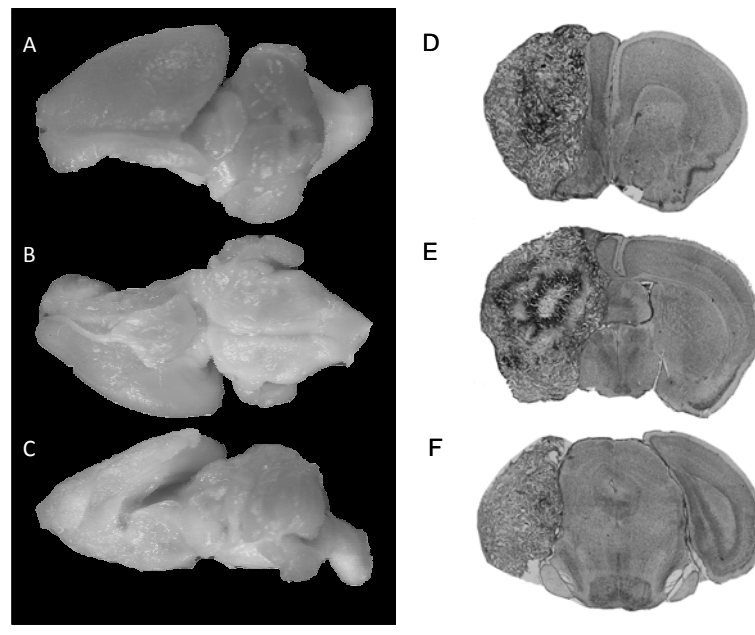


Figura 6. Cérebros de dois camundongos submetidos à hemisferectomia do lado esquerdo. Na coluna da esquerda, fotografias de vista dorsal (A), vista ventral (B) e vista lateral (C). Na coluna da direita fotomicrografias de corte coronal corados pelo método de Nissl em nível anterior (D), medial (E) e posterior (F). Barra de calibração = 5 mm.

### 3.2 Teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD)

Para todos os grupos a latência para queda aumentou ao longo das sessões experimentais (efeito da Sessão:  $F = 11,2$ ;  $gl = 1,7/112,4$ ;  $P < 0,001$ ) sendo que as diferenças foram mais pronunciadas da primeira para a segunda sessão (Figura 7A). Contudo, o grupo HD teve latências para queda significativamente menores que o grupo controle ao longo das três sessões (efeito do Lado hemisferectomizado:  $F = 6,1$ ;  $gl = 2/65$ ;  $P < 0,01$ ). Não foram observadas diferenças entre os grupos HD e HE nem entre os grupos HE e Controle. (Figura 7B).

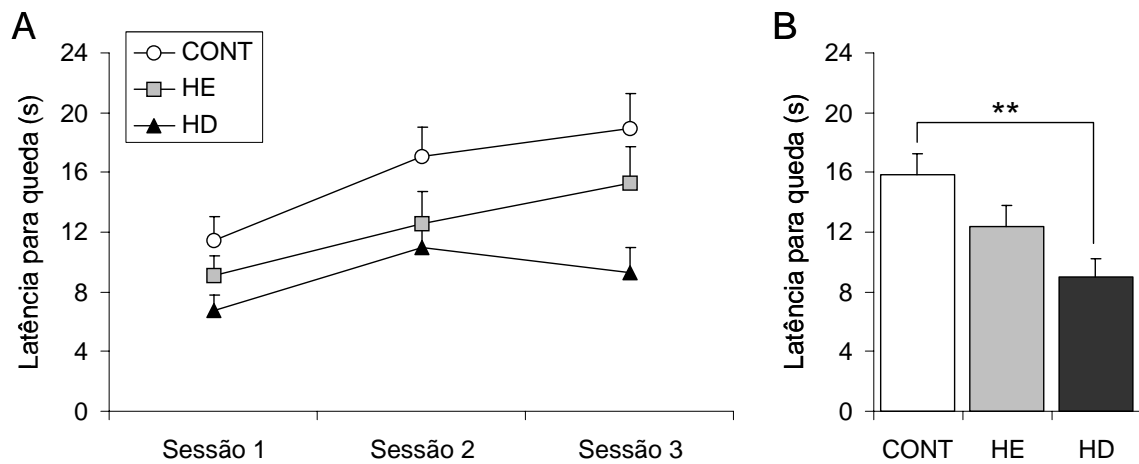


Figura 7. Médias da latência para a queda no cilindro giratório dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado do lado esquerdo (HE) hemisferectomizado do lado direito (HD). Em A, estão representados os valores obtidos em cada uma sessão. Em B, os dados foram compilados através das sessões. Notar que a atividade dos animais dos grupos hemisferectomizados foi sempre menor que a do grupo controle. Teste FLSD: comparações entre CONT e HD, \*\*  $P < 0,01$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

### 3.3 Teste de campo aberto

De modo geral, a maior parte da atividade no campo aberto ocorre na periferia (Figura 8A). Se considerarmos que os animais possuem igual probabilidade de estar sobre qualquer um dos retângulos, poderíamos supor que este resultado decorre do simples fato de que o número de retângulos na periferia ( $n = 12$ ) é maior que o do centro ( $n = 4$ ). Contudo, quando corrigimos a ambulação pelo número de retângulos em cada região do campo aberto, a atividade na periferia se manteve significativamente superior àquela no centro para todos os grupos (Figura 8B).

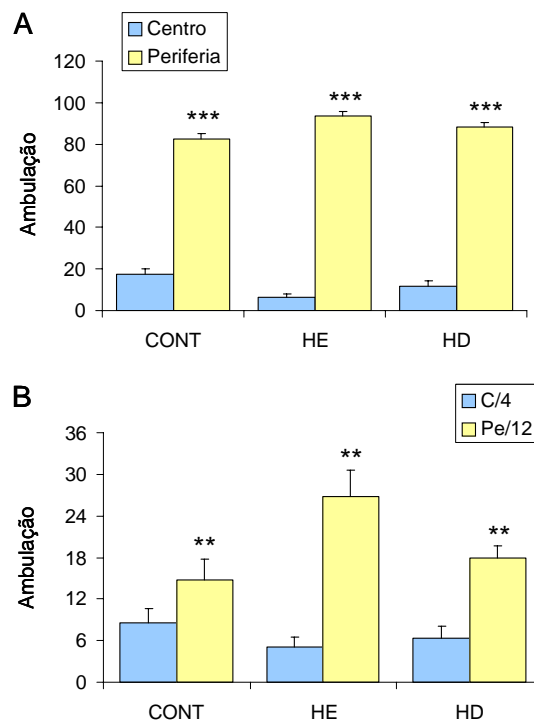


Figura 8. Médias da ambulação dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) na periferia e no centro do campo aberto (A). Em B, os valores obtidos na periferia (Pe) e no centro (C) estão corrigidos pelo número correspondente de retângulos em cada região. Notar que nos dois casos a ambulação foi maior na periferia para todos os grupos. Teste FLSD: comparações entre Pe e C, \*\*\*  $P < 0,001$ ; Pe/12 e C/4, \*\*  $P < 0,01$  e. Linhas verticais representam erro padrão da média.

Para a medida da ambulação na periferia, observamos marcantes diferenças entre os grupos a partir do segundo intervalo de tempo (interação Intervalo de tempo  $\times$  Lado hemisferectomizado:  $F = 3,4$ ;  $gl = 5,7/59,5$ ;  $P < 0,01$ ). Conforme indicado na Figura 9A, do segundo para o quinto intervalo de tempo, a ambulação diminuiu significativamente no grupo

controle (t de Student = 2,4; gl = 7;  $P < 0,05$ ), não mudou significativamente no grupo HD (t de Student = 1,6; gl = 7;  $P > 0,05$ ) e aumentou significativamente no grupo HE (t de Student = 3,7; gl = 7;  $P < 0,01$ ). A partir do sexto intervalo de tempo, a ambulação do grupo HE se manteve significativamente maior que a dos demais (Figura 9A). Este fato contribuiu, em grande parte para que no tempo total do teste (Figura 9B), a atividade do grupo HE na periferia tivesse sido significativamente maior que a dos demais (efeito do Lado hemisferectomizado:  $F = 5,1$ ; gl = 2/21;  $P < 0,05$ ).

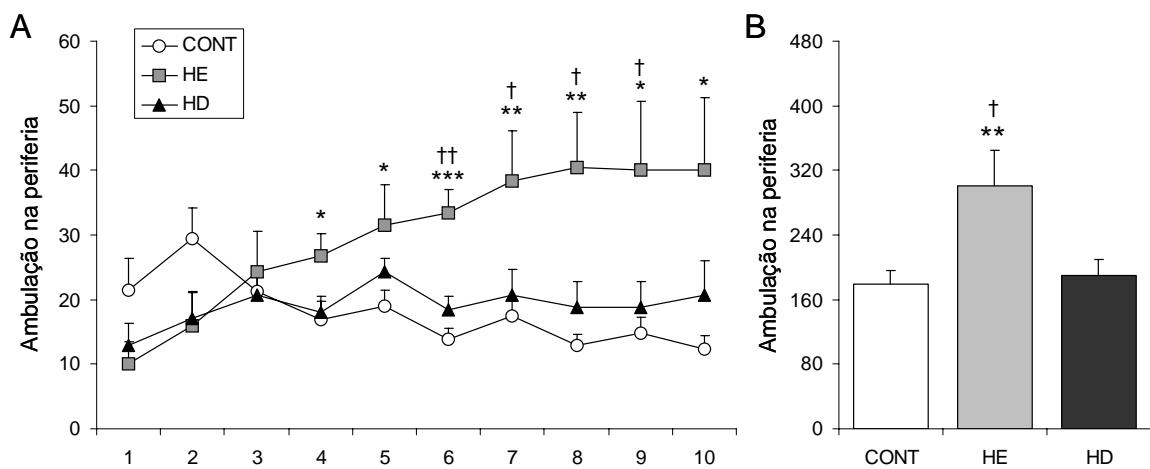


Figura 9. Médias da ambulação na periferia do campo aberto para cada um dos intervalos de tempo (A) para o tempo total de teste (B) dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD). Notar que o grupo HE teve maior atividade que os demais. Teste FLSD: comparações entre CONT e HE, \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$ ; comparações entre HE e HD, †  $P < 0,05$ , ††  $P < 0,01$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

Para a medida da ambulação no centro, não foram observados efeitos significativos do intervalo de tempo e do lado hemisferectomizado nem interação significativa entre estes fatores. Quando a ambulação no centro foi corrigida pela ambulação total ( $C/(C+Pe)$ ), foram observadas marcantes diferenças entre os grupos a partir do segundo intervalo de tempo (interação Intervalo de tempo  $\times$  Lado hemisferectomizado:  $F = 2,3$ ;  $gl = 10,4/93,9$ ;  $P < 0,01$ ). Conforme indicado na Figura 10A, do segundo para o sexto intervalo de tempo, os valores de  $C/(C+Pe)$  aumentaram progressivamente no grupo controle (t de Student = 3,7;  $gl = 7$ ;  $P < 0,01$ ) e não mudaram significativamente nos grupos HE (t de Student = 0,1;  $gl = 7$ ;  $P = 0,95$ ) e HD (t de Student = 0,8;  $gl = 7$ ;  $P = 0,44$ ). Este fato contribuiu em grande parte para que, no tempo total do teste (Figura 10B), os valores de  $C/(C+Pe)$  do grupo controle tivessem sido significativamente maiores que os dos demais grupos (efeito do Lado hemisferectomizado:  $F = 9,6$ ;  $gl = 2/18$ ;  $P = 0,001$ ).

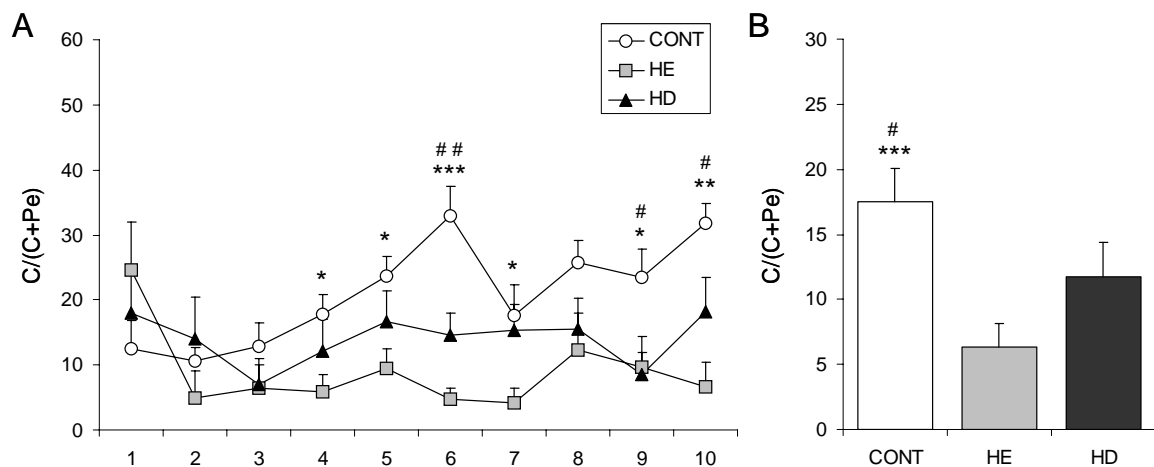


Figura 10. Médias do percentual de ambulação no centro ( $C/(C+Pe)$ ) dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) para cada um dos intervalos de tempo (A) e para o tempo total de teste (B). Notar que os animais do grupo controle apresentaram um maior percentual de ambulação no centro do que os demais grupos. Teste FLSD: comparações entre CONT e HE, \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$ ; comparações entre CONT e HD, #  $P < 0,05$ , ##  $P < 0,01$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

Em relação ao sentido dos deslocamentos realizados pelos animais nos retângulos situados nas quinas do campo aberto, enquanto os animais do grupo controle não apresentaram um favorecimento sistemático de nenhum dos lados, todos os animais do grupo hemisferectomizado se deslocaram preferencialmente para o lado contralateral a lesão (Figura 11).

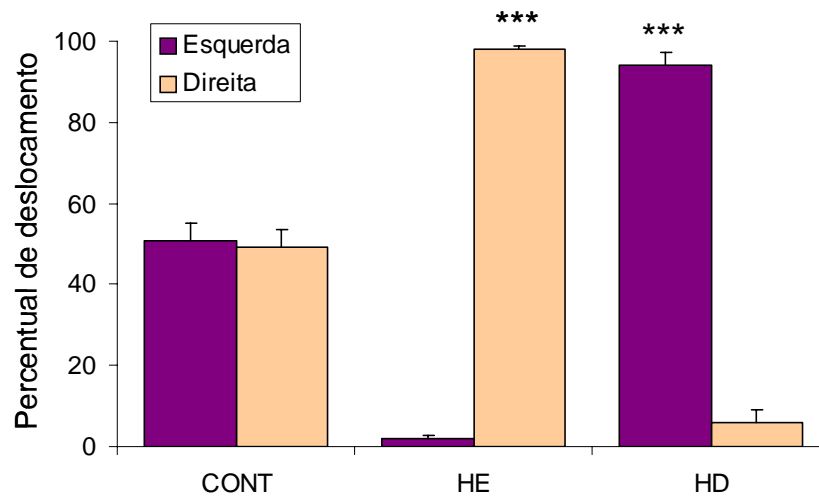


Figura 11. Médias do percentual de deslocamentos para esquerda e direita realizados nos retângulos situados nas quinas do campo aberto dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD). Notar que os animais hemisferectomizados praticamente só se deslocaram para o lado contralateral à lesão. Teste FLSD: comparações entre esquerda e direita, \*\*\*  $P < 0,001$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

### 3.4 Avaliação qualitativa da assimetria sensório-motora e postural

Na tabela 1, estão representados os resultados da avaliação qualitativa das assimetrias sensório-motoras. Todos os animais de todos os grupos foram capazes de piscar os dois olhos em resposta a estimulação. Contudo, diferenças significativas foram observadas entre os animais controles e hemisferectomizados com relação aos estímulos feitos em cada hemicampo visual e nas laterais do corpo. Enquanto os animais do grupo controle responderam de igual maneira aos estímulos realizados em ambos os lados, os dois grupos de animais hemisferectomizados praticamente só responderam aos estímulos realizados no lado ipsilateral ao hemisfério ablado. O percentual de animais que responderam apenas aos estímulos realizados no lado ipsilateral à lesão dos grupos HD e HE não diferiu significativamente para os estímulos visuais ou táteis.

Tabela 1: Avaliação das assimetrias sensório-motoras

<i>Teste</i>	<i>Respostas obtidas</i>			
1) Reflexo de piscar os olhos	Bilateral	Só lado esquerdo	Só lado direito	Sem resposta
Grupo Controle	8 (100%)	-	-	-
Grupo HE	8 (100%)	-	-	-
Grupo HD	8 (100%)	-	-	-
2) Estimulação do campo visual	Bilateral	Só lado esquerdo	Só lado direito	Sem resposta
Grupo Controle	8 (100%)	-	-	-
Grupo HE	-	7 (88%)	-	1 (12%)
Grupo HD	-	-	8 (100%)	-
3) Estimulação tátil unilateral	Bilateral	Só lado esquerdo	Só lado direito	Sem resposta
Grupo Controle	5 (63%)	-	1 (12%)	2 (25%)
Grupo HE	2 (25%)	4 (50%)	-	2 (12%)
Grupo HD	-	-	7 (88%)	1 (12%)

Em relação aos resultados da avaliação qualitativa da assimetria postural, nenhum animal do grupo controle apresentou inclinação aparente da cabeça. Apenas dois animais do grupo HD e dois animais do grupo HE apresentaram desajuste do posicionamento da cabeça, sendo que em todos os casos a cabeça se mantinha inclinada levemente para o lado contralateral a lesão durante a maior parte do tempo. Em relação à postura das patas, todos os animais do grupo controle permaneceram com as quatro patas encobertas pelo corpo por praticamente todo o tempo. Em contraste, a maior parte dos animais hemisferectomizados (7 animais do grupo HD e 7 do grupo HE) apresentou a abdução da pata posterior traseira contralateral, sendo que esta permanecia visível por praticamente toda a sessão experimental.

### 3.5 Teste da grade elevada

#### 3.5.1 Número de acertos

De modo geral, os animais do grupo controle apresentaram maior número de acertos (efeito do Tratamento:  $F = 5,0$ ;  $gl = 2/21$ ;  $P < 0,05$ ) do que os animais dos grupos hemisferectomizados (Figura 12).

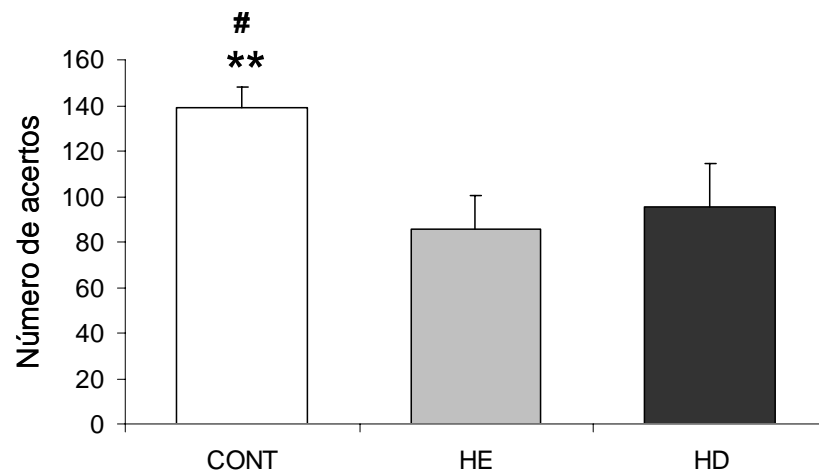


Figura 12. Médias do número de acertos realizados por todas as patas dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada. Notar que animais do grupo controle apresentaram maior número de acertos do que os animais dos dois grupos hemisferectomizados. Teste FLSD: comparações entre CONT e HE, \*\*  $P < 0,01$ ; comparações entre CONT e HD, #  $P < 0,05$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.



Como indicado nas Figuras 13A e 13B, para cada um dos grupos, o número de acertos das patas dianteiras foi maior que o das patas traseiras (efeito Antero-posterior:  $F = 68,3$ ;  $gl = 1/21$ ;  $P < 0,001$ ) e não diferiu significativamente entre as patas do lado esquerdo e direito.

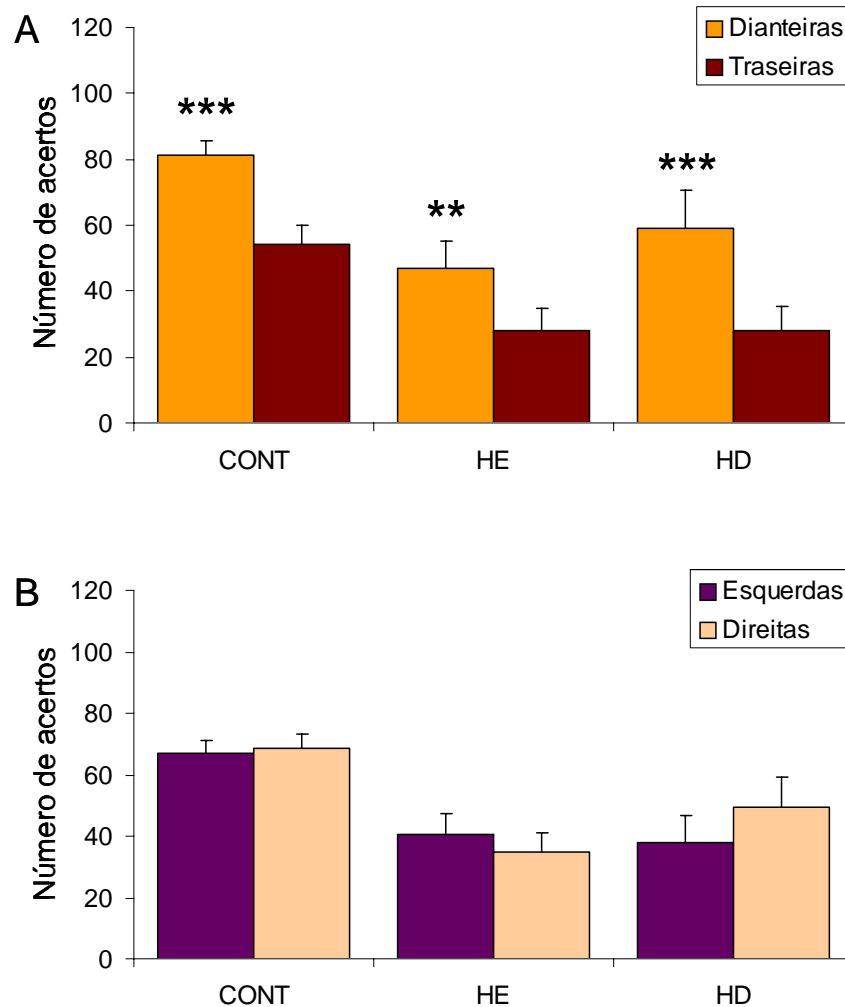


Figura 13. Médias do número de acertos realizados pelas patas dianteiras e traseiras (A) e pelas patas esquerdas e direitas (B) dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada. Notar que as patas dianteiras tiveram maior número acertos que as patas traseiras. Teste FLSD: comparações entre dianteiras e traseiras, \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

### 3.5.2 Número de erros e percentual de erros (%ERRO)

De modo geral os animais do grupo controle cometeram menos erros que os animais dos grupos hemisferectomizados. Particularmente, tanto o número de erros (efeito do Tratamento:  $F = 4,9$ ;  $gl = 2/21$ ;  $P < 0,05$ ) como o %ERRO (efeito do Tratamento:  $F = 6,6$ ;  $gl = 2/20$ ;  $P < 0,01$ ) do grupo controle foram significativamente menores ao dos grupos HE e HD (Figura 14A e 14B).

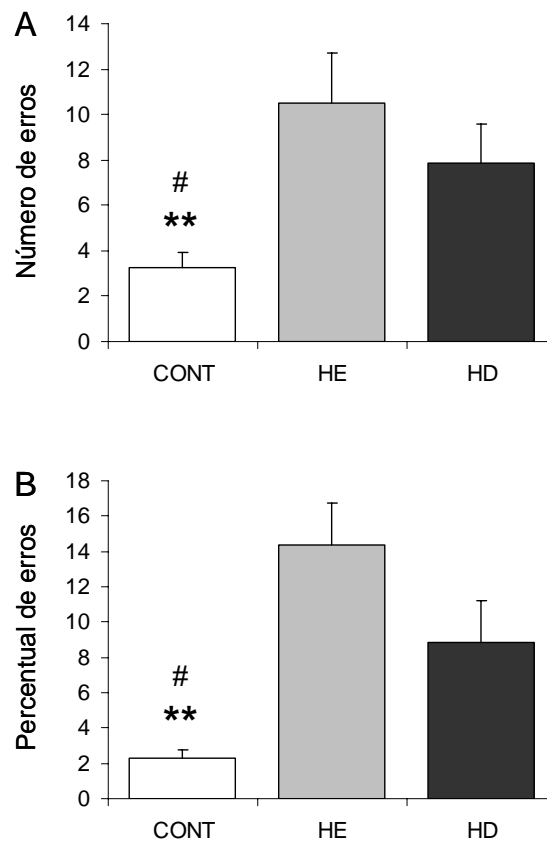


Figura 14. Médias dos números de erros (A) e percentual de erros (B) cometidos pelas quatro patas dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada. Notar que animais dos grupos hemisferectomizados apresentaram maior número de erros do que os animais do grupo controle. Teste FLSD: comparações entre CONT e HE, \*\*  $P < 0,01$ ; comparações entre CONT e HD, #  $P < 0,05$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

De modo geral, as patas dianteiras cometeram maior número de erros (efeito Antero-posterior:  $F = 38,0$ ;  $gl = 1/21$ ;  $P < 0,001$ ) e maior %ERRO (efeito Antero-posterior:  $F = 18,1$ ;  $gl = 1/20$ ;  $P < 0,001$ ) do que as patas traseiras. (Figura 15A e 15B) As diferenças entre as patas dianteiras e traseiras foram mais pronunciadas nos grupos de animais hemisferectomizados do que no grupo controle tanto para o número de erros (interação Antero-posterior  $\times$  Tratamento:  $F = 7,8$ ;  $gl = 2/21$ ;  $P < 0,01$ ) quanto para o %ERRO (interação Antero-posterior  $\times$  Tratamento:  $F = 7,2$ ;  $gl = 2/20$ ;  $P < 0,01$ ).

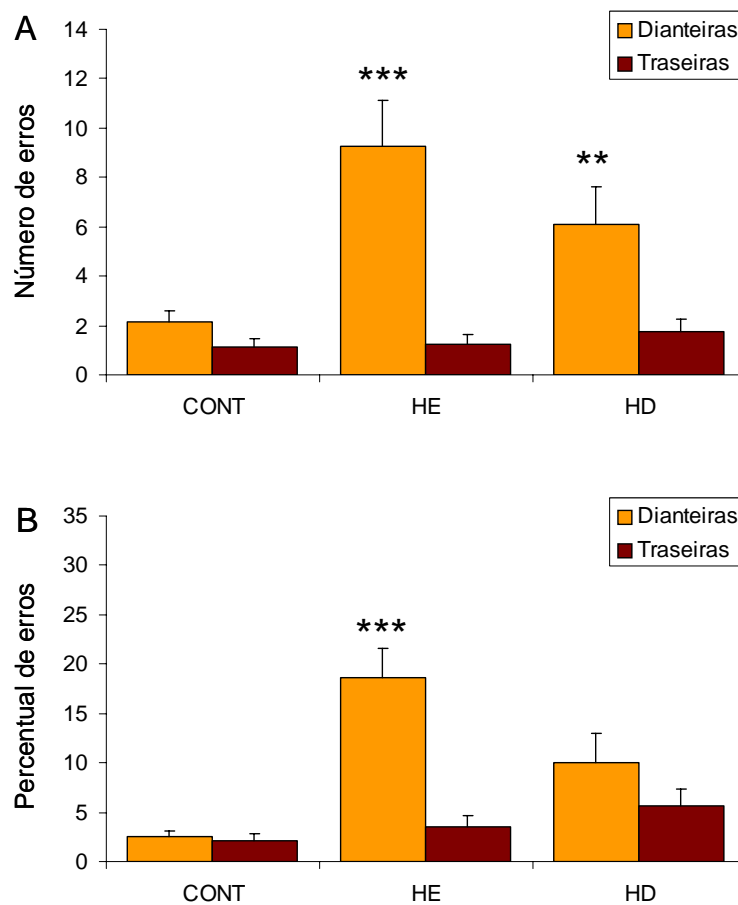


Figura 15. Médias do número de erros (A) e percentual de erros (B) cometidos pelas patas dianteiras e traseiras dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada. Notar que as patas dianteiras tiveram maior número e percentual de erros que as patas traseiras. Teste FLSD: comparações entre dianteiras e traseiras, \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

Diferenças entre os grupos foram observadas em relação aos erros cometidos pelas patas esquerdas e direitas (interação Esquerda-direita  $\times$  Tratamento:  $F = 29,1$ ;  $gl = 2/21$ ;  $P < 0,001$ ) sendo que os resultados foram mais evidentes para as patas dianteiras (interação

Esquerda-direita  $\times$  Antero-posterior  $\times$  Tratamento:  $F = 40,6$ ;  $gl = 2/21$ ;  $P < 0,001$ ). Enquanto no grupo controle o número de erros não diferiu entre as patas dianteiras esquerda e direita, nos grupos hemisferectomizados o número de erros foi significativamente maior nas patas dianteiras do lado contralateral a lesão (Figura 16).

Diferenças entre os grupos foram também observadas em relação ao %ERRO das patas esquerdas e direitas (interação Esquerda-direita  $\times$  Tratamento:  $F = 31,1$ ;  $gl = 2/20$ ;  $P < 0,001$ ). Contudo, para o grupo HD os resultados não ficaram restritos às patas dianteiras (interação Esquerda-direita  $\times$  Antero-posterior  $\times$  Tratamento:  $F = 40,6$ ;  $gl = 2/21$ ;  $P < 0,001$ ). No grupo HD, o %ERRO do lado contralateral à lesão foi significativamente maior que o do lado ipsilateral tanto para as patas dianteiras (Figura 17A) como para as traseiras (Figura 17B). No grupo HE, apenas para as patas dianteiras houve diferença significativa entre os lados contralateral e ipsilateral (Figura 17A). No grupo controle não houve diferença entre nenhuma pata (Figura 17B).

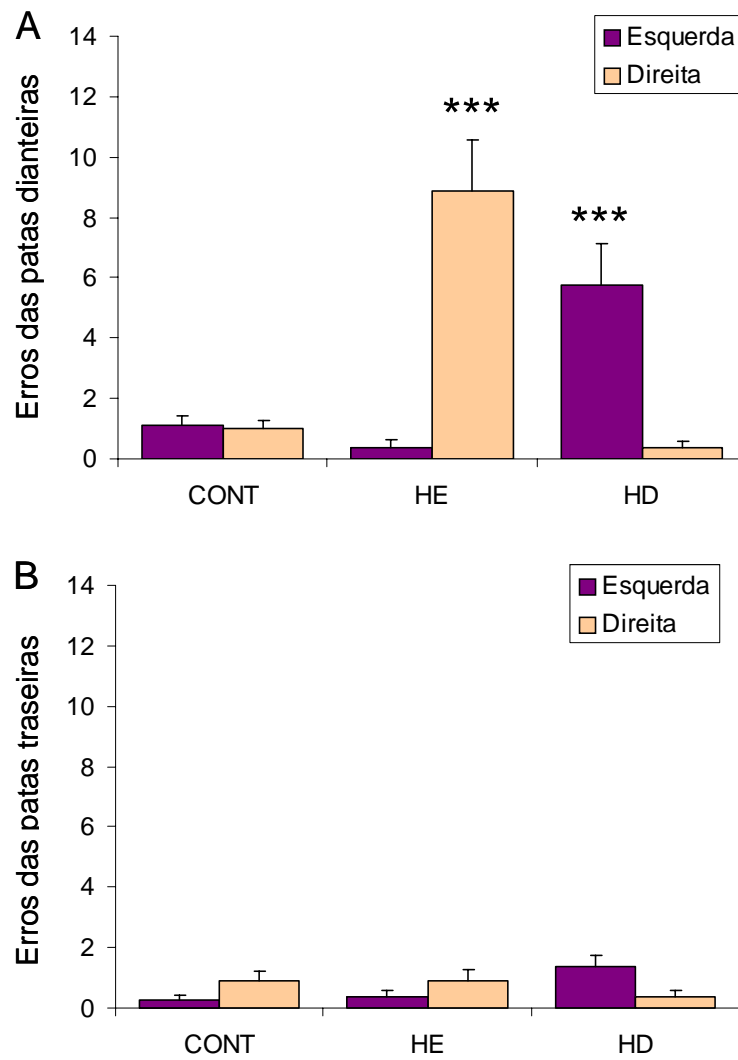


Figura 16. Médias do número de erros cometidos pelas patas dianteiras (A) e traseiras (B) do lado esquerdo e direito dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada. Notar que os animais hemisferectomizados apresentaram maior número de erros com as patas dianteiras contralaterais à lesão. Teste FLSD: comparações entre esquerdas e direitas, \*\*\*  $P < 0,001$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

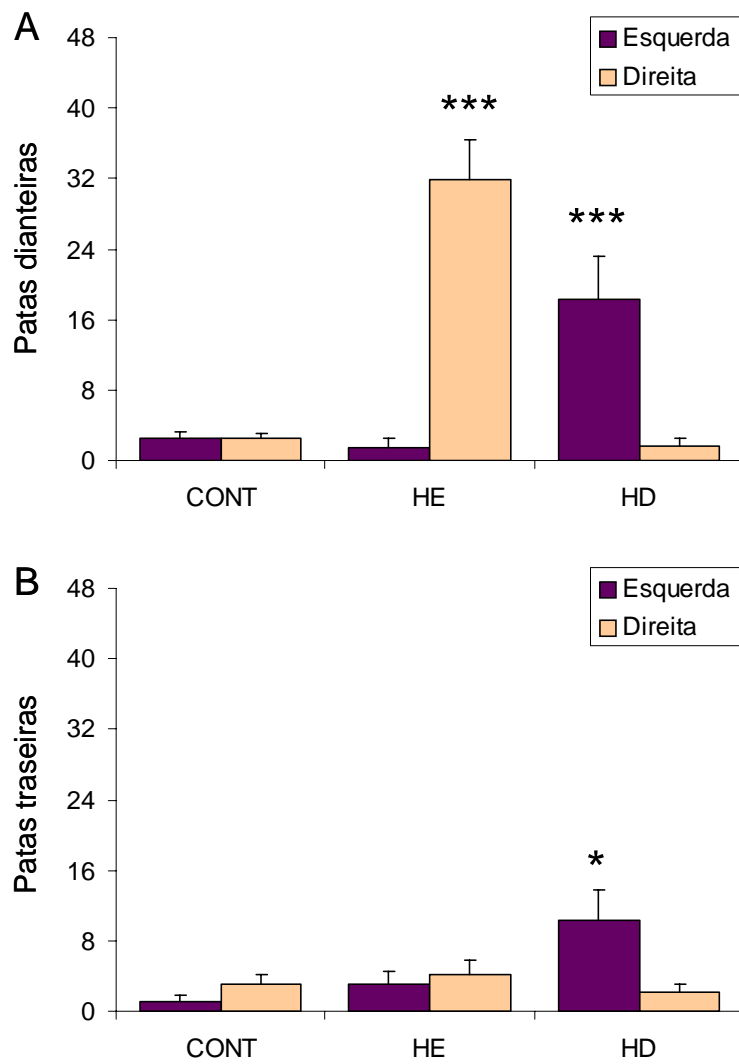


Figura 17. Médias do percentual de erros cometidos pelas patas dianteiras (A) e traseiras (B) do lado esquerdo e direito dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste da grade elevada. Notar que os erros das patas contralaterais à lesão do grupo HD foram significativos tanto para as patas dianteiras como para as traseiras. No grupo HE só houve diferença em relação às patas dianteiras. Teste FLSD: comparações entre esquerdas e direitas, \*  $P < 0,05$  e \*\*\*  $P < 0,001$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

### 3.6 Teste de suspensão pela cauda

Conforme indicado na Figura 18, houve uma marcante redução número total de contrações do tronco ao longo dos intervalos de tempo (efeito do Intervalo:  $F = 9,3$ ;  $gl = 3,5/90,1$ ;  $P < 0,001$ ). A partir do segundo minuto, o número de contrações do grupo controle foi significativamente menor que os dos grupos HE e HD (efeito do Tratamento:  $F = 14,7$ ;  $gl = 2/16$ ;  $P < 0,001$ ). Não foram observadas diferenças entre os grupos HD e HE.

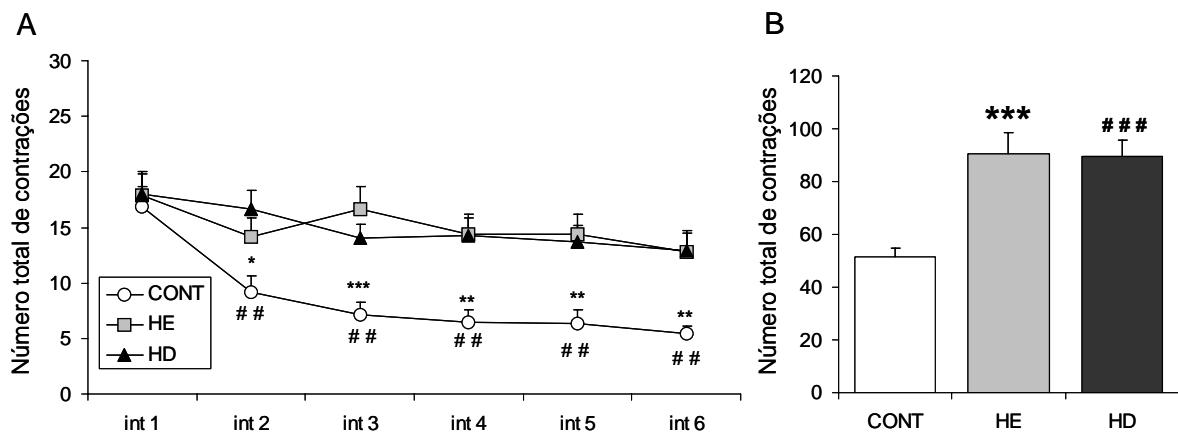


Figura 18. Média do número de contrações do tronco ao longo dos intervalos de tempo (A) e para o tempo total de teste (B) dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste de suspensão pela cauda. Notar que animais dos grupos hemisferectomizados apresentaram maior número de contrações que os animais do grupo controle. Teste FLSD: comparações entre HE e CONT, \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ ; comparações entre HD e CONT, #  $P < 0,05$ ; ##  $P < 0,01$ ; ###  $P < 0,001$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

Em relação ao sentido das contrações realizadas pelos animais (Figura 19), enquanto os animais do grupo controle não apresentaram um favorecimento sistemático de nenhum dos lados, todos os animais do grupo hemisferectomizado se deslocaram preferencialmente para o lado contralateral à lesão.

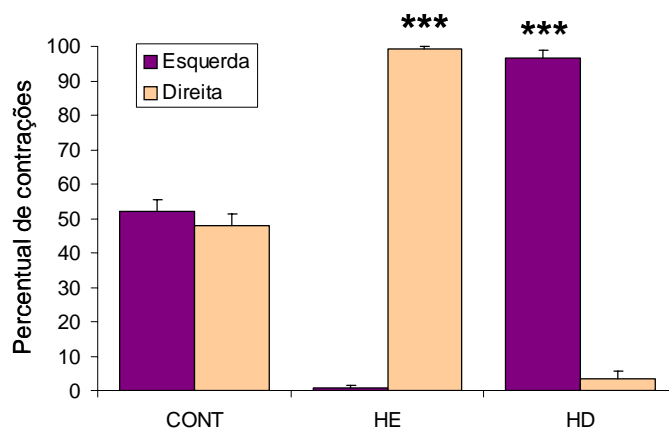


Figura 19. Média do percentual de contrações do tronco realizadas para a esquerda e direita dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste de suspensão pela cauda. Notar que animais dos grupos hemisferectomizados praticamente só contraem para o lado contralateral à lesão. Teste FLSD: comparações entre esquerda e direita, \*\*\*  $P < 0,001$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.

A magnitude das diferenças entre o número de contrações para esquerda e direita do grupo controle foi significativamente menor que a dos grupos HD e HE, que não diferiram entre si (Figura 20).

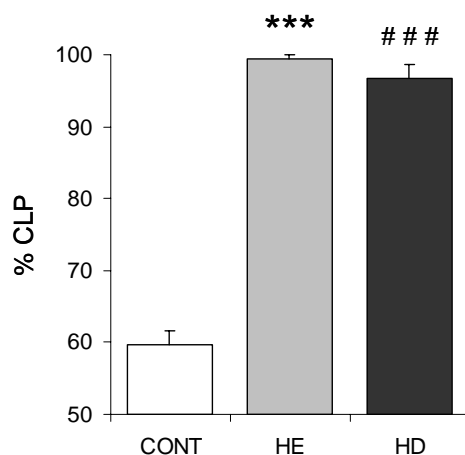


Figura 20. Média do percentual de contrações do tronco realizadas para o lado preferido dos animais dos grupos controle (CONT), hemisferectomizado esquerdo (HE) e hemisferectomizado direito (HD) no teste de suspensão pela cauda. Notar que animais dos grupos hemisferectomizados apresentaram maior número de contrações para o lado preferido do que os animais do grupo controle. Teste FLSD: comparações entre HE e CONT, \*\*\*  $P < 0,001$ ; comparações entre HD e CONT, ###  $P < 0,001$ . Linhas verticais representam erro padrão da média.



## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Resumo dos resultados

Neste estudo avaliamos se o cérebro de camundongos é populacionalmente lateralizado para o controle da função motora. Para tanto, submetemos camundongos hemisferectomizados unilateralmente na vida adulta ao ROTAROD. De modo interessante, enquanto os animais que tiveram o hemisfério direito removido apresentaram um desempenho inferior aos controles, os animais que tiveram o hemisfério esquerdo removido não diferiram significativamente dos controles. Adicionalmente, uma parte dos animais foi submetida a uma bateria de testes: campo aberto, avaliação qualitativa das assimetrias sensório-motora e postural, teste da grade elevada e teste de suspensão pela cauda. Diferenças mais pronunciadas em um dos grupos hemisferectomizados foram observadas apenas com relação a ambulação no campo aberto e no desempenho na grade elevada. No campo aberto, a atividade do grupo HE na periferia foi maior que a dos demais grupos. No teste da grade elevada, enquanto o grupo HD apresentou o desempenho da pata traseira esquerda (contralateral à lesão) significativamente pior que o da direita, os grupos Controle e HE não apresentaram diferenças entre as duas patas traseiras.

### 4.2 Teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD)

No ROTAROD, a latência para a queda do grupo controle foi significativamente maior que a do grupo HD e não diferiu da do grupo HE. Considerando que a maior parte das tentativas de salto ocorrem quando as condições do teste são incompatíveis com as capacidades motoras do animal (Brooks e Dunnett 2009; Lalonde e Strazielle 2007), nossos dados sugerem que, como observado em humanos, os dois hemisférios contribuem assimetricamente no controle de movimentos em camundongos. Particularmente, o hemisfério direito da maioria dos camundongos parece estar mais bem preparado para o controle e/ou execução da coordenação motora.

A ausência de diferenças entre os grupos HD e HE pode estar relacionada ao fato de que, mesmo nas especializações hemisféricas com forte tendência populacional, nem todos os animais usam o mesmo hemisfério para controlar uma função. Em humanos, por exemplo, em torno de 85% da população usa a mão direita para a escrita e 15% usa a esquerda ou ambas (Annet 2002). Desta forma, uma parte dos animais que tinham o hemisfério esquerdo

especializado para o controle motor podem ter sido designados para o grupo HE enquanto outros para o grupo HD. Estes animais podem ter contribuído para um aumento da variabilidade dentro dos seus respectivos grupos uma vez que no primeiro caso seriam mais afetados que a maioria e no segundo seriam menos afetados que a maioria.

Vale mencionar que, com base apenas nos dados obtidos no ROTAROD, não podemos descartar a possibilidade de que os resultados tenham sido influenciados por assimetrias outras que não relacionadas à função motora. Além disso, o controle da função motora se dá em múltiplos níveis e depende em grande parte do adequado suporte sensorial, da modulação de diversos circuitos medulares e da coordenação entre a musculatura do tronco e dos membros. Desta forma, a análise do comportamento dos animais submetidos ao ROTAROD em outros testes comportamentais classicamente utilizados para avaliar determinados aspectos da função neural pode dar uma valiosa contribuição. A seguir discutiremos os resultados obtidos nos outros testes utilizados neste estudo dando uma ênfase especial nos aspectos que podem contribuir para o entendimento dos dados obtidos no ROTAROD.

#### **4.3 Efeitos da hemisferectomia unilateral na locomoção e ansiedade**

A latência para queda é o principal parâmetro utilizado para avaliar o desempenho, não apenas no ROTAROD, mas em vários outros testes comportamentais utilizados para estudar a coordenação motora, postura e equilíbrio em roedores (Bearzatto et al. 2005; Fujimoto et al. 2004; Hunter et al. 2000; Lalonde e Strazielle 2007). A validade desta medida se baseia no fato de que o medo da queda faz com que o animal tente permanecer sobre o aparelho o máximo de tempo possível. De modo geral, é bem aceito que quanto maior for a capacidade de coordenação motora do animal, mais tempo ele permanecerá sobre o cilindro. Contudo, se os animais saltarem do cilindro tentando fugir da situação aversiva do teste ou tiverem sua resistência física muito debilitada os resultados podem estar comprometidos (Lalonde e Strazielle 2007). O teste de campo aberto, amplamente utilizado para avaliar a locomoção e ansiedade em roedores (Prut e Belzung 2003), foi utilizado para avaliar estas duas possibilidades.

Nossos resultados mostrando que nenhum dos dois grupos hemisferectomizados apresentaram ambulação menor que os controles no campo aberto sugere fortemente que, pelo menos 15 dias após a cirurgia, a capacidade locomotora dos animais hemisferectomizados não estava prejudicada. Desta forma, é pouco provável que, no ROTAROD, a menor latência para

a queda do grupo HD seja resultado de uma menor capacidade locomotora. Além disso, é pouco provável que a hiperatividade locomotora dos animais do grupo HE tenha contribuído para que estes animais conseguissem se manter sobre o cilindro giratório por mais tempo que os animais do grupo HD. Estudos recentes realizados em camundongos têm mostrado que, enquanto animais hipoativos no campo aberto geralmente apresentam menores latências no ROTAROD (Carta et al. 2006), animais hiperativos no campo aberto caem mais rapidamente do cilindro (Hsu et al. 2009) ou não diferem dos controles no ROTAROD (Gantois et al. 2007; Goddyn et al. 2006).

Se considerarmos o caráter aversivo da situação experimental do ROTAROD, é razoável supor que, durante as sessões experimentais, animais com maiores níveis de ansiedade se comportem de modo distinto de animais menos ansiosos (Freitag et al. 2003; Lalonde e Strazielle 2007). Neste sentido, as menores latências apresentadas pelos animais do grupo HD poderiam estar associadas a alterações nos níveis de ansiedade e não decorrerem primariamente de um distúrbio motor. Embora nossos dados não nos permitam descartar completamente esta possibilidade, a atividade dos animais no centro do campo aberto, medida que normalmente é usada como um indicador de ansiedade (Prut e Belzung 2003), não diferiu entre os animais do grupo HD e HE. Além disso, durante as sessões experimentais no ROTAROD, não notamos saltos ou tentativas voluntárias de abandono do aparelho.

#### **4.4 Efeitos da hemisferectomia unilateral na função sensorial e na postura**

O adequado suporte sensorial é fundamental para a manutenção da postura e a realização de tarefas de coordenação motora e equilíbrio. Considerando que animais com lesões unilaterais geralmente apresentam prejuízos significativos na percepção do hemisensorial contralateral (Hicks e D'Amato 1970; Shelton et al. 2008), nossos resultados no ROTAROD poderiam ser explicados pelo fato de que os animais do grupo HD apresentariam déficits sensoriais mais acentuados do que os animais do grupo HE. Contudo, a análise qualitativa dos déficits sensoriais não suporta esta hipótese uma vez que os dois grupos de animais hemisferectomizados apresentaram déficits sensoriais equivalentes praticamente só respondendo à estimulação realizada no lado ipsilateral ao hemisfério ablado.

Vale mencionar ainda que todos os animais do grupo hemisferectomizado se deslocaram predominantemente para o lado contralateral a lesão quando se locomoviam nos retângulos situados nas quinas do campo aberto. De modo semelhante, camundongos

submetidos a hemisferectomia unilateral na vida adulta submetidos ao teste de nado livre, permanecem próximos a borda do recipiente a maior parte do tempo e se locomovem preferencialmente em sentido contralateral à lesão (Krahe et al. 2001). Considerando que, quando próximos à parede, os roedores usam ativamente as vibrissas para obter informações sobre o ambiente (Brecht et al. 1997; Yu et al. 2006), tem sido sugerido que o sentido de deslocamento seja determinado pelo fato de que os animais hemisferectomizados tocam a parede com as vibrissas do lado ipsolateral ao hemisfério lesado as quais projetam para o hemisfério intacto (Milani et al. 1989; Milani et al. 1990).

Ainda que o ROTAROD não seja um paradigma específico para avaliar déficits posturais e de marcha em roedores (Brooks e Dunnett 2009; Shelton et al. 2008), não é possível descartar a possibilidade de que tais distúrbios possam influenciar o desempenho dos animais neste teste. Como as sessões no ROTAROD não eram filmadas e, durante as mesmas, não fizemos uma avaliação sistemática da postura e marcha dos animais utilizamos o material gravado no campo aberto. Vale mencionar que distúrbios de marcha e posturais têm sido amplamente estudados pela utilização de imagens de vídeo obtidas enquanto os animais andam em uma esteira motorizada ou em campo aberto (Brooks e Dunnett 2009; Shelton et al. 2008).

Em relação ao posicionamento da cabeça, a maior parte dos animais hemisferectomizados (75%) não apresentou qualquer alteração e o número de animais que apresentou problemas não diferiu entre os grupos. Considerando que em uma análise preliminar realizada em camundongos Suíços adultos observamos que 10 minutos após a remoção unilateral das vibrissas, a maior parte dos animais apresenta uma clara inclinação da cabeça em sentido ipsolateral ao lado raspado (dados não publicados), é possível especular que 15 dias após a cirurgia a maior parte dos animais se recuperou do déficit postural. Embora a avaliação do posicionamento das patas traseiras tenha mostrado que a maioria dos animais hemisferectomizados apresentava problemas de marcha e postura, não observamos diferenças entre o grupo HD e HE. Desta forma, ainda que não possamos descartar a possibilidade de que os resultados no ROTAROD possam ter sido influenciados por déficits posturais, é pouco provável que estes expliquem o fato de que o desempenho no ROTAROD tenha sido pior no grupo HD.

#### 4.5 Efeitos da hemisferectomia unilateral sobre o movimento do tronco

Se considerarmos que a maior parte dos neurônios corticais do sistema motor projetam para a musculatura do lado oposto do corpo (Lemon 2008), seria esperado que, durante o teste de suspensão pela cauda, os animais utilizassem predominantemente a musculatura inervada pelo hemisfério intacto e, portanto, apresentassem um número maior de contrações para o lado ipsolateral à lesão. De modo semelhante, contrações predominantemente ipsolaterais durante o teste de suspensão pela cauda seriam esperadas nos animais hemisferectomizados se estes orientassem seus movimentos em função do seu hemicampo sensorial intacto. Contudo, nossos resultados mostraram que os animais submetidos a hemisferectomia praticamente só apresentaram contrações de tronco para o lado contralateral ao hemisfério ablado e, portanto, utilizaram predominantemente a musculatura axial do lado ipsolateral à lesão. Este resultado sugere que outras vias motoras poderiam mediar o comportamento apresentado durante o teste de suspensão pela cauda.

Como durante o teste de suspensão pela cauda o animal é colocado com a cabeça orientada para o solo, é possível especular que as contrações de tronco estejam associadas com as tentativas de reajustar a posição do corpo. Neste caso, o núcleo vestibular do tronco poderia ter um papel importante na determinação do comportamento do animal. O núcleo vestibular, via trato vestibuloespinal lateral, projeta ipsolateralmente para motoneurônios medulares que cuidam da musculatura antigravitária de membros e do tronco (Markham 1987). Alguns estudos têm sugerido que as projeções do núcleo vestibular para o tálamo, que são predominantemente ipsolaterais, tem uma participação importante na percepção gravitacional (Wilson et al. 1999; Zwergal et al. 2008). Vale mencionar, contudo, que novos estudos devem ser conduzidos para investigar a participação destas vias em roedores e se as mesmas afetam o desempenho dos animais no teste de suspensão pela cauda.

A despeito do mecanismo envolvido com o predomínio de contrações para o lado contralateral ao lado ablado permanecer desconhecido, nossos dados não indicaram diferenças significativas entre os animais dos grupos HE e HD. Desta forma, é pouco provável que o pior desempenho do grupo HD no ROTAROD tenha sido determinado apenas pelos efeitos da hemisferectomia na capacidade de controlar a musculatura axial.

#### 4.6 Efeitos da hemisferectomia unilateral sobre o controle do movimento das patas

Nossos dados obtidos no teste da grade elevada indicaram que o número de erros cometidos pelas patas dianteiras foi significativamente maior do que o das patas traseiras sendo as diferenças mais pronunciadas nos grupos de animais hemisferectomizados. Alguns fatores podem ter contribuído para o maior número de erros cometidos pelas patas dianteiras. As patas dianteiras são menores que as patas traseiras e, portanto, a probabilidade do animal alcançar uma das barras é maior com as patas traseiras. O trato corticoespinal, primariamente envolvido na execução de tarefas que exigem um maior grau de destreza e habilidade para sua execução como a apreensão e manipulação de pequenos objetos (Deumens et al. 2005;Whishaw et al. 1998), é diretamente afetado pela hemisferectomia. Além disso, por várias vezes os animais fixam as patas traseiras e utilizam as patas dianteiras para a realização de deslocamentos em curva ou voltas completas. Como as grades são fixas e alinhadas paralelamente na grade, este tipo de movimento implica que, ao longo da sucessão de passos realizados com as patas dianteiras, o animal seja capaz de ajustar com precisão o movimento para alcançar uma barra que estará, em relação ao eixo principal do seu corpo, posicionada em um ângulo diferente.

De modo geral, nos animais dos dois grupos hemisferectomizados o número de erros cometidos com as patas contralaterais ao hemisfério ablado foi maior do que o cometido pelas patas ipsilaterais. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que os dois principais tratos que controlam a musculatura das patas, o trato corticoespinal e o trato rubro-espinal, projetam predominantemente para a musculatura do lado contralateral (Deumens et al. 2005;Whishaw et al. 1998). No trato corticoespinal, a maior parte dos axônios decussa na porção inferior do bulbo e desce pelo funículo dorsal, um número menor decussa nos funículos lateral e dorsolateral e um número menor ainda não decussa e desce pelo funículo ventral (Brosamle e Schwab 1997;Deumens et al. 2005). No trato rubroespinal, a maioria dos axônios decussam imediatamente após a saída o núcleo rubro do tronco (Deumens et al. 2005) e descem pelo funículo dorsolateral (Al-Izki et al. 2008;Brown 1974) para inervar interneurônios na porção dorsal medula ou motoneurônios (Al-Izki et al. 2008;Deumens et al. 2005).

De modo interessante, quando o número de erros foi corrigido pelo número total de passos, nossos resultados mostraram que o grupo de animais que tiveram o hemisfério esquerdo removido, embora apresentassem prejuízos nas patas contralaterais dianteiras, tiveram o desempenho das duas patas traseiras igual ao dos animais do grupo controle. Este

fato sugere que, pelo menos para as patas traseiras, o hemisfério direito dos camundongos é capaz de controlar de modo eficiente os movimentos dos dois lados. Resultados semelhantes têm sido descritos em estudos realizados em humanos com lesões cerebrais unilaterais que sugerem que um dos hemisférios (no caso o esquerdo) tem maior controle bilateral das mãos (Goodale 1988;Haaland et al. 2000;Haaland et al. 2004b;Haaland 2006;Haaland e Harrington 1996;Rogers et al. 2004a;Schaefer et al. 2007). Considerando que desempenho dos animais no ROTAROD depende em grande parte da capacidade do animal ajustar o ritmo das passadas ao aumento progressivo da velocidade de rotação do cilindro giratório (Brooks e Dunnett 2009;Lalonde e Strazielle 2007), é possível especular que a capacidade de controlar adequadamente o movimento das duas patas traseiras seja responsável pelo fato que a latência para queda dos animais do grupo HE não tenha diferido significativamente da dos controles.

A capacidade de um hemisfério exercer o controle bilateral dos membros após uma lesão unilateral pode estar associada a sua capacidade de se reorganizar após a lesão do outro hemisfério. Piot-Grosjean e colaboradores (Piot-Grosjean et al. 2001) demonstraram que ratos submetidos a uma lesão traumática no hemisfério direito e testados diariamente no ROTAROD apresentaram recuperação progressiva dos déficits do 2º ao 10º dia após a lesão. Machado e colaboradores (Machado et al. 2003) demonstraram que a estimulação elétrica do córtex motor do hemisfério direito, realizada 14 dias após a remoção do hemisfério esquerdo, produzia movimentos bilaterais tanto nas patas traseiras como dianteiras sendo que, antes da hemisferectomia promovia apenas movimentos contralaterais. Vale mencionar que nesses dois estudos as lesões foram realizadas apenas no hemisfério direito e, portanto, se o hemisfério esquerdo tem a mesma capacidade de recuperação é uma questão que ainda permanece por ser esclarecida.

Se o hemisfério direito de camundongos é capaz de estabelecer (ou fortalecer) conexões bilaterais com as patas dianteiras e traseiras 14 dias após a hemisferectomia do lado esquerdo, porque a ausência de prejuízo contralateral só foi observada na pata traseira no teste da grade elevada? Embora a estimulação elétrica indique o estabelecimento de conexões entre o hemisfério direito e patas ipsolaterais traseira e dianteira, estas podem ainda não estar com sua capacidade funcional plena. Desta forma, é provável que duas semanas após a cirurgia, os animais só consigam executar normalmente tarefas relativamente mais simples. Como o grau de dificuldade para o animal se deslocar na grade com as patas dianteiras é maior do que com as traseiras, o animal só tem êxito em controlar os movimentos ipsolaterais executados pelas patas traseiras.

## 5 CONCLUSÕES

No teste de locomoção forçada no cilindro giratório (ROTAROD), o grupo submetido à hemisferectomia do lado direito (grupo HD) teve latências para queda significativamente menores que o grupo controle ao longo das três sessões experimentais. Em contraste, os animais que tiveram o hemisfério esquerdo removido (grupo HE) não diferiram dos controles. Não foram observadas diferenças entre os grupos HD e HE. Considerando que quanto menor é a latência para queda do cilindro no ROTAROD, menor é a capacidade de coordenação motora do animal, nossos dados sugerem que, de modo análogo ao observado em humanos, o controle da função motora pode ser populacionalmente assimétrico em camundongos. Particularmente, camundongos podem ter uma especialização do hemisfério direito para o controle motor.

A análise dos resultados obtidos na bateria de testes neurocomportamentais (teste de campo aberto, avaliação qualitativa das assimetrias sensório-motoras e posturais, teste da grade elevada e teste de suspensão pela cauda) sugere que a especialização do hemisfério direito para o controle da coordenação motora tem como componente principal a capacidade de controle bilateral da musculatura distal, particularmente das patas traseiras.



## REFERÊNCIAS

- Aboitiz,F, Lopez,J, Montiel,J. Long distance communication in the human brain: timing constraints for inter-hemispheric synchrony and the origin of brain lateralization. *Biol. Res.* 2003;36: 89-99.
- Al-Izki,S, Kirkwood,PA, Lemon,RN, Enriquez,DM. Electrophysiological actions of the rubrospinal tract in the anaesthetised rat. *Exp. Neurol.* 2008;212: 118-131.
- Alves,NT, Aznar-Casanova,JA, Fukusima,SS. Patterns of brain asymmetry in the perception of positive and negative facial expressions. *Laterality.* 2009;14: 256-272.
- Annet,M. *Handedness and Brain Asymmetry: The Right Shift Theory.* New York: Psychology Press, 2002.
- Bearzatto,B, Servais,L, Cheron,G, Schiffmann,SN. Age dependence of strain determinant on mice motor coordination. *Brain Res.* 2005;1039: 37-42.
- Beaton,AA. The relation of planum temporale asymmetry and morphology of the corpus callosum to handedness, gender, and dyslexia: a review of the evidence. *Brain Lang* 1997;60: 255-322.
- Benowitz,LI, Bear,DM, Rosenthal,R, Mesulam,MM, Zaidel,E, Sperry,RW. Hemispheric specialization in nonverbal communication. *Cortex* 1983;19: 5-11.
- Benton,A. *Exploring the History of Neuropsychology: Selected Papers.* New York: Oxford University Press, 2000.
- Benton,AL. Historical notes on hemispheric dominance. *Arch. Neurol.* 1977;34: 127-129.
- Berker,EA, Berker,AH, Smith,A. Translation of Broca's 1865 report. Localization of speech in the third left frontal convolution. *Arch. Neurol.* 1986;43: 1065-1072.
- Besson,C, Louilot,A. Asymmetrical involvement of mesolimbic dopaminergic neurons in affective perception. *Neuroscience* 1995;68: 963-968.
- Bisazza,A, Rogers,LJ, Vallortigara,G. The origins of cerebral asymmetry: a review of evidence of behavioural and brain lateralization in fishes, reptiles and amphibians. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1998;22: 411-426.
- Bona,E, Johansson,BB, Hagberg,H. Sensorimotor function and neuropathology five to six weeks after hypoxia-ischemia in seven-day-old rats. *Pediatr. Res.* 1997;42: 678-683.
- Bracha,HS, Seitz,DJ, Otemaa,J, Glick,SD. Rotational movement (circling) in normal humans: sex difference and relationship to hand, foot and eye preference. *Brain Res.* 1987;411: 231-235.
- Bradshaw,JL. Asymmetries in preparation for action. *Trends Cogn Sci.* 2001;5: 184-185.

- Bradshaw, JL, Rogers, LJ. Tool use and evolutionary development of manual asymmetry. In: Elliott, D, Roy, EA, editors. *Manual asymmetries in motor performance*. New York: CRC Press, 1996, p 33-54.
- Brecht, M, Preilowski, B, Merzenich, MM. Functional architecture of the mystacial vibrissae. *Behav. Brain Res.* 1997;84: 81-97.
- Brooks, SP, Dunnett, SB. Tests to assess motor phenotype in mice: a user's guide. *Nat. Rev. Neurosci.* 2009;10: 519-529.
- Brosamle, C, Schwab, ME. Cells of origin, course, and termination patterns of the ventral, uncrossed component of the mature rat corticospinal tract. *J Comp Neurol.* 1997;386: 293-303.
- Brown, LT. Rubrospinal projections in the rat. *J. Comp Neurol.* 1974;154: 169-187.
- Buckingham, HW. The Marc Dax (1770-1837)/Paul Broca (1824-1880) controversy over priority in science: left hemisphere specificity for seat of articulate language and for lesions that cause aphemia. *Clin. Linguist Phon.* 2006;20: 613-619.
- Budilin, SY, Midzyanovskaya, IS, Shchegolevskii, NV, Ioffe, ME, Bazyan, AS. Asymmetry in dopamine levels in the nucleus accumbens and motor preference in rats. *Neurosci. Behav. Physiol* 2008;38: 991-994.
- Cannon, DM, Klaver, JM, Peck, SA, Rallis-Voak, D, Erickson, K, Drevets, WC. Dopamine type-1 receptor binding in major depressive disorder assessed using positron emission tomography and [<sup>11</sup>C]NNC-112. *Neuropsychopharmacology* 2009;34: 1277-1287.
- Cantalupo, C, Freeman, H, Rodes, W, Hopkins, W. Handedness for tool use correlates with cerebellar asymmetries in chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Behav. Neurosci.* 2008;122: 191-198.
- Carlson, JN, Glick, SD. Brain laterality as a determinant of susceptibility to depression in an animal model. *Brain Res.* 1991;550: 324-328.
- Carlson, JN, Glick, SD, Hinds, PA. Changes in d-amphetamine elicited rotational behavior in rats exposed to uncontrollable footshock stress. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1987;26: 17-21.
- Carlson, JN, Glick, SD, Hinds, PA, Baird, JL. Food deprivation alters dopamine utilization in the rat prefrontal cortex and asymmetrically alters amphetamine-induced rotational behavior. *Brain Res.* 1988;454: 373-377.
- Carta, M, Stancampiano, R, Tronci, E, Collu, M, Usiello, A, Morelli, M, Fadda, F. Vitamin A deficiency induces motor impairments and striatal cholinergic dysfunction in rats. *Neuroscience* 2006;139: 1163-1172.
- Castellano, MA, az-Palarea, MD, Rodriguez, M, Barroso, J. Lateralization in male rats and dopaminergic system: evidence of right-side population bias. *Physiol Behav.* 1987;40: 607-612.

Choleris,E, Thomas,AW, Kavaliers,M, Prato,FS. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2001;25: 235-260.

Corballis,MC. *Human laterality*. New York: Academic Press, 1983.

Corballis,MC. Of mice and men - and lopsided birds. *Cortex* 2008;44: 3-7.

de Almeida,AN, Marino,R, Jr. The early years of hemispherectomy. *Pediatr. Neurosurg.* 2005;41: 137-140.

Denenberg,VH, Hofmann,M, Garbanati,JA, Sherman,GF, Rosen,GD, Yutzey,DA. Handling in infancy, taste aversion, and brain laterality in rats. *Brain Res.* 1980;200: 123-133.

Deumens,R, Koopmans,GC, Joosten,EA. Regeneration of descending axon tracts after spinal cord injury. *Prog. Neurobiol.* 2005;77: 57-89.

Dijkerman,HC, Vargha-Khadem,F, Polkey,CE, Weiskrantz,L. Ipsilesional and contralesional sensorimotor function after hemispherectomy: differences between distal and proximal function. *Neuropsychologia* 2008;46: 886-901.

Dunham,NW, Miya,TS. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *J. Am. Pharm. Assoc. Am. Pharm. Assoc. (Baltim. )* 1957b;46: 208-209.

Faurie,C, Bonenfant,S, Goldberg,M, Hercberg,S, Zins,M, Raymond,M. Socio-economic status and handedness in two large cohorts of French adults. *Br. J. Psychol.* 2008;99: 533-554.

Filgueiras,CC, Abreu-Villaça,Y, Krahe,TE, Manhães,AC. Unilateral hemispherectomy at adulthood asymmetrically affects immobile behavior of male Swiss mice. *Behav. Brain Res.* 2006;172: 33-38.

Filgueiras,CC, Manhães,AC. Effects of callosal agenesis on rotational side preference of BALB/cCF mice in the free swimming test. *Behav. Brain Res.* 2004;155: 13-25.

Filgueiras,CC, Manhães,AC. Increased lateralization in rotational side preference in male mice rendered acallosal by prenatal gamma irradiation. *Behav. Brain Res.* 2005;162: 289-298.

Filgueiras,CC, Ribeiro-Carvalho,A, Nunes,F, Abreu-Villaça,Y, Manhães,AC. Early ethanol exposure in mice increases laterality of rotational side preference in the free-swimming test. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2009;93: 148-154.

Finger,S, Roe,D. Does Gustave Dax deserve to be forgotten? The temporal lobe theory and other contributions of an overlooked figure in the history of language and cerebral dominance. *Brain Lang* 1999;69: 16-30.

Fink,M, Wadsak,W, Savli,M, Stein,P, Moser,U, Hahn,A, Mien,LK, Kletter,K, Mitterhauser,M, Kasper,S, Lanzenberger,R. Lateralization of the serotonin-1A receptor distribution in language areas revealed by PET. *Neuroimage.* 2009;45: 598-605.

Franco,L, Sperry,RW. Hemisphere lateralization for cognitive processing of geometry. *Neuropsychologia* 1977;15: 107-114.

Freitag,S, Schachner,M, Morellini,F. Behavioral alterations in mice deficient for the extracellular matrix glycoprotein tenascin-R. *Behav. Brain Res.* 2003;145: 189-207.

Fujimoto,ST, Longhi,L, Saatman,KE, Conte,V, Stocchetti,N, McIntosh,TK. Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2004;28: 365-378.

Gantois,I, Fang,K, Jiang,L, Babovic,D, Lawrence,AJ, Ferreri,V, Teper,Y, Jupp,B, Ziebell,J, Morganti-Kossmann,CM, O'Brien,TJ, Nally,R, Schutz,G, Waddington,J, Egan,GF, Drago,J. Ablation of D1 dopamine receptor-expressing cells generates mice with seizures, dystonia, hyperactivity, and impaired oral behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 2007;104: 4182-4187.

Gazzaniga,MS. The split brain revisited. *Sci. Am.* 1998;279: 50-55.

Gazzaniga,MS. Forty-five years of split-brain research and still going strong. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005;6: 653-659.

Geschwind,N. Disconnexion syndromes in animals and man. I. *Brain* 1965a;88: 237-294.

Geschwind,N. Disconnexion syndromes in animals and man. II. *Brain* 1965b;88: 585-644.

Geschwind,N, Galaburda,AM. *Cerebral Lateralization: Biological Mechanisms, Associations, and Pathology.* Cambridge, MA.: MIT Press, 1987.

Glick,SD, Ross,DA. Right-sided population bias and lateralization of activity in normal rats. *Brain Res.* 1981;205: 222-225.

Glick,SD, Shapiro,RM. Functional and neurochemical asymmetries. In: Geschwind,N, Galaburda,AM, editors. *Cerebral dominance: The biological foundations.* Massachusetts: Harvard University press, 1984a, p 147-166.

Glick,SD, Shapiro,RM. Functional and neurochemical Mechanisms of cerebral lateralization in rats. In: Glick,SD, editor. *Cerebral Lateralization in nonhuman species.* New York: Academic press, 1984b, p 157-183.

Goddyn,H, Leo,S, Meert,T, D'Hooge,R. Differences in behavioural test battery performance between mice with hippocampal and cerebellar lesions. *Behav. Brain Res.* 2006;173: 138-147.

Gold,F. *Physiological Researches on Life and Death.* Boston: Richardson; Lord, 1827.

Goldenberg,G. Apraxia and beyond: life and work of Hugo Liepmann. *Cortex* 2003;39: 509-524.

Goodale,MA. Hemispheric differences in motor control. *Behav. Brain Res.* 1988;30: 203-214.

Haaland,KY. Left hemisphere dominance for movement. *Clin. Neuropsychol.* 2006;20: 609-622.

Haaland,KY, Elsinger,CL, Mayer,AR, Durgerian,S, Rao,SM. Motor sequence complexity and performing hand produce differential patterns of hemispheric lateralization. *J Cogn Neurosci.* 2004a;16: 621-636.

Haaland,KY, Harrington,DL. Hemispheric asymmetry of movement. *Curr. Opin. Neurobiol.* 1996;6: 796-800.

Haaland,KY, Harrington,DL, Knight,RT. Neural representations of skilled movement. *Brain* 2000;123 ( Pt 11): 2306-2313.

Haaland,KY, Prestopnik,JL, Knight,RT, Lee,RR. Hemispheric asymmetries for kinematic and positional aspects of reaching. *Brain* 2004b;127: 1145-1158.

Hall,CS. Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J.Comp.Psychol.* 18, 385-403. 1934.

Hamm,RJ, Pike,BR, O'Dell,DM, Lyeth,BG, Jenkins,LW. The rotarod test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 1994;11: 187-196.

Hammond,G. Correlates of human handedness in primary motor cortex: a review and hypothesis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2002;26: 285-292.

Harrington,A. *Medicine, Mind, and the Double Brain.* Princeton: Princeton University Press, 1989.

Harrington,DL, Haaland,KY. Hemispheric specialization for motor sequencing: abnormalities in levels of programming. *Neuropsychologia* 1991;29: 147-163.

Harrington,DL, Haaland,KY. Motor sequencing with left hemisphere damage. Are some cognitive deficits specific to limb apraxia? *Brain* 1992;115 ( Pt 3): 857-874.

Harris,LJ. On the evolution of handedness: a speculative analysis of Darwin's views and a review of early studies of handedness in "the nearest allies of man". *Brain Lang* 2000;73: 132-188.

Hernandez,TD, Schallert,T. Seizures and recovery from experimental brain damage. *Exp. Neurol.* 1988;102: 318-324.

Hicks,SP, D'Amato,CJ. Motor-sensory and visual behavior after hemispherectomy in newborn and mature rats. *Exp. Neurol.* 1970;29: 416-438.

Hsu,HR, Mei,YY, Wu,CY, Chiu,PH, Chen,HH. Behavioural and toxic interaction profile of ketamine in combination with caffeine. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2009;104: 379-383.

Hunter,AJ, Hatcher,J, Virley,D, Nelson,P, Irving,E, Hadingham,SJ, Parsons,AA. Functional assessments in mice and rats after focal stroke. *Neuropharmacology* 2000;39: 806-816.

Huston,JP. Ablation and stimulation of the brain. In: Bures,J, Buresova,O, Huston,JP, editors. Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior. Amsterdam: Elsevier, 1983.

Jackson,JH. On the nature of the duality of the brain, reprinted. *Brain* 1915;38: 80-103.

Josse,G, Tzourio-Mazoyer,N. Hemispheric specialization for language. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 2004;44: 1-12.

Jung,YC, Jang,DP, Namkoong,K, Ku,J, Kim,JJ, Park,S, Cho,ZH, Kim,YB, Lee,E. Shape deformation of the insula in alcoholics: reduction of left-right asymmetry. *Neuroreport* 2007;18: 1787-1791.

Keller,SS, Crow,T, Foundas,A, Amunts,K, Roberts,N. Broca's area: nomenclature, anatomy, typology and asymmetry. *Brain Lang* 2009;109: 29-48.

Kertesz,A. Localization and neuroimaging in neuropsychology. San Diego: Academic Press, 1994.

Ko,JH, Monchi,O, Ptito,A, Bloomfield,P, Houle,S, Strafella,AP. Theta burst stimulation-induced inhibition of dorsolateral prefrontal cortex reveals hemispheric asymmetry in striatal dopamine release during a set-shifting task: a TMS-[(11)C]raclopride PET study. *Eur. J. Neurosci.* 2008;28: 2147-2155.

Krahe,TE, Filgueiras,CC, Caparelli-Dáquer,EM, Schmidt,SL. Contralateral rotatory bias in the free-swimming test after unilateral hemispherectomy in adult Swiss mice. *Int. J. Neurosci.* 2001;108: 21-30.

Krahe,TE, Filgueiras,CC, Schmidt,SL. Effects of rotational side preferences on immobile behavior of normal mice in the forced swimming test. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2002;26: 169-176.

Lalonde,R, Strazielle,C. Brain regions and genes affecting postural control. *Prog. Neurobiol.* 2007;81: 45-60.

Leliveld,LM, Scheumann,M, Zimmermann,E. Manual lateralization in early primates: a comparison of two mouse lemur species. *Am. J. Phys. Anthropol.* 2008;137: 156-163.

Lemon,RN. Descending pathways in motor control. *Annu. Rev Neurosci.* 2008;31: 195-218.  
Lent,R, Schmidt,SL. The ontogenesis of the forebrain commissures and the determination of brain asymmetries. *Prog. Neurobiol.* 1993;40: 249-276.

Levitin,DJ, Tirovolas,AK. Current advances in the cognitive neuroscience of music. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2009;1156: 211-231.

Lohr,JB, Caligiuri,MP. Lateralized hemispheric dysfunction in the major psychotic disorders: historical perspectives and findings from a study of motor asymmetry in older patients. *Schizophr. Res.* 1997;27: 191-198.

Luhmann,HJ, Huston,JP, Hasenohrl,RU. Contralateral increase in thigmotactic scanning following unilateral barrel-cortex lesion in mice. *Behav. Brain Res.* 2005;157: 39-43.

Machado,AG, Shoji,A, Ballester,G, Marino,R, Jr. Mapping of the rat's motor area after hemispherectomy: The hemispheres as potentially independent motor brains. *Epilepsia* 2003;44: 500-506.

Macsweeney,M, Capek,CM, Campbell,R, Woll,B. The signing brain: the neurobiology of sign language. *Trends Cogn Sci.* 2008;12: 432-440.

Manhães,AC, Krahe,TE, Caparelli-Dáquer,E, Ribeiro-Carvalho,A, Schmidt,SL, Filgueiras,CC. Neonatal transection of the corpus callosum affects paw preference lateralization of adult Swiss mice. *Neurosci. Lett.* 2003;348: 69-72.

Manhães,AC, Schmidt,SL, Caparelli-Dáquer,EM. Paw preference in mice with callosal defects induced by prenatal gamma irradiation. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1993;26: 1213-1218.  
Manhães,AC, Schmidt,SL, Filgueiras,CC. Callosal agenesis affects consistency of laterality in a paw preference task in BALB/cCF mice. *Behav. Brain Res.* 2005;159: 43-49.

Markham,CH. Vestibular control of muscular tone and posture. *Can. J. Neurol. Sci.* 1987;14: 493-496.

Marsh,EB, Newhart,M, Kleinman,JT, Heidler-Gary,J, Vining,EP, Freeman,JM, Kossoff,EH, Hillis,AE. Hemispherectomy sustained before adulthood does not cause persistent hemispatial neglect. *Cortex* 2009;45: 677-685.

Milani,H, Schwarting,RK, Kumpf,S, Steiner,H, Huston,JP. Interaction between recovery from behavioral asymmetries induced by hemivibrissotomy in the rat and the effects of apomorphine and amphetamine. *Behav. Neurosci.* 1990;104: 470-476.

Milani,H, Steiner,H, Huston,JP. Analysis of recovery from behavioral asymmetries induced by unilateral removal of vibrissae in the rat. *Behav. Neurosci.* 1989;103: 1067-1074.

Mohr,C, Landis,T, Bracha,HS, Brugger,P. Opposite turning behavior in right-handers and non-right-handers suggests a link between handedness and cerebral dopamine asymmetries. *Behav. Neurosci.* 2003;117: 1448-1452.

Nottebohm,F. Learning, forgetting, and brain repair. In: Geschwind,N, Galaburda,AM, editors. *Cerebral dominance: The biological foundations.* Cambridge: Harvard University Press, 1984, p 93-113.

Nottebohm,F, Stokes,TM, Leonard,CM. Central control of song in the canary, *Serinus canarius*. *J. Comp Neurol.* 1976;165: 457-486.

O'Mahony,P, Dempsey,M, Killeen,H. Handwriting speed: duration of testing period and relation to socio-economic disadvantage and handedness. *Occup. Ther. Int.* 2008;15: 165-177.

Oldfield,RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 1971;9: 97-113.

Palmer,AR. Symmetry breaking and the evolution of development. *Science* 2004;306: 828-833.

Piot-Grosjean,O, Wahl,F, Gobbo,O, Stutzmann,JM. Assessment of sensorimotor and cognitive deficits induced by a moderate traumatic injury in the right parietal cortex of the rat. *Neurobiol. Dis.* 2001;8: 1082-1093.

Plourde,G, Sperry,RW. Left hemisphere involvement in left spatial neglect from right-sided lesions. *Brain* 1984;107 ( Pt 1): 95-106.

Prut,L, Belzung,C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur. J. Pharmacol.* 2003;463: 3-33.

Rilea,SL. A lateralization of function approach to sex differences in spatial ability: a reexamination. *Brain Cogn* 2008;67: 168-182.

Robinson,RG, Coyle,JT. Lateralization of catecholaminergic and behavioral response to cerebral infarction in the rat. *Life Sci.* 1979;24: 943-950.

Roe,D, Finger,S. Gustave Dax and his fight for recognition: an overlooked chapter in the early history of cerebral dominance. *J. Hist Neurosci.* 1996;5: 228-240.

Rogers,BP, Carew,JD, Meyerand,ME. Hemispheric asymmetry in supplementary motor area connectivity during unilateral finger movements. *Neuroimage.* 2004a;22: 855-859.

Rogers,LJ, Andrew,R. *Comparative vertebrate lateralization.* Cambridge: Cambridge University Press, 2002.

Rogers,LJ, Zucca,P, Vallortigara,G. Advantages of having a lateralized brain. *Proc. Biol. Sci.* 2004b;271 Suppl 6: S420-S422.

Rosen,GD. Cellular, morphometric, ontogenetic and connectional substrates of anatomical asymmetry. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1996;20: 607-615.

Rotenberg,VS. The peculiarity of the right-hemisphere function in depression: solving the paradoxes. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2004;28: 1-13.

Schaefer,SY, Haaland,KY, Sainburg,RL. Ipsilesional motor deficits following stroke reflect hemispheric specializations for movement control. *Brain* 2007;130: 2146-2158.

Schluter,ND, Krams,M, Rushworth,MF, Passingham,RE. Cerebral dominance for action in the human brain: the selection of actions. *Neuropsychologia* 2001;39: 105-113.

Schmidt,SL, Filgueiras,CC, Krahe,TE. Effects of sex and laterality on the rotatory swimming behavior of normal mice. *Physiol Behav.* 1999;65: 607-616.

Schmidt,SL, Oliveira,RM, Krahe,TE, Filgueiras,CC. The effects of hand preference and gender on finger tapping performance asymmetry by the use of an infra-red light measurement device. *Neuropsychologia* 2000;38: 529-534.



- Schwartz, RK, Borta, A. Analysis of behavioral asymmetries in the elevated plus-maze and in the T-maze. *J. Neurosci. Methods* 2005;141: 251-260.
- Schwartz, RK, Goldenberg, R, Steiner, H, Fornaguera, J, Huston, JP. A video image analyzing system for open-field behavior in the rat focusing on behavioral asymmetries. *J. Neurosci. Methods* 1993;49: 199-210.
- Shelton, SB, Pettigrew, DB, Hermann, AD, Zhou, W, Sullivan, PM, Crutcher, KA, Strauss, KI. A simple, efficient tool for assessment of mice after unilateral cortex injury. *J. Neurosci. Methods* 2008;168: 431-442.
- Smith, PF, Curthoys, IS. Mechanisms of recovery following unilateral labyrinthectomy: a review. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 1989;14: 155-180.
- Spencer, S, Huh, L. Outcomes of epilepsy surgery in adults and children. *Lancet Neurol.* 2008;7: 525-537.
- Sperry, RW. Cerebral Organization and Behavior: The split brain behaves in many respects like two separate brains, providing new research possibilities. *Science* 1961;133: 1749-1757.
- Sperry, RW. The great cerebral commissure. *Sci. Am.* 1964;210: 42-52.
- Thiel, CM, Schwartz, RK. Dopaminergic lateralisation in the forebrain: relations to behavioural asymmetries and anxiety in male Wistar rats. *Neuropsychobiology* 2001;43: 192-199.
- Toga, AW, Thompson, PM. Mapping brain asymmetry. *Nat. Rev. Neurosci.* 2003;4: 37-48.
- Tranel, D, Bechara, A, Denburg, NL. Asymmetric functional roles of right and left ventromedial prefrontal cortices in social conduct, decision-making, and emotional processing. *Cortex* 2002;38: 589-612.
- Valencia-Alfonso, CE, Verhaal, J, Gunturkun, O. Ascending and descending mechanisms of visual lateralization in pigeons. *Philos. Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* 2009;364: 955-963.
- Vallortigara, G. Comparative neuropsychology of the dual brain: a stroll through animals' left and right perceptual worlds. *Brain Lang* 2000;73: 189-219.
- Vallortigara, G. Cerebral lateralization: a common theme in the organization of the vertebrate brain. *Cortex* 2006;42: 5-7.
- Vallortigara, G, Rogers, LJ. Survival with an asymmetrical brain: advantages and disadvantages of cerebral lateralization. *Behav. Brain Sci.* 2005;28: 575-589.
- Vallortigara, G, Rogers, LJ, Bisazza, A. Possible evolutionary origins of cognitive brain lateralization. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 1999;30: 164-175.
- van, ER, Jennekens-Schinkel, A, Buskens, E, Helders, PJ, van, NO. Functional consequences of hemispherectomy. *Brain* 2004;127: 2071-2079.
- Van, MP, Raber, J. Mouse behavioural analysis in systems biology. *Biochem. J.* 2005;389: 593-610.

VanLancker-Sidtis,D. When only the right hemisphere is left: studies in language and communication. *Brain Lang* 2004;91: 199-211.

Weinberg,I. The prisoners of despair: right hemisphere deficiency and suicide. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2000;24: 799-815.

Whishaw,IQ, Gharbawie,OA, Clark,BJ, Lehmann,H. The exploratory behavior of rats in an open environment optimizes security. *Behav. Brain Res.* 2006;171: 230-239.

Whishaw,IQ, Gorny,B, Sarna,J. Paw and limb use in skilled and spontaneous reaching after pyramidal tract, red nucleus and combined lesions in the rat: behavioral and anatomical dissociations. *Behav. Brain Res.* 1998;93: 167-183.

Wilson,VJ, Zarzecki,P, Schor,RH, Isu,N, Rose,PK, Sato,H, Thomson,DB, Umezaki,T. Cortical influences on the vestibular nuclei of the cat. *Exp. Brain Res.* 1999;125: 1-13.

Witelson,SF, Beresh,H, Kigar,DL. Intelligence and brain size in 100 postmortem brains: sex, lateralization and age factors. *Brain* 2006;129: 386-398.

Witte,AV, Floel,A, Stein,P, Savli,M, Mien,LK, Wadsak,W, Spindelegger,C, Moser,U, Fink,M, Hahn,A, Mitterhauser,M, Kletter,K, Kasper,S, Lanzenberger,R. Aggression is related to frontal serotonin-1A receptor distribution as revealed by PET in healthy subjects. *Hum. Brain Mapp.* 2008.

Wittling,W, Roschmann,R. Emotion-related hemisphere asymmetry: subjective emotional responses to laterally presented films. *Cortex* 1993;29: 431-448.

Yaman,S, von,FL, Dehnhardt,G, Gunturkun,O. Visual lateralization in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*): evidence for a population asymmetry? *Behav. Brain Res.* 2003;142: 109-114.

Yu,C, Derdikman,D, Haidarliu,S, Ahissar,E. Parallel thalamic pathways for whisking and touch signals in the rat. *PLoS. Biol.* 2006;4: e124.

Zwergal,A, Buttner-Ennever,J, Brandt,T, Strupp,M. An ipsilateral vestibulothalamic tract adjacent to the medial lemniscus in humans. *Brain* 2008;131: 2928-2935.