



RESUMO

Introdução: O tratamento das lesões nervosas periféricas realiza-se com exercício físico, pois acelera o processo regenerativo e favorece o crescimento axonal. A nutrição é imprescindível, favorecendo o reparo neuromuscular. **Objetivo:** Verificar a influência da desnutrição e do exercício físico no comportamento de ratos desnervados. **Metodologia:** Estudo experimental, com 15 ratos Wistar, machos e adultos, divididos aleatoriamente em 3 grupos. Foram submetidos à desnutrição por 30 dias, seguido de lesão nervosa por esmagamento e exercício de natação após 24 horas da lesão, seguido de eutanásia após 30 dias lesão, o comportamento foi analisado pelo teste de Open Field. **Resultados:** Houve aumento do estresse nos grupos Lesão e Desnutrição e Lesão, Natação e Desnutrição quando comparados ao grupo Controle ($p=0,01$), tanto para as atividades de cruzamento e levantamento. **Conclusão:** A desnutrição e a lesão nervosa aumentam o estresse comportamental de ratos, mas o exercício físico pode minimizar tal alteração comportamental.

Palavras-chave: Exercício Físico; Fisioterapia; Lesão Nervosa; Estresse.

ABSTRACT

Introduction: The treatment of peripheral nerve injuries is carried out with physical exercise, as it speeds up the regenerative process and favors axonal growth. Nutrition is essential, favoring neuromuscular repair. **Objective:** To verify the influence of malnutrition and physical exercise on the behavior of denervated rats. **Methods:** Experimental study, with 15 male and adult Wistar rats, randomly divided into 3 groups. They were submitted to malnutrition for 30 days, followed by nerve injury by crushing and swimming exercise after 24 hours of the injury, followed by euthanasia after 30 days of injury, the behavior was analyzed by the Open Field test. **Results:** There was an increase in stress in the Injury and Malnutrition and Injury, Swimming and Malnutrition groups when compared to the Control group ($p = 0.01$), both for crossing and lifting activities. **Conclusion:** Malnutrition and nerve damage increase the behavioral stress of rats, but physical exercise can minimize such behavioral change.

Keywords: Physical exercise, Physical therapy, Nerve injury; Stress

¹Graduanda em Fisioterapia, Universidade do Estado do Pará– UEPA;

²Mestranda do Programa de Pós Graduação em Cirurgia e Pesquisa Experimental da Universidade do Estado do Pará - UEPA;

³Professor(a) Doutor (a), Universidade do Estado do Pará– UEPA;

⁴Professor(a) Doutor, Centro Universitário do Pará– CESUPA.

Autor de correspondência

Rodrigo Santiago Barbosa Rocha

Tv. Perebebuí, nº 2623, Belém- cep: 66087-662, PA, Brazil.

Telephone/Fax: (91) 3131-1704

Email: rodrigo.santiago.rocha@uepa.br

INTRODUÇÃO

As lesões nervosas periféricas ocorrem após traumas como laceração direta, compressão, estiramento ou esmagamento. Uma vez que, os nervos são estruturas elásticas, porém quando o limite da capacidade de distensão é excedida, ocasiona danos na estrutura e os impulsos nervosos são interrompidos. Após a lesão, ocorrem alterações metabólicas e morfológicas no segmento nervoso e no músculo, visto que a inervação é preservada as propriedades fisiológicas e funcionais das fibras musculares, a exemplo da atrofia do local lesionado, levando a redução da atividade e imobilismo¹.

O processo de recuperação do sistema neuromuscular após a lesão do nervo periférico envolve fases sequenciais e dinâmicas, sendo elas a homeostasia, inflamação, proliferação e remodelação, que ocorrem com objetivo de reestruturação de células e de camadas dos tecidos após uma lesão ou infecção. Deste modo, esse processo caracteriza-se pela substituição do tecido traumatizado por um novo tecido, o que exige um aumento no consumo de nutrientes específicos, no entanto este processo é prejudicado na maior parte dos pacientes pela redução da oferta de nutrientes ao paciente durante o período de imobilismo, levando a um quadro de desnutrição e piora da recuperação funcional².

Assim, a questão nutricional é um

fator necessário que favorece a reparação neuromuscular, além disso, os pacientes que realizam intervenção cirúrgica e sem complicações, as reações metabólicas são ligeiras e limitadas, no entanto, em cirurgias com complicações severas ocorre um maior catabolismo, que acarreta maior perda de massa corporal e de peso³.

Além da intervenção cirúrgica, o tratamento de lesões nervosas pode ser realizado por técnicas como o exercício físico, desenvolvido através de treinamento em esteira, bicicleta, treino de força e exercício de natação. Deste modo exercício físico pode acelerar o processo regenerativo, favorecendo o crescimento axonal e a recuperação das propriedades contráteis do músculo, que podem influenciar o comportamento de ratos⁴. O objetivo do estudo foi verificar a influência do exercício de natação sobre as características comportamentais de ratos após axoniotmese e desnutrição.

MATERIAL E MÉTODOS

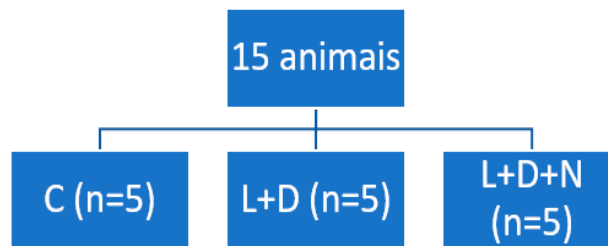
ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi submetido a apreciação e foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Animais da Universidade do Estado do Pará (CEUA-UEPA) com parecer nº 15/2018. Nessa pesquisa, foram utilizados 15 *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, machos, adultos

(aproximadamente 6- 7semanas de vida), com peso aproximado de 250g, provenientes do biotério do Instituto Evandro Chagas e transferidos ao biotério Luiz Carlos de Lima Silveira da Universidade do Estado do Pará. Os animais foram mantidos durante o experimento no Biotério, em gaiolas de polietileno, com ventilação adequada, ciclo fotoperiódico de 12 horas claro e 12 horas

escuro, sob temperatura controlada ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e livre acesso à água e ração (dieta normoproteica e hipoproteica) e após período de desnutrição conforme a distribuição dos grupos experimentais. A limpeza e a troca das maravalha e da água foram realizadas em dias alternados.

Os ratos foram randomizados em 3 grupos experimentais (figura 1).



- Grupo Controle (C) – animais foram mantidos em gaiola sem nenhuma intervenção, sendo mantidos em gaiola com dieta normoproteica por 75 dias;
- Grupo Desnutrição + Lesão(D+L) - animais submetidos à desnutrição por 45 dias, seguido de lesão nervosa por esmagamento, sendo submetidos à eutanásia após 30 dias (D+L 30d,) da lesão nervosa.
- Grupo Desnutrição + Lesão + Natação(D+L+N) - animais submetidos à desnutrição por 30 dias, seguido de lesão nervosa por esmagamento, e exercício de natação após 24 horas da lesão nervosa por esmagamento, sendo submetidos à eutanásia após 30 dias (D+L+N 30d) da lesão nervosa.

PROTOCOLO DE DESNUTRIÇÃO

Foi empregada dieta normoproteica (AN 93M - 14%) comercializada por Presence Nutrição Animal disponibilizada ad libitum aos animais. Os grupos desnutridos (D+L e D+L+N) foram submetidos a um protocolo de desnutrição por 30 dias consecutivos, receberam a mesma ração sendo quantificado o total ingerido diariamente por uma semana. A partir deste valor, ofereceu-se diariamente para o grupo de animais desnutridos, o correspondente a 50% do valor da ingestão diária antes da desnutrição, no 31º dia, foi realizada a lesão do nervo isquiático⁵.

ADAPTAÇÃO E PROTOCOLO DE NATAÇÃO

Os animais dos grupos D+L+N realizaram um período de adaptação ao ambiente aquático antes de iniciar o experimento, a fim de adaptá-los ao protocolo de natação para acomodação física, sem promover estresse.

O protocolo de adaptação consistiu em colocar os animais num tanque com profundidade de 60 cm, adaptado para ratos, contendo água em profundidade de 40 cm, sem carga e com a temperatura mantida a $31 \pm 2^\circ\text{C}$, por meio de um aquecedor acoplado ao próprio tanque. A adaptação iniciou com 20 minutos de exercício no primeiro dia, havendo acréscimo progressivo de 10 minutos diários, atingindo 60 minutos no quinto dia⁶.

Após 24 horas da lesão nervosa, os animais do grupo D+L+N foram submetidos à natação, em grupos de no máximo 3 animais, utilizando-se apenas o próprio peso corporal, por 30 minutos/dia, em dias alternados, respeitando-se o intervalo de 24 horas a cada sessão de exercício.

PROTOCOLO DE ESMAGAMENTO DO NERVO ISQUIÁTICO

Todos os grupos, exceto o controle, passaram por um protocolo cirúrgico de esmagamento do nervo ciático que simula

a lesão nervosa do tipo axoniotmese. Após a anestesia com mistura de cloridrato de cetamina (50mg/mL) e clo⁻ridrato de xilazina (2g/100mL), na proporção 1:1 (0,3mL/100g de peso corporal), foi realizada incisão de aproximadamente 15 mm nesta região glútea esquerda acompanhando o trajeto do nervo isquiático.

Após a incisão foi realizado o esmagamento nervoso utilizando-se de uma pinça hemostática Erwin-Guth de 12 cm adaptada com esparadrapo envolvendo a ponta da mesma, a fim de evitar o rompimento das bainhas conjuntivas do nervo. O processo de esmagamento foi realizado por meio de quatro pinçamentos, com duração de 20 segundos e intervalo de 1 segundo entre eles, sendo que a pressão de pinçamento foi padronizada para todos os animais, utilizando-se como referência o segundo dente da pinça⁷.

ANÁLISE DO COMPORTAMENTO

O comportamento dos animais foi verificado em teste de campo aberto, sendo realizada filmagem por 10 minutos e contados os números de quadrantes que os animais percorreram neste intervalo de tempo.

ANÁLISE DOS DADOS

A análise estatística foi realizada no programa Bioestat 5.2, sendo utilizado o teste

de Shapiro-wilk para verificar a normalidade dos dados e o teste t de student para a comparação das variáveis pré e pós protocolo dentro do grupos, para a análise entre os grupos utilizou-se o teste ANOVA com post hoc de Tukey.

RESULTADOS

A tabela 1 demonstra os resultados do estudo, pode-se observar que a lesão aumenta a ansiedade e o estresse dos animais, mas o exercício é capaz de reduzir os valores, mas mesmo assim não chegaram aos níveis basais.

Tabela 1. Variáveis de comportamento dos animais envolvidos no estudo.

Variáveis do Campo Aberto	Controle	Desnutrição + Lesão	Desnutrição + Lesão + Natação	p
Cruzamento	35,8 ± 6,7	76,2 ± 15,7*	45,8 ± 13,5#&	0,01
Levantamento	14,2 ± 5,2	34,5 ± 8,7*	20,2 ± 12,2#&	0,01

*diferença significativa entre o grupo Controle e o grupo Desnutrição + Lesão

diferença significativa entre o grupo controle e o grupo Desnutrição + Lesão + Natação

& diferença significativa entre o grupo Desnutrição + Lesão e o grupo Desnutrição + Lesão + Natação

DISCUSSÃO

O presente estudo pretendeu investigar o efeito da desnutrição, da lesão nervosa, bem como do exercício físico sobre características comportamentais em ratos.

Na literatura encontram-se estudos que usam o modelo de compressão do nervo isquiático para reproduzir a lesão do tipo axoniotmese, que se caracteriza pela interrupção do estímulo neuromuscular, porém com regeneração espontânea e rápida reinervação muscular^{8,9}.

Estudos mostram que depois da lesão do nervo acontece uma sequência de eventos que contribuem para o processo de degeneração, sendo eles a migração de

macrófagos, mudanças nas constituintes da matriz celular e produção de citocinas. Contudo, a interatividade dos macrófagos e das células de Schwann após a lesão nervosa, propiciam o meio para regeneração, posto que os macrófagos atuam na remoção do axônio degenerado e auxiliam na produção de fatores que estimulam a produção das células de Schwann¹⁰.

Portanto, após a desnervação o crescimento axonal é possível devido aos brotos axonais que surgem espontaneamente no coto proximal a partir dos Nodos de Ranvier e atravessam o segmento lesionado através das bandas de Burgner e induzidos por proteínas de adesão celular, quimiocinas e neurotróficos,

seguem até órgãos alvos¹¹. Desta maneira, a alimentação inadequada causa alterações na síntese de proteínas devido a carência de aminoácidos essenciais e afeta diretamente a degeneração axonal, a desmielinização segmental e a diminuição de lipídeos na síntese mielínica¹².

Deste modo, o protocolo do treinamento é um fator importante que reflete no processo de regeneração nervosa durante os exercícios físicos. Os estudos de tratamento de lesões do nervo periférico em humanos são escassos, fazendo necessária a busca de conhecimento acerca deste evento e destacando o efeito de diferentes protocolos de exercício¹³.

Corandini¹⁴ ressalta que o exercício físico promove a recuperação das propriedades do músculo após desnervação; remove a mielina degenerada; favorece a recuperação do diâmetro axonal; ajuda a aumentar os fatores de crescimento neurais como o BDNF e estimula o brotamento axonal junto ao desenvolvimento e crescimento de novas células. Com a recuperação funcional o rato tende a tornar-se menos irritado e a melhorar o comportamento¹⁵.

O exercício físico é capaz de reduzir ou aumentar o estresse de animais, sendo estes dependentes da intensidade ou duração sendo o exercício físico aeróbico como o realizado no presente estudo ligado a redução

do comportamento de ansiedade em ratos, pela garantia de ATP decorrente do metabolismo de ácidos graxos¹⁶.

CONCLUSÃO

Foi possível observar que o exercício físico é capaz de reduzir o estresse de ratos submetidos à desnutrição e desnervação, mas não retornar aos valores de normalidade.

REFERÊNCIAS

1. LUIZ L. M. D. Avaliação da lesão nervosa periférica por meio da eletromiografia de superfície. Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2015.
2. Hsieh DY, Hung JW, Chang KC, Huang YC, Lee TH, Chen HM. Malnutrition in Acute Stroke Patients Stratified by Stroke Severity - A Hospital Based Study. *Acta Neurol Taiwan*. 2017; 26: 120-127. pmid:29468620
3. Fraga, MSCB. Influência da Nutrição na Cicatrização Cirúrgica. Licenciatura em Ciências da Nutrição. Universidade Atlântica, Barcarena, 2015.
4. GUEDERT D. G. Avaliação das repercussões do exercício físico sobre a regeneração nervosa de ratos Wistar submetidos a axoniotmese do nervo isquiático. Programa Multicêntrico de Pós-graduação em ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.
5. Giampietro, Marcus Vinícius. Alterações metabólicas em ratos desnutridos em resposta ao treinamento de endurance [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas; 2008.
6. Voltarelli F.A., Gobatto C.A., Mello M.A.R. de. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res*. 2002; 35(11): 1389-1394.
7. Fernandes, K.C.B.G; Polacow, M.L.O; Guirro, R.R.J; Campos, G.E.R; Somazz, M.C; Pino, V.F; et al. Análise Morfométrica dos Tecidos Muscular e Conjuntivo Após Desnervação e Estimulação Elétrica de Baixa Frequência. *Rev Bras Fisiot*. 2005; 9(2):235-241.
8. Kitamura, JH. Teodori, RM. Recuperação morfológica e funcional do nervo isquiático de ratos após desnutrição/renutrição dietética e axoniotmese; [Dissertação]. Universidade Metodista de Piracicaba; 2014

9. Oliveira LS, Sobral LL, Takeda SYM, Betini J, Guirro RRJ, Somazz MC, et al. Estimulación eléctrica y natación en la fase aguda de la axonotmesis: influencia sobre la regeneración nerviosa y la recuperación funcional. *Rev Neurol.* 2008;47:11-5.
10. Debastiani, Jean Carlos. Ação da Proteína Sericina em Lesão Nervosa Isquiática, associada ao Exercício Físico De Natação, em Ratos Wistar. 2017. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biociências e Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2017
11. Neves, Juliana Dalibor. Efeitos de Diferentes Protocolos de Treinamento Físico Sobre a Função e Morfologia do Nervo Mediano de Ratos após Protocolo de Lesão por esmagamento. 2011. 53 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Neurociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
12. Andrade, Rodrigo Fragoso. Avaliação morfométrica da regeneração nervosa periférica em animais desnutridos precocemente. 2009. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Neurociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009
13. Barbosa Kíriaque Barra Ferreira, Costa Neuza Maria Brunoro, Alfenas Rita de Cássia Gonçalves, De Paula Sérgio Oliveira, Minim Valéria Paula Rodrigues, Bressan Josefina. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. Nutr.* [Internet]. 2010 Aug [cited 2019 Nov 15]; 23(4): 629-643.
14. Coradini Josineia Gresele. Influência do exercício de natação sobre a regeneração do nervo mediano em ratos wistar controles e obesos após protocolo de lesão por compressão nervosa [dissertação on the Internet]. [place unknown]: Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel; 2014
15. Barbosa D, Lima C. Effects of physical exercise on anxiety-related behaviors in rats. *Rev Bras Med Esporte.* 2016; 22(2): 122-125.
16. Rogatto G.P, Oliveira CAM, Faria MC, Luciano E. Respostas metabólicas agudas de ratos Wistar ao exercício intermitente de saltos. *Motriz.* 2004;10(2):61-66.

OBSERVAÇÃO: Os autores declaram não existir conflitos de interesse de qualquer natureza.