

Como citar este artigo:

Santana AJ, Debastiani JC, Buratti P, Peretti AL, Kunz RI, Brancalhão RM, et al. Sericina e natação sobre parâmetros histomorfométricos de músculo plantar desnervado de ratos Wistar. *einstein* (São Paulo). 2018;16(1):eAO4137.

Autor correspondente:

André Junior Santana
Rua Universitária, 2.069 – Jardim Universitário
CEP: 85819-110 – Cascavel, PR, Brasil
Tel.: (45) 3220-3157
E-mail: andresantana_impacto@hotmail.com

Data de submissão:

29/5/2017

Data de aceite:

13/10/2017

Conflitos de interesse:

não há.

Copyright 2018

Esta obra está licenciada sob
uma Licença *Creative Commons*
Atribuição 4.0 Internacional.

ARTIGO ORIGINAL

Sericina e natação sobre parâmetros histomorfométricos de músculo plantar desnervado de ratos Wistar

Sericin and swimming on histomorphometric parameters of denervated plantar muscle in Wistar rats

André Junior Santana¹, Jean Carlos Debastiani¹, Pâmela Buratti¹, Ana Luiza Peretti¹, Regina Inês Kunz¹, Rose Meire Costa Brancalhão¹, Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro¹, Márcia Miranda Torrejais¹, Gladson Ricardo Flor Bertolini¹

¹ Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, PR, Brasil.

DOI: 10.1590/S1679-45082018AO4137

RESUMO

Objetivo: Analisar o efeito da proteína sericina associada ao exercício físico de natação na histomorfometria do músculo plantar de ratos Wistar. **Métodos:** Foram utilizados 40 ratos adultos divididos aleatoriamente em 5 grupos, com 8 animais cada: Controle, Lesão, Sericina, Natação e Exercício e Sericina. Três dias após a compressão do nervo isquiático, os Grupos Natação e Exercício e Sericina foram submetidos ao exercício físico de natação durante 21 dias. Após, os animais foram sacrificados, e o músculo plantar foi processado. **Resultados:** Não houve diferença da área da secção transversa entre os grupos, quantidade de núcleos periféricos, quantidade de fibra, relação núcleo/fibra e diâmetro menor. A análise morfológica revelou que no Grupo Natação ocorreu hipertrofia das fibras, assim como nos Grupos Exercício e Sericina e Lesão, o dano muscular foi evidente. O percentual de conjuntivo intramuscular parece ter sido mantido no Grupo Exercício em relação aos demais grupos. **Conclusão:** A associação da proteína sericina e exercício físico de natação não foi eficiente na melhora das propriedades musculares, embora a aplicação do exercício físico tenha sido eficiente na manutenção do conjuntivo intramuscular, e no não agravamento dos efeitos deletérios consequentes da lesão nervosa periférica.

Descritores: Nervos periféricos; Fibras musculares esqueléticas; Exercício; Nervo isquiático/lesões; Proteínas; Ratos Wistar

ABSTRACT

Objective: To analyze the combined effects of the silk protein sericin and swimming exercise on histomorphometry of the plantar muscle in Wistar rats. **Methods:** Forty adult rats were randomly allocated into 5 groups comprising 8 animals each, as follows: Control, Injury, Sericin, Swim, and Swim plus Sericin. Three days after crushing of the sciatic nerve the rats in the Swim and Swim plus Sericin Groups were submitted to swimming exercise for 21 days. Rats were then euthanized and the plantar muscle harvested and processed. **Results:** Cross-sectional area, peripheral nuclei and muscle fiber counts, nucleus/fiber ratio and smallest muscle fiber width did not differ significantly between groups. Morphological analysis revealed hypertrophic fibers in the Swim Group and evident muscle damage in the Swim plus Sericin and Injury Groups. The percentage of intramuscular collagen was apparently maintained in the Swim Group compared to remaining groups. **Conclusion:** Combined treatment with sericin and swimming exercise did not improve muscle properties. However, physical exercise alone was effective in maintaining intramuscular connective tissue and preventing progression of deleterious effects of peripheral nerve injury.

Keywords: Peripheral nerves; Muscle fibers, skeletal; Exercise; Sciatic nerve/injuries; Proteins; Rats, Wistar

INTRODUÇÃO

A lesão nervosa periférica (LNP) pode resultar em perda parcial ou total da função sensorial, autonômica e motora, incluindo retração tecidual, dor e edema, além de diversas outras complicações secundárias.⁽¹⁾ Em países desenvolvidos, a ocorrência anual das LNP é estimada entre 13 a 23 casos a cada 100 mil habitantes, incidindo principalmente na população economicamente ativa, como jovens entre 21 e 30 anos.⁽²⁾

Dentro dos modelos experimentais de compressão nervosa, o nervo isquiático de ratos é muito utilizado, devido à sua característica morfológica, bem como pelo fácil acesso cirúrgico e por possuir dados prévios para comparação.⁽³⁾ Uma das características da compressão nervosa é a fraqueza dos músculos do membro pélvico,⁽⁴⁾ produzindo denervação muscular, que leva à atrofia, fibrose e dilatação transitória do leito capilar intramuscular, causando aumento no volume sanguíneo e do fluido extracelular, além do aumento da proteólise.⁽⁵⁾

As fibras musculares possuem sua integridade morfológica e funcional mantida pelo tecido conjuntivo, matriz extracelular rica em carboidratos e proteínas.⁽⁶⁾ Este tecido tem várias funções, como a capacidade de preencher o espaço entre as fibras musculares, permitindo a união e o alinhamento entre elas; coordenar a transmissão de força pelo músculo para o tendão e o osso para gerar movimento; ser um tecido de sustentação para nervos e vasos sanguíneos, além de lubrificar as estruturas, facilitando o deslizamento.⁽⁷⁾

Sabe-se que a musculatura esquelética possui a capacidade de se regenerar rapidamente, mesmo após danos considerados graves, devido à plasticidade neuromuscular.⁽⁸⁾ O sistema nervoso periférico também compartilha de boa capacidade de recuperação, porém o resultado funcional é muitas vezes pobre, principalmente pelo fato de os axônios lesados poderem estar muito distante de seus órgãos-alvo para restabelecerem conexão.⁽²⁾

Dentre as estratégias terapêuticas utilizadas para reabilitação, estão os exercícios físicos de natação, que consistem em uma atividade voltada para a melhora das propriedades musculares, por meio do treinamento aeróbico.⁽⁹⁾ Neste sentido, estudos vêm mostrando os benefícios dos exercícios físicos na regeneração muscular, como na prevenção da atrofia e na melhora das propriedades estruturais do músculo. No entanto, seus efeitos no músculo esquelético, após lesão compressiva do nervo isquiático, são um aspecto discutido, especialmente em relação ao tipo de exercício, à sua intensidade e ao melhor período para ser iniciado.^(10,11)

Assim como o exercício físico, o uso de materiais biocompatíveis se faz pertinente. Entre estes materiais, as proteínas fibroína e sericina, extraídas do casulo do

bicho-da-seda, têm sido pesquisadas em vários campos das ciências da saúde.⁽¹²⁾ Estudos apontam que peptídeos da proteína sericina, associados ao exercício físico, melhoram o desempenho aeróbico, a oxidação de gordura e o aumento de testosterona.^(13,14) A sericina também se mostra biocompatível tanto no tratamento de queimaduras quanto na cicatrização de feridas.⁽¹⁵⁾ Embora suas características biológicas a tornem potencialmente promissora, sua potencial ação sobre a regeneração neuromuscular e sua associação com outras estratégias terapêuticas, como o exercício de natação, ainda se mostra inexplorada.

OBJETIVO

Analisar os efeitos da sericina associada à natação, na histomorfometria do músculo plantar, após lesão compressiva do nervo isquiático de ratos Wistar.

MÉTODOS

Foram utilizados 40 ratos da linhagem Wistar, com peso de 300 ± 50 g, mantidos em fotoperíodo claro-escuro de 12 horas, com temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$, e água e ração fornecidos *ad libitum*. Os animais foram separados aleatoriamente em cinco grupos experimentais, com oito ratos em cada grupo, sendo: Controle (Ct), Lesão (Ls), Sericina (Ser), Natação (Nat) e Sericina e Natação (Ser+Nat). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Paraná.

Protocolo experimental de compressão isquiática

Para o modelo experimental de compressão nervosa, do tipo axonotmese no nervo isquiático, os animais dos Grupos Ls, Ser, Nat e Ser+Nat foram pesados e anestesiados previamente ao procedimento cirúrgico, com injeção intraperitoneal de cloridrato de quetamina (95mg/kg, Dopalen, Brasil) e cloridrato de xilazina (12mg/kg, Anasedan, Brasil). Após verificação do estado de consciência do animal (observado pela ausência de resposta motora ao pinçamento da cauda e pregas interdigitais), ele foi posicionado em decúbito ventral, mantendo-se os membros escapulares e pélvicos em abdução, e foi feita a tricotomia em terço médio da coxa pélvica direita.

Em seguida, foi realizada uma incisão paralela às fibras do músculo bíceps femoral, expondo o nervo isquiático e sua subsequente compressão, com uso de pinça hemostática, por 30 segundos. A pressão gerada foi padronizada pelo fechamento da pinça no segundo dente da cremalheira.⁽¹⁶⁾ Após o pinçamento, o nervo

foi realocado, tendo sido realizada sutura cutânea com pontos simples, utilizando fio de nylon monofilamento, aplicado polivinilpirrolidona-iodo (Povidine®) sobre a incisão. Então, os animais foram alojados nas mesmas condições pré-cirúrgicas.

Protocolo de exercício resistido de natação

O protocolo de exercício de natação foi adaptado de Bertolini et al.,⁽¹⁷⁾ Somente os Grupos Nat e Ser+Nat foram submetidos ao exercício, embora os demais grupos foram expostos ao meio aquático, por 10 segundos, no período do tratamento, para que o estresse do meio fosse o mesmo para todos os grupos. Todos os animais foram adaptados e treinados a nadar de forma gradual nos 15 dias que antecederam o protocolo de lesão nervosa. O tratamento com a natação foi iniciado no terceiro dia pós-operatório. Este foi realizado em um tanque de formato oval, com 60cm de profundidade e capacidade para 200L. O exercício foi realizado com nível da água em 40cm de profundidade e a temperatura da água controlada a 32°C.

Os animais foram pesados antes de todas as sessões, a fim de se estabelecer a carga aplicada durante o exercício, sendo 10% do peso corporal do animal, representada por chumbos que foram fixados na região do abdômen com o auxílio de fita velcro. O protocolo seguiu por 3 semanas, sendo realizado de segunda a sexta, totalizando 21 dias de tratamento, com carga progressiva de tempo: primeira semana após a lesão 15' de natação; segunda semana, 20' de natação; e terceira semana, 25' de natação.

Análises morfológicas e morfométricas

Após 24 horas da última sessão de tratamento, os animais foram pesados e anestesiados, decapitados em guilhotina e, então, o músculo plantar foi dissecado, e o segmento proximal foi processado para a avaliação morfológica.⁽¹⁸⁾

Para o estudo das fibras musculares, o músculo foi mantido à temperatura ambiente durante 30 a 40 minutos. Após este tempo, o material foi coberto com talco, para a preservação do tecido de acordo com a técnica de Moline et al.,⁽¹⁹⁾ e congelado em nitrogênio líquido durante 2 minutos, sendo posteriormente acondicionado em criotubos e armazenados em Biofreezer a -80°C, para posterior processamento. Os segmentos musculares congelados foram transferidos para câmara de criostato (micrótomo Lupetec CM2850 Cryostat) a -20°C e mantidos durante 30 minutos para estabilização da temperatura. Em seguida, estes segmentos fo-

ram seccionados transversalmente (7µm de espessura) em cortes semisseriados, os quais foram desidratados e diafanizados, e as lâminas foram montadas com auxílio de Permount (Thermo Fisher Scientific®, New Jersey, Estados Unidos). Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina, para análise geral do tecido muscular, e com tricromo de Masson, para análise do tecido conjuntivo.

As lâminas obtidas foram analisadas em microscópio de luz (BX60 Olympus®, Tóquio, Japão) e, para a mensuração da área de secção transversa e menor diâmetro da fibra muscular, foram obtidas aleatoriamente dez imagens na objetiva de 40x, sendo que, em cada imagem, foram mensuradas dez fibras pelo programa Image-Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics®, Silver Spring, Estados Unidos), totalizando cem mensurações por animal.

Para determinar a densidade do tecido conjuntivo, número de fibras e núcleos periféricos, foram obtidas aleatoriamente dez imagens na objetiva de 40x e realizadas as dez mensurações por animal.

Na análise da densidade do tecido conjuntivo do endomísio e perimísio foi utilizado o Programa de Manipulação de Imagens GNU - GIMP 2.0 (GNU General Public License®, Berkeley, Califórnia, Estados Unidos). A área relativa do tecido conjuntivo (densidade da área) foi calculada dividindo o total de *pixels* da microfotografia pelo total de *pixels* da marcação do tecido conjuntivo.

As fibras musculares e os núcleos presentes foram morfológicamente identificados, marcados e contabilizados. Para calcular a razão núcleo por fibra, foi realizada a divisão do número total de núcleos pelo número total de fibras musculares, presentes no mesmo campo visual. Para evitar erro de amostragem, foram excluídas as fibras e os núcleos periféricos projetados sobre a borda superior e esquerda de cada microfotografia.

Análise estatística

Os dados foram analisados com auxílio do programa BioEstat® 5.0 e apresentados como média e desvio-padrão. Foi utilizado a Análise de Variância (ANOVA) unidirecional, com pós-teste *t* (LSD). Para todas as análises, foi considerado nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Análises histomorfométricas do músculo plantar

As análises histomorfométricas do músculo plantar em relação a área de secção transversa, quantidade de fibras e de núcleos periféricos, relação núcleo/fibra, menor diâmetro e densidade do tecido conjuntivo do endomísio e perimísio são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Medidas da área das fibras musculares

Parâmetros	Grupos				
	Controle	Lesão	Sericina	Natação	Sericina + Natação
Área	2.740,9±254,0 ^a	1.533,7±279,9 ^b	1.584,5±220,6 ^b	1.498,3±181,9 ^b	1.452,5±341,2 ^b
Diâmetro menor	43,6±1,3 ^a	33,4±3,6 ^b	34,7±3,0 ^b	33,1±1,6 ^b	32,3±4,6 ^b
Número de fibras	343,2±52,9 ^a	522,7±48,3 ^b	634,2±187,6 ^b	551,8±82,5 ^b	555,2±120,0 ^b
Número de núcleos	364,8±95,6 ^a	609,5±191,2 ^a	526,2±117,4 ^a	693,0±224,5 ^a	679,4±243,3 ^a
Núcleo/fibra	1,1±0,3 ^a	1,1±0,3 ^a	0,9±0,3 ^a	1,2±0,2 ^a	1,3±0,7 ^a
Conjuntivo %	2,6±0,6 ^a	6,7±1,1 ^b	4,3±1,0 ^{cd}	3,1±0,8 ^{ee}	4,1±1,5 ^{de}

Letras semelhantes indicam semelhança estatística. Letras diferentes indicam dados estatisticamente diferentes entre os grupos ($p < 0,05$). Valores expressos por média ± desvio padrão.

Em relação a área, número de fibras e diâmetro menor, apenas o Grupo Ct foi diferente estatisticamente entre os demais grupos, não havendo diferença entre eles. O número de núcleos e a relação núcleo/fibra não apresentaram diferença estatística em nenhum grupo analisado. Quanto ao tecido conjuntivo intramuscular, os Grupos Ls, Ser e Ser+Nat apresentaram aumento significativo em relação ao Grupo Ct de 156%, 67% e 58%, respectivamente. Ainda, o Grupo Ls apresentou diferença significativa em relação aos grupos tratados (Ser, Nat e Ser+Nat, com aumento de 53%, 115% e 62%, respectivamente). O Grupo Ser também apresentou diferença significativa em relação ao Grupo Nat, com aumento de 40% do conjuntivo intramuscular.

Os resultados demonstram que o exercício físico não se mostrou eficiente quanto à melhora ou mudança das propriedades musculares do Grupo Ls, embora não se mostrou como agravante, além de ter sido eficiente na manutenção do conjuntivo intramuscular, quando utilizado isoladamente como modalidade terapêutica, em comparação aos demais protocolos de tratamento. Tanto a sericina isolada (Ser), quanto associada (Ser+Nat) não foram eficientes enquanto modalidade terapêutica, quando comparadas ao Grupo Nat.

Análise morfológica do músculo plantar

No Grupo Ct, o músculo plantar apresentou fibras normais com manutenção do formato poligonal, mionúcleos na periferia, em posição subsarcolemal, junto à membrana celular, e manutenção do padrão fascicular (conjuntivo em feixes), sem alteração aparente do perimísio e endomísio, além da presença de capilares sanguíneos.

No Grupo Ls, o músculo plantar apresentou danos decorrentes da denervação. As fibras apresentaram contornos irregulares, com desorganização fascicular e aumento do colágeno intramuscular, perda do formato poligonal (fibras polimórficas), diminuição de tamanho, atrofia e mionúcleos periféricos aumentados, embora não relevante estatisticamente. Já o Grupo Ser apresentou fibras musculares com menor área, polimorfismo e fibras atroficas. O tecido conjuntivo possui

um padrão tecidual mais espesso, mionúcleos periféricos aumentados e centralizados, além da maior presença de capilares sanguíneos.

O Grupo Nat apresentou hipertrofia de algumas fibras musculares, aumento aparente da quantidade de mionúcleos periféricos e núcleos centralizados, muitos dos quais com halos basófilos circundante e mioblastos no local da lesão. A organização tecidual era normal. No Grupo Ser+Nat, o músculo plantar apresentou leve desorganização do tecido conjuntivo e mionúcleos periféricos aumentados. As fibras se apresentaram com formato poligonal e algumas hipertrofiadas, além da presença de núcleos centrais e halo basófilo circundante (Figura 1).

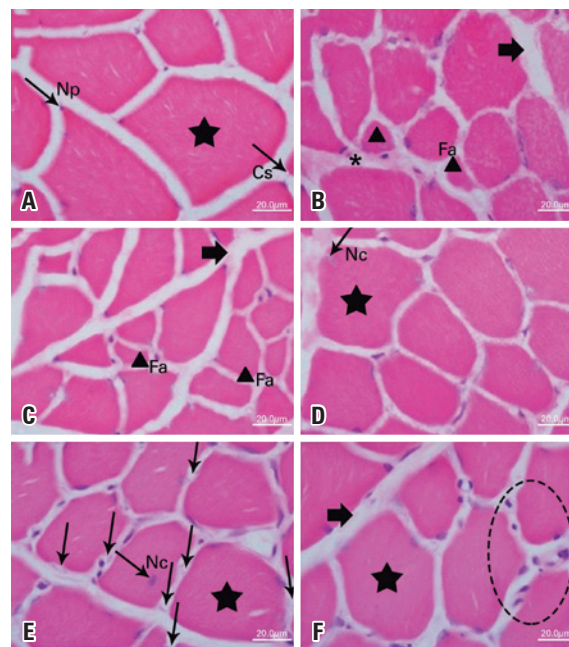


Figura 1. Microfotografia da secção transversal do músculo plantar de ratos Wistar, coloração hematoxilina e eosina. Grupo Controle (A), Grupo Lesão (B), Grupo Sericina (C), Grupo Natação (D) e Grupo Sericina+Natação (E e F). Em A, observam-se fibras musculares com formato poligonal (estrela), núcleos periféricos (Np) e capilares sanguíneos (Cs). Em B, fibras musculares atrofiadas (triângulo), aumento na densidade do conjuntivo (seta grande) e fibroblastos (*). Em C, fibras atroficas (triângulo) e fibras polimórficas. Em D, fibra muscular hipertrofica (estrela) e núcleo centralizado (Nc). Em E, fibras hipertrofiadas (estrela), presença de núcleo central (Nc) e aumento dos capilares sanguíneos (setas verticais). Em F, aumento na quantidade de núcleos periféricos (elipse tracejada), fibra hipertrofica (estrela) e espessamento do conjuntivo (seta grande)

I DISCUSSÃO

O modelo de compressão do nervo isquiático realizado no presente estudo reproduz a lesão do tipo axonotmese,⁽¹⁶⁾ que se caracteriza pela interrupção do estímulo neuromuscular, ao alterar a morfologia do músculo plantar dos animais do Grupo Ls, demonstrando características específicas de dano muscular causado por denervação, como fibras polimórficas e de menor diâmetro, aumento na densidade do tecido conjuntivo, além da presença de núcleos centrais. Estes achados corroboram Malysz et al.,⁽¹¹⁾ que relataram alterações estruturais, além de atrofia muscular esquelética, após lesão nervosa isquiática por axonotmese. Rosa Jr. et al.,⁽²⁰⁾ também descreveram alterações na fibra muscular esquelética do músculo extensor longo dos dedos e sóleo, após lesão nervosa isquiática. Ainda Cavalcante et al.,⁽²¹⁾ discutiram que o conjunto destas alterações morfológicas leva à diminuição da massa, do diâmetro da fibra e da produção de força, comprometendo a funcionalidade do órgão.

Como as análises ocorreram 22 dias após a lesão nervosa, foi possível verificar alguns sinais de regeneração muscular, como a presença de núcleos centralizados na fibra e aglomerados de fibroblastos, indicativo de síntese proteica,⁽²²⁾ ou seja, uma tentativa de recuperação tecidual como um todo em resposta a lesão orgânica. Resposta semelhante foi observada por Tanaka et al.,⁽¹⁰⁾ que verificaram a recuperação espontânea do músculo sóleo após 6 semanas de lesão do nervo tibial.

A literatura apresenta resultados satisfatórios quanto ao uso do exercício físico como estratégia terapêutica,^(10,11) na manutenção e na melhora da morfologia muscular após LNP. O exercício físico é capaz de promover a hipertrofia muscular,⁽⁹⁾ além de contribuir para a prevenção da atrofia.⁽¹⁰⁾ O exercício de natação foi escolhido por permitir a atividade aeróbica com sobrecarga cardiorrespiratória, devido às propriedades da água de viscosidade, que oferecem resistência aos movimentos em qualquer direção.⁽²³⁾ Porém, o presente trabalho não apresentou dados corroborativos para os tratamentos utilizados nos Grupos Nat e Ser+Nat sobre a atrofia muscular decorrente da lesão isquiática. Provavelmente, o protocolo de treino escolhido (resistência com sobrecarga) não tenha sido suficiente para gerar aumento de massa muscular a ponto de minimizar a atrofia muscular – apenas 10% do peso corporal. Artifon et al.,⁽²⁴⁾ também não verificaram mudança nos parâmetros morfométricos do músculo esquelético de ratos submetidos à ciatalgia e tratados com exercício físico de natação progressiva, similar ao protocolo utilizado no presente estudo, embora sem sobrecarga.

Ademais, o exercício de natação utilizado no presente trabalho não se mostrou fator agravante aos sinais

degradantes, subsequentes à compressão nervosa. Isto talvez pode ter ocorrido pelo menor impacto das estruturas e menor estresse das fibras musculares, comparando com o exercício em solo, em virtude das propriedades de empuxo, viscosidade e temperatura da água, bem como sobrecarga e duração total do treino utilizado.

A remodelação tecidual é mediada por várias citocinas e fatores de crescimento, que regulam a fibrogênese na cicatrização de feridas, lesão de músculos lacerados e denervação, como o fator de transformação do crescimento beta 1 (TGF- β 1), metaloproteinase de matriz (MMPs) e inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs). Ozawa et al.,⁽²⁵⁾ descreveram algumas mudanças nestes reguladores na fase inicial de remodelação (3^o, 7^o e 14^o dias) no músculo esquelético de ratos após denervação isquiática completa. Desta maneira, é importante compreender os mecanismos por trás das alterações neuromusculares advindas da LNP, para possibilitar o conhecimento necessário para a intervenção terapêutica, que seja promissora na recuperação funcional do sistema neuromuscular.

O tecido conjuntivo é responsável pela integridade morfológica e funcional do músculo esquelético, sendo que este sofre adaptações após estímulos, como na denervação, entre outros.^(26,27) No presente estudo houve aumento do conjuntivo intramuscular, e os Grupos Ls, Ser e Ser+Nat apresentaram aumento significativo em relação ao Ct, de 156%, 67% e 58%, respectivamente. Ainda, o Grupo Ls apresentou diferença significativa em relação aos demais grupos tratados (Ser, Nat e Ser+Nat), com aumento de 53%, 115% e 62%, respectivamente. Além disto, o Grupo Ser também apresentou diferença significativa em relação ao Grupo Nat, com aumento de 40% do conjuntivo. O aumento do colágeno intramuscular também foi descrito por Salonen et al.,⁽²⁶⁾ no músculo gastrocnêmio, após lesão nervosa isquiática. Ozawa et al.,⁽²⁵⁾ verificaram aumento do colágeno no músculo esquelético após denervação isquiática completa, com aumento de 80% na expressão do colágeno no 14^o dia após a lesão.

Segundo Minamoto,⁽²⁸⁾ a denervação do músculo esquelético pode aumentar a densidade do tecido conjuntivo, que responde à lesão com proliferação de fibroblastos e síntese de componentes da matriz extracelular, sendo que, durante o reparo celular, ocorre aumento da síntese de colágeno tipo III, principalmente no perimísio e endomísio. O aumento na densidade da área do tecido conjuntivo, ocorre devido a proliferação do colágeno tipo I, no endomísio e perimísio, e, por possuir menor elasticidade, pode levar o músculo à diminuição da elasticidade, prejudicando a funcionalidade muscular.^(26,28)

Observa-se, no presente estudo, que houve manutenção do conjuntivo intramuscular no grupo tratado

com exercício de natação, demonstrando que o exercício físico, embora não tenha sido eficaz na recuperação da morfologia muscular como um todo, foi eficiente, evitando o agravamento das consequências musculares deletérias advindas da LNP. O oposto foi demonstrado pelo grupo tratado com a proteína sericina, que apresentou um acréscimo na densidade do conjuntivo, e a associação de ambos os tratamentos (natação e sericina) não apresentou resultados potencializadores.

Neste estudo, a associação da proteína sericina ao exercício de natação na fase aguda da recuperação não foi uma modalidade terapêutica eficaz na melhora das consequências deletérias, advindas da LNP, embora o exercício físico, quando aplicado sozinho, tenha sido eficaz na manutenção da proporção de conjuntivo. É de extrema importância que profissionais da saúde entendam a íntima integração entre o sistema nervoso e musculoesquelético e sua aplicabilidade clínica, sendo as condutas terapêuticas contemplativas para ambos, músculo e nervo, assim como as estruturas periarticulares envolvidas na lesão nervosa, afim de acelerar o processo regenerativo, visando ao retorno da funcionalidade ao paciente.

CONCLUSÃO

A axonotmese no nervo isquiático foi capaz de promover efeitos de lesão muscular 22 dias após a lesão, e a associação da proteína sericina ao exercício físico de natação não acelerou o processo de recuperação muscular. No entanto, o exercício de natação manteve a densidade do tecido conjuntivo intramuscular. Assim, fica explícita a necessidade da prática do exercício físico enquanto modalidade terapêutica, após lesão nervosa compressiva, para manter as propriedades teciduais necessárias para que o processo de reparo seja eficiente.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Reabilitação Física, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pelo financiamento parcial da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Silva CK, Camargo EA. [Mechanisms involved in the regeneration of peripheral nerve injuries]. *Rev Saude Pesquisa*. 2010;3(1):93-8. Portuguese.
- Li R, Liu Z, Pan Y, Chen L, Zhang Z, Lu L. Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review. *Cell Biochem Biophys*. 2014;68(3):449-54. Review.
- Geuna S. The sciatic nerve injury model in pre-clinical research. *J Neurosci Methods*. 2015;243(1):39-46. Review.
- Kobayashi S, Yoshizawa H, Yamada S. Pathology of lumbar nerve root compression. Part 2: morphological and immunohistochemical changes of dorsal root ganglion. *J Orthop Res*. 2004;22(1):180-8. Erratum in: *J Orthop Res*. 2006;24(5):1136.
- Kääriäinen M, Kauhanen S. Skeletal muscle injury and repair: the effect of disuse and denervation on muscle and clinical relevance in pedicled and free muscle flaps. *J Reconstr Microsurg*. 2012;28(9):581-7. Review.
- Gillies AR, Lieber RL. Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix. *Muscle Nerve*. 2011;44(3):318-31. Review.
- Purslow PP. The structure and functional significance of variations in the connective tissue within muscle. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2002;133(4):947-66. Review.
- Fernandes T, Soci UP, Alves CR, Carmo EC, Barros JG, Oliveira EM. [Molecular determinants of skeletal muscle hypertrophy mediated by exercise training: signaling pathways study]. *Rev Mackenzie Educ Fis Esporte*. 2008;7(1):169-88. Portuguese.
- Simionato LH, Bortoluci CH, Souza MY, Santos TC, Furtado MN, Carvalho RL, et al. Comparison of the effect of physical swimming training load and off load in the striated skeletal muscle of rats. *Salusvita*. 2015;34(2):251-63. Portuguese.
- Tanaka S, Tsubaki A, Tachino K. Effect of exercise training after partial denervation in rat soleus muscles. *J Phys Ther Sci*. 2005;17(2):97-101.
- Malysz T, Ilha J, Severo do Nascimento P, Faccioni-Heuser MC, De Angelis K, D'agord Schaan B, et al. Exercise training improves the soleus muscle morphology in experimental diabetic nerve regeneration. *Muscle Nerve*. 2011;44(4):571-82.
- Rajput SK, Singh MK. Sericin - a unique biomaterial. *J Polym Text Eng*. 2015;2(3):29-35.
- Shin S, Yeon S, Park D, Oh J, Kang H, Kim S, et al. Silk amino acids improve physical stamina and male reproductive function of mice. *Biol Pharm Bull*. 2010;33(2):273-8.
- Kim J, Hwang H, Yun HY, Kim B, Lee CH, Suh H, et al. Silk peptide intake increases fat oxidation at rest in exercised mice. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2013;59(3):250-5.
- Aramwit P, Palapinyo S, Srichana T, Chottanapund S, Muangman P. Silk sericin ameliorates wound healing and its clinical efficacy in burn wounds. *Arch Dermatol Res*. 2013;305(7):585-94.
- Câmara CN, Brito MV, Silveira EL, Silva DS, Simões VR, Pontes RW. Histological analysis of low-intensity laser therapy effects in peripheral nerve regeneration in Wistar rats. *Acta Cir Bras*. 2011;26(1):12-8.
- Bertolini GR, do Nascimento CM, Artifon EL, Cunha DM, Meireles A. Swimming training and functional assessment of sciatic nociception in rats. *Rev Bras Reumatol*. 2011;51(3):249-59.
- Junqueira LC, Carneiro J. Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo: Santos. 1983. 123 p.
- Moline SW, Glenner GG. Ultrarapid tissue freezing in liquid nitrogen. *J Histochem Cytochem*. 1964;12:777-83.
- Rosa Jr. GM, Magalhães RM, Rosa VC, Bueno CR, Simionato LH, Bortoluci CH. Effect of the laser therapy in association with swimming for a morphological nerve repair and functional recovery in rats submitted to sciatic axonotmese. *Fisioter Pesquisa*. 2016;23(1):12-20.
- Cavalcante EV, da Silva LG, Montenegro EJ, Pontes Filho NT. [The effects of electrical stimulation on animals denervated muscle: a systematic review]. *Fisioter Mov*. 2012;25(3):669-78. Review. Portuguese.
- Karalaki M, Fili S, Philippou A, Koutsilieris M. Muscle regeneration: cellular and molecular events. *In Vivo*. 2009;23(5):779-96. Review.
- Candeloro JM, Caromano FA. [Discussing about the use of water as facilitation, resistance or support in hydrotherapy]. *Acta Fisiatr*. 2006;13(1):7-11. Portuguese.
- Artifon EL, Silva LI, Ribeiro LF, Brancalhão RM, Bertolini GR. Aerobic training previous to nerve compression: morphometry analysis of muscle in rats. *Rev Bras Med Esporte*. 2013;19(1):66-9.
- Ozawa J, Kurose T, Kawamata S, Kaneguchi A, Moriyama H, Kito N. Regulation of connective tissue remodeling in the early phase of denervation in a rat skeletal muscle. *Biomed Res*. 2013;34(5):251-8.
- Salonen V, Lehto M, Kalimo M, Penttinen R, Aro H. Changes in intramuscular collagen and fibronectin in denervation atrophy. *Muscle Nerve*. 1985;8(2):125-31.
- Caierão QM, Teodori RM. [The influence of immobilization on the muscle connective tissue: a review]. *Fisioter Mov*. 2007;20(3):87-92. Review. Portuguese.
- Minamoto VB. Effect of denervation on skeletal muscle: a review. *Fisioter Mov*. 2007;20(3):63-9. Review. Portuguese.