

# Análise do tecido muscular de ratos Wistar submetidos ao modelo de compressão do nervo isquiático e à crioterapia

Analysis of the muscle tissue of Wistar rats submitted to the sciatic nerve compression model and cryotherapy

Jhenifer Karvat<sup>1</sup>, Camila Mayumi Martin Kakhata<sup>1</sup>, Lizyana Vieira<sup>1</sup>, José Luis da Conceição Silva<sup>1</sup>, Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro<sup>1</sup>, Rose Meire Costa Brancalhão<sup>1</sup>, Gladson Ricardo Flor Bertolini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, PR, Brasil.

DOI: 10.1590/S1679-45082018AO4206

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar os efeitos da compressão nervosa do isquiático direito e da crioterapia no tecido muscular. **Métodos:** Foram utilizados 42 ratos Wistar machos, subdivididos nos Grupos Controle, Lesão 3, Lesão 8 e Lesão 15, submetidos a compressão nervosa e eutanasiados, respectivamente, no 3º, 8º e 15º dias pós-operatório; Lesão Crioterapia 3, tratado com crioterapia, por imersão durante 20 minutos, por 1 dia, e eutanasiados no 3º dia pós-operatório; e Lesão Crioterapia 8 e Lesão Crioterapia 15, tratados durante 6 dias e eutanasiados no 8º e 15º dias pós-operatório. A avaliação funcional foi realizada pela força de preensão do membro pélvico direito. Os músculos tibiais anteriores direitos foram avaliados quanto a massa, menor diâmetro e área de secção transversa. Em Lesão Crioterapia 8 e Lesão Crioterapia 15, foi dosada a hidroxiprolina nos sóleos direitos. **Resultados:** Na preensão, houve diferença significativa nos Grupos Lesão quando comparados ao Grupo Controle ( $p < 0,05$ ). No menor diâmetro, o Grupo Controle foi maior que Lesão 8 ( $p = 0,0094$ ), Lesão 15 ( $p = 0,002$ ) e Lesão Crioterapia 15 ( $p < 0,001$ ). Na comparação entre os grupos com eutanásia no mesmo pós-operatório, houve diferença significativa ( $p = 0,0363$ ) no 8º pós-operatório, sendo Lesão Crioterapia maior que Lesão. Na área das fibras, o Grupo Controle também foi maior que Lesão 8 ( $p = 0,0018$ ), Lesão 15 ( $p < 0,001$ ) e Lesão Crioterapia 15 ( $p < 0,001$ ). Na hidroxiprolina, não houve diferença significativa entre os grupos. **Conclusão:** A lesão nervosa resultou na diminuição da força e em trofismo muscular, e a crioterapia retardou a hipotrofia, porém este efeito não se manteve após o tratamento cessar.

**Descritores:** Músculos; Compressão nervosa; Crioterapia; Ratos Wistar

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the effects of right sciatic nerve compression and cryotherapy on muscle tissue. **Methods:** We used 42 male Wistar rats, subdivided in the following Groups Control, Injury 3, Injury 8 and Injury 15 submitted to nerve compression and euthanized in the 3<sup>rd</sup>, 8<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> day after surgery. The Cryotherapy Injury 3 was entailed treatment with cryotherapy by immersion of the animal in recipient for 20 minutes during 1 day, then animals were euthanized at the 3<sup>rd</sup> day after surgery, and the Cryotherapy Injury 8 and the Cryotherapy Injury 15 was treated for 6 days, and euthanized at the 8<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> day after surgery. Functional evaluation was performed by the grasping strength of the right pelvic limb. The right tibialis anterior muscles were evaluated for mass, smaller diameter and cross-sectional area. In the Cryotherapy Injury 8 and the Cryotherapy Injury 15 groups, the hydroxyproline was dosed in the right soles. **Results:** In the compression there was a significant difference in the Injury Groups compared with the Control Group ( $p < 0.05$ ). In the smaller diameter, the compression in Control Group was higher than

### Como citar este artigo:

Karvat J, Kakhata CM, Vieira L, Silva JL, Ribeiro LF, Brancalhão RM, et al. Análise do tecido muscular de ratos Wistar submetidos ao modelo de compressão do nervo isquiático e à crioterapia. *einstein* (São Paulo). 2018;16(3):eAO4206. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082018AO4206>

### Autor correspondente:

Jhenifer Karvat  
Rua Universitária, 2.069 – Jardim Universitário  
CEP: 85819-110 – Cascavel, PR, Brasil  
Tel.: (45) 3220-3157  
E-mail: jhenykarvat@hotmail.com

### Data de submissão:

13/7/2017

### Data de aceite:

26/10/2017

### Conflitos de interesse:

não há.

### Copyright 2018



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

Injury 8 ( $p=0.0094$ ), Injury 15 ( $p=0.002$ ) and Cryotherapy Injury 15 ( $p<0.001$ ) groups. The comparison between groups with euthanasia in the same post-operative period, a significant difference ( $p=0.0363$ ) was seen in day 8<sup>th</sup> after surgery, and this result in Cryotherapy Injury Group was greater than Injury 8 Group. In the fiber area, Control Group was also higher than the Injury 8 ( $p=0.0018$ ), the Injury 15 ( $p<0.001$ ) and the Cryotherapy Injury 15 ( $p<0.001$ ). In hydroxyproline, no significant difference was seen between groups. **Conclusion:** Nerve damage resulted in decreased muscle strength and trophism, the cryotherapy delayed hypotrophy, but this effect did not persist after cessation of treatment.

**Keywords:** Muscle; Nerve crush; Cryotherapy; Rats, Wistar

## INTRODUÇÃO

As neuropatias periféricas dos membros inferiores são lesões comuns, geralmente associadas a traumas e procedimentos cirúrgicos. Estas lesões têm um impacto significativo sobre a mobilidade e a função do paciente, tornando-se de grande relevância econômica para a sociedade.<sup>(1-3)</sup> O modelo mais utilizado para estudar esta lesão é a compressão do nervo isquiático em ratos, pois, além de mimetizar a neuropatia compressiva mais comum do membro inferior, é de fácil acesso cirúrgico.<sup>(2,4)</sup>

O modelo de compressão do nervo isquiático pode levar a alterações de sensibilidade, bem como à hipotrofia muscular, observada a partir do terceiro dia de pós-operatório (PO) até cerca de 20 dias após o procedimento. Cerca de 30 dias após, o músculo e nervo já se recuperaram espontaneamente, impossibilitando a observação destes efeitos.<sup>(5-8)</sup> No entanto, quando há hipotrofia muscular, tal tecido pode ser substituído por conjuntivo, formado principalmente por colágeno, o que resulta em perda da função, quando a regeneração nervosa não ocorre adequadamente.<sup>(9)</sup>

Uma das formas de tratamento das compressões nervosas é o uso das modalidades fisioterapêuticas, como a crioterapia, que é aplicação do frio de 0°C a 18,3°C,<sup>(10)</sup> a qual reduz o fluxo sanguíneo local, a taxa metabólica e a velocidade de condução do nervo periférico. Estas alterações resultam na diminuição da reação inflamatória no trauma agudo, dor e formação de edema.<sup>(11)</sup> O tempo de crioterapia, por meio da técnica de imersão, é de cerca de 20 minutos, para atingir seus efeitos terapêuticos, pois resfria uma área maior em comparação com as outras modalidades.<sup>(10,12-14)</sup>

Visto que a crioterapia é uma modalidade terapêutica de fácil acesso e baixo custo,<sup>(11)</sup> tornam-se relevantes estudos que verifiquem sua eficácia na alteração funcional e estrutural do tecido muscular decorrente de uma lesão nervosa.

## OBJETIVO

Avaliar os efeitos do modelo experimental de compressão nervosa e crioterapia, no tecido muscular de ratos Wistar.

## MÉTODOS

Foram utilizados 42 ratos machos da linhagem Wistar, com 10 semanas de idade, obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus de Cascavel, no início do segundo semestre de 2015, com análises até o segundo semestre de 2016. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, com ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura controlada  $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , com acesso livre à água e ração.

Os animais foram separados aleatoriamente em sete grupos ( $n=6/\text{grupo}$ ), a saber: Grupo Controle (C), composto por animais que não foram submetidos a compressão nervosa e nem à crioterapia, eutanasiados no 15º dia após início do experimento; Grupos Lesão 3, 8 e 15 (L3, L8 e L15), submetidos à compressão nervosa e eutanasiados no 3º, 8º e 15º PO; Grupo Lesão Crioterapia 3 (LCrio3), submetido à compressão nervosa e à crioterapia durante 1 dia, sendo eutanasiados no terceiro PO; Grupo Lesão Crioterapia 8 e 15 (LCrio8 e LCrio15), submetidos à compressão nervosa e à crioterapia durante 6 dias, eutanasiados no 8º e 15º PO.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética para Experimentação Animal e Aulas Práticas da UNIOESTE, protocolo 06611 (15/07/2014), e conduzido segundo as normas internacionais de ética em experimentação animal.

Prévio ao procedimento cirúrgico de compressão do nervo isquiático, os animais foram pesados e anestesiados com cloridrato de quetamina (95mg/kg) e cloridrato de xilazina (12mg/kg) por via intraperitoneal. Após a aplicação da anestesia, foi realizada a verificação do estado de consciência (ausência de resposta motora ao pinçamento da cauda e das pregas interdigitais), em seguida, eles foram posicionados em decúbito ventral, para realizar a tricotomia no local do procedimento cirúrgico.

Posteriormente, foram realizadas a incisão, para expor o nervo isquiático direito, e a subsequente compressão nervosa, com uma pinça hemostática, durante 30 segundos. A pressão de pinçamento foi padronizada para todos os animais, utilizando-se como referência o segundo dente da cremalheira.<sup>(15)</sup> Por fim, foi realizada a sutura da pele do animal com fio catgut 4.0.

Os animais foram posicionados com o membro posterior direito imerso em recipiente de  $1.440\text{cm}^3$  (20cmx

12cmx6cm), contendo água e gelo, em temperatura de  $5^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , durante 20 minutos.<sup>(16)</sup> O primeiro tratamento foi realizado nos grupos LCrio3, LCrio8 e LCrio15 após o término do procedimento cirúrgico de compressão nervosa. A partir do 3º PO a crioterapia foi retomada e realizada em dias consecutivos, até o sétimo PO, somente nos grupos LCrio8 e LCrio15.

Para os Grupos L3, L8 e L15, os animais foram posicionados dentro do recipiente sem água por 20 minutos, para mimetizar o estresse causado pela manipulação do animal. Os dias de manipulação dos Grupos L3, L8 e L15 correspondem, respectivamente, aos dias de tratamento com crioterapia dos grupos LCrio3, LCrio8 e LCrio15.

Para a avaliação da função muscular, foi utilizado um medidor de força de preensão.<sup>(17)</sup> O teste foi adaptado para avaliar a força de preensão do membro pélvico direito. Os animais foram segurados gentilmente pelo dorso e permitiu-se que eles agarrassem com a pata posterior direita em uma grade conectada a um transdutor de força. O animal foi tracionado com firmeza crescente, até ele perder a preensão, registrando, neste momento, a força máxima exercida, gravada no equipamento. Em cada avaliação, o teste foi repetido três vezes, e foi utilizado o valor médio.

Foi realizado um tempo de adaptação e treino com todos os animais 3 dias prévios à lesão nervosa. O teste foi realizado antes da compressão do isquiático, para obtenção dos valores basais (AV1) e no 2º dia após a compressão do nervo para todos os grupos (AV2); posteriormente, foi realizada uma terceira avaliação (AV3), no 3º PO, para os Grupos C, L3 e LCrio3; no 8º PO, para os Grupos C, L8 e LCrio8; e 15º PO, para os Grupos C, L15 e LCrio15, sendo realizado sempre pelo mesmo avaliador.

Após o período de intervenção de cada grupo, os animais foram pesados, devidamente anestesiados e eutanasiados em guilhotina. Em seguida, o músculo tibial anterior direito foi dissecado, pesado e fixado em Metacarn por 24 horas, seguindo o processamento histológico de rotina para inclusão em parafina: desidratação em uma série crescente de álcool; diafanização em xilol; infiltração na parafina histológica; e embocamento para obtenção de cortes transversais.

Os músculos foram cortados com espessura de  $7\mu\text{m}$  e corados em hematoxilina e eosina (HE). Foram fotomicrografados dez campos com objetiva de 40x e, posteriormente, foram analisadas quanto ao menor diâmetro e a área, de cem fibras por músculo, pelo programa Image-Pro-Plus 6.0, além disto, foram analisados quanto à morfologia geral do tecido.

A hidroxiprolina é o principal componente do colágeno, e a medição de seus níveis pode ser utilizada

como um indicador do teor de colágeno. A análise foi realizada no músculo sóleo direito, nos Grupos L8, L15, LCrio8 e LCrio15. Para isto, o músculo foi coletado, congelado em nitrogênio líquido e homogeneizado, e as dosagens seguiram conforme instruções do fabricante (Sigma-Aldrich®, número do catálogo MAK008).

### Análise estatística

Os resultados foram expressos em média e desvio padrão. Os dados foram avaliados quanto à sua normalidade pelo teste Shapiro-Wilk e, posteriormente, foi utilizada análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida do pós-teste LSD (teste *t*), comparando os grupos nos diferentes momentos. Foi considerado significativo quando  $p < 0,05$ . Para tais análises, foi utilizado o programa Bioestat 5.0.

## RESULTADOS

De acordo com a análise da força de preensão, verificou-se que, para os valores basais, não havia diferença significativa entre os grupos [ $F(6; 35) = 1,6; p = 0,181$ ]. No entanto, para a AV2, houve diferenças [ $F(6; 35) = 34,7; p < 0,001$ ], e todos os grupos apresentaram menor força do que o C. Tal fato repetiu-se para a AV3, independente se a comparação foi do 3º PO [ $F(2; 15) = 6,3; p = 0,007$ ], 8º PO [ $F(2; 15) = 6,5; p = 0,009$ ] ou 15º PO [ $F(2; 15) = 6,5; p = 0,009$ ] (Tabela 1). Houve diminuição da força de preensão após a lesão, independente do tratamento com crioterapia, e ela não retornou aos valores basais.

**Tabela 1.** Força de preensão dos Grupos Controle (C), Lesão (L3, L8 e L15) e tratados com crioterapia (LCrio3, LCrio8 e LCrio15)

Avaliação	C	L3	LCrio3	L8	LCrio8	L15	LCrio15
1	72,7±32,5	64,1±36,5	53,9±16,4	41,8±18,9	33,6±10,3	43,2±29,6	57,7±31,5
2	51,3±17,1	6,1±8,7*	0±0*	0±0*	0±0*	0±0*	0±0*
3	66,2±20,7	18,7±29,1*	0±0*	0±0*	0±0*	0±0*	0±0*

\* Diferença significativa comparado ao Grupo Controle. Resultados expressos como média e desvio padrão.

Para a variável do peso do músculo tibial anterior, houve diferença significativa no Grupo C [ $F(6; 35) = 39,7; p < 0,001$ ], que apresentou média maior que os demais grupos. Não houve diferença entre os grupos eutanasiados no mesmo PO. Entre os grupos submetidos somente à lesão nervosa, foi observada diferença significativa, sendo a média de L3 maior que às dos Grupos L8 e L15. O mesmo ocorreu nos grupos lesionados e tratados com crioterapia: a média de LCrio3 foi maior que LCrio8 e LCrio15 (Tabela 2).

**Tabela 2.** Peso dos músculos tibial anterior de ratos Wistar

Controle	Pós-operatório	Lesão	Lesão Crioterapia
0,812±0,264	3°	0,584±0,049*	0,544±0,032*
	8°	0,397±0,033*†	0,442±0,043*‡
	15°	0,359±0,012*†	0,347±0,014*‡

\* Diferença em relação ao Grupo Controle; † diferença em relação ao Grupo Lesão 3; ‡ diferença em relação ao Grupo Lesão Crioterapia 8. Resultados expressos como média e desvio padrão.

Nas mensurações morfométricas para a análise do menor diâmetro das fibras musculares do tibial anterior, houve diferença significativa [F(6;35)=54,0; p=0,001]; sendo o Grupo C maior que L8 (p=0,009), L15 (p=0,002) e LCrio 15 (p<0,001). Na comparação entre os grupos com eutanásia no mesmo PO, houve diferença significativa (p=0,036) no oitavo PO, e o grupo com LCrio foi maior que o Grupo L (Tabela 3).

**Tabela 3.** Diâmetro da fibra do músculo tibial anterior de ratos Wistar

Controle	Pós-operatório	Lesão	Lesão Crioterapia
37,61±4,58	3°	34,71±2,72	37,08±2,54
	8°	31,85±3,16*	36,07±4,01†
	15°	30,33±2,42*	30,08±3,44*

\* Diferença em relação ao Grupo Controle; † diferença com relação ao Grupo Lesão 8. Resultados expressos como média e desvio padrão.

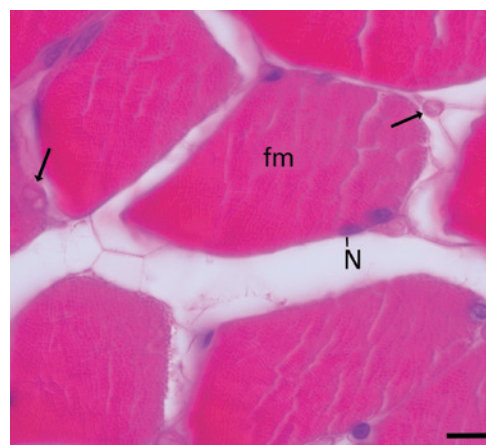
Na análise da área das fibras musculares do tibial anterior, também houve diferença significativa [F(6;35)=83,7; p<0,001], sendo o Grupo C maior que L8 (p=0,002), L15 (p<0,001) e LCrio 15 (p<0,001). Não houve diferença entre os grupos eutanasiados no mesmo PO (Tabela 4).

**Tabela 4.** Média e desvio padrão da área das fibras musculares do tibial anterior de ratos Wistar

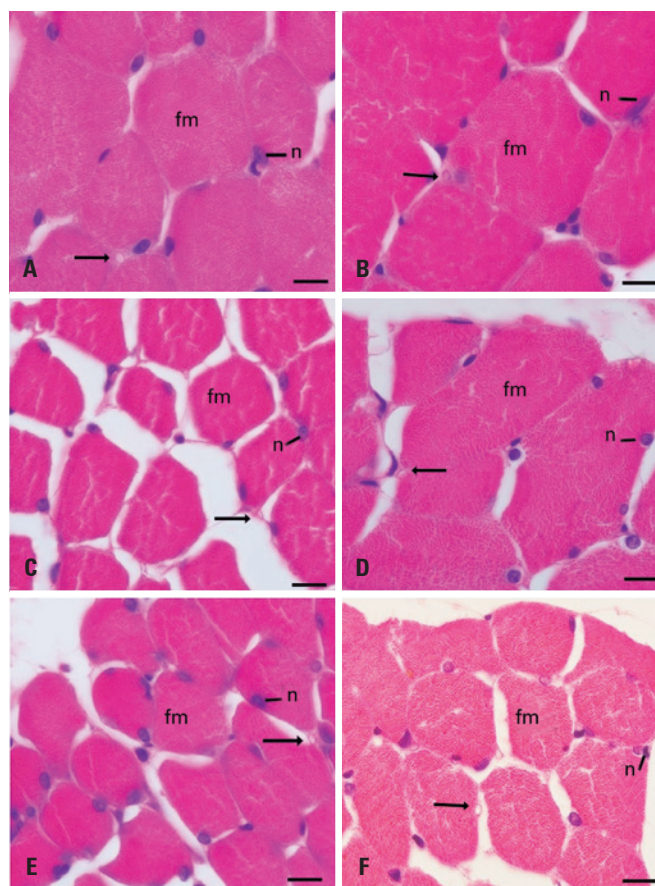
Controle	Pós-operatório	Lesão	Lesão Crioterapia
1.726±400	3°	1.465±188	1.732±245
	8°	1.190±170*	1.469±332
	15°	1.005±163*	1.095±161*

\* Diferença em relação ao grupo controle. Resultados expressos como média e desvio padrão.

O tecido muscular, em C, apresentou padrão fascicular normal, com alta celularidade e ricamente suprido por vasos sanguíneos no conjuntivo do endomísio, perimísio e epimísio. As fibras musculares apresentaram formato poligonal, aproximadamente hexagonal, com células individuais amoldadas umas às outras, núcleos periféricos e capilares sanguíneos íntegros no endomísio (Figura 1). Estas mesmas características morfológicas foram observadas em L3, LCrio3 e LCrio8 (Figura 2A; 2B e 2D). Os grupos L8, L15 e LCrio 15 apresentaram grande quantidade de fibras musculares polimórficas, com aparente diminuição no tamanho, porém houve manutenção do posicionamento periférico dos núcleos celulares (Figura 2C; 2E e 2F).



**Figura 1.** Fotomicrografia do músculo tibial anterior de ratos Wistar do Grupo Controle, corte transversal, coloração hematoxilina e eosina, 1000x. Barra de 10µm. Fibras musculares (fm) com formato poligonal, núcleos periféricos (N) e padrão fascicular normal. Capilar sanguíneo (seta) no conjuntivo do endomísio



**Figura 2.** Fotomicrografias do músculo tibial anterior de ratos Wistar, corte transversal, coloração hematoxilina e eosina, 1.000x. Barra de 10µm. Grupos: (A) Lesão 3, (B) Lesão Crioterapia 3, (C) Lesão 8, (D) Lesão Crioterapia 8, (E) Lesão 15, (F) Lesão Crioterapia 15. Em Lesão 3, Lesão Crioterapia 3 e Lesão Crioterapia 8, é possível visualizar o padrão fascicular normal do tecido, fibras musculares (fm) com formato poligonal, núcleos periféricos e capilares sanguíneos íntegros (setas) no conjuntivo (A, B e D). Enquanto que Lesão 8, Lesão 15 e Lesão Crioterapia 15 apresentaram grande quantidade de fibras musculares polimórficas, com aparente diminuição de seu tamanho, porém mantiveram o posicionamento periférico dos núcleos celulares (n) (C, E e F)

Na análise da hidroxiprolina, que não houve diferença significativa [ $F(3; 15)=1,1$ ;  $p=0,379$ ] entre L e LCrio eutanasiados no 8º e 15º PO (Tabela 5).

**Tabela 5.** Dosagem de hidroxiprolina no músculo sóleo

Pós-operatório	Lesão	Lesão Crioterapia
8º	0,076±0,03µg/µL	0,12±0,07µg/µL
15º	0,11±0,07µg/µL	0,06±0,04µg/µL

## DISCUSSÃO

As lesões nervosas periféricas afetam diretamente o tecido muscular, uma vez que interrompem a comunicação neuromuscular<sup>(18)</sup> e resultam em perda da função do órgão inervado,<sup>(19)</sup> com conseqüente redução da área de secção transversa e do diâmetro das fibras musculares.<sup>(20)</sup> No presente estudo, as alterações na estrutura muscular, como diminuição do peso, diâmetro e área muscular, foram observadas nos grupos lesionados a partir do 8º PO, mas, quando realizada a crioterapia, elas foram observadas apenas no 15º PO, denotando que esta modalidade fisioterapêutica desacelerou a instalação da atrofia muscular.

Poucas horas após a lesão nervosa, ocorre a liberação de mediadores inflamatórios por mastócitos, como a histamina e quimiocinas, que contribuem para o recrutamento de outras células inflamatórias e, conseqüentemente, para o desenvolvimento de hiperalgesia.<sup>(7)</sup> Tal hiperalgesia e a alteração da inervação muscular resultam na diminuição da utilização do membro acometido, gerando atrofia muscular. Desta forma, a crioterapia pode ter resultado em redução da condutibilidade nervosa e, assim, produzido efeitos anti-inflamatórios, com a diminuição da liberação dos fatores álgicos,<sup>(11)</sup> o que pode ter evitado o desuso do membro do animal, prevenindo a hipotrofia muscular.

Os momentos de eutanásia propostos no presente estudo foram no 3º e 15º PO, pois, a partir de 3 dias após a lesão nervosa periférica, já são observadas características de hipotrofia muscular;<sup>(5)</sup> com 2 semanas de lesão, a degeneração walleriana é bem documentada,<sup>(15)</sup> ou seja, a ocorrência de alterações com vistas à redução da hipotrofia poderia ser computada à crioterapia.

Após o cessar da crioterapia, observou-se a instalação de quadro de atrofia muscular, possivelmente decorrente do desuso do membro pélvico e de hiperalgesia, que, para o modelo proposto, atingiram ápice por volta do 14º PO.<sup>(7)</sup> Infere-se assim que, se o protocolo de crioterapia não fosse descontinuado, poderia ter ocorrido a manutenção do trofismo muscular. Suge-

rem-se novas pesquisas com a utilização de protocolos mais extensos de crioterapia.

A crioterapia tem sido relatada como uma forma de preservar a integridade neuronal após lesão, como apresentado por Cruz et al.,<sup>(21)</sup> que utilizaram tal modalidade associada à alcalinização do tecido em animais submetidos à lesão por isquemia prolongada. Esta associação terapêutica foi eficaz na preservação de neurônios do gânglio da raiz dorsal. Já Kawamura et al.,<sup>(22)</sup> também avaliando os efeitos da crioterapia em animais submetidos à isquemia, observaram que a crioterapia, aplicada durante o período de isquemia, foi eficaz na proteção neuronal – fato que não ocorreu quando esta foi utilizada durante a reperfusão.

Além das alterações estruturais, a lesão nervosa periférica resulta em alteração funcional, observada pela diminuição da força, que foi evidenciada no presente estudo. Ela pode ocorrer por alterações na estrutura do músculo e/ou neurais.<sup>(9)</sup> É provável que a diminuição da força, neste estudo, foi decorrente das alterações neurais, pois, após uma lesão nervosa traumática, ocorre alteração na eletromiografia e redução do recrutamento de unidades motoras sadias.<sup>(23)</sup> Ressalta-se que a diminuição da força pode ter sido decorrente da alteração neural, e não por alterações na estrutura muscular, pois ocorreu em todos os grupos no mesmo período, a partir do segundo PO, enquanto que as alterações na estrutura muscular começaram em momentos diferentes, dependendo do uso da crioterapia.

Embora o processo regenerativo esteja previsto, o período de doença implica em perdas funcionais e estruturais, justificadas pela desnervação parcial. Tais prejuízos funcionais são caracterizados, principalmente, pela redução do tônus muscular e, conseqüentemente, de sua capacidade de gerar força.<sup>(24)</sup> Após a lesão nervosa, além das alterações morfológicas descritas, observam-se também modificações na excitabilidade muscular<sup>(25)</sup> e aumento da densidade do tecido conjuntivo,<sup>(24)</sup> embora em modelos experimentais nem sempre tal fato ocorra.<sup>(20)</sup>

A lesão nervosa leva à interrupção da comunicação neuromuscular.<sup>(26,27)</sup> No presente estudo, a ausência do estímulo alterou a morfologia do músculo tibial anterior dos animais do grupo lesão, revelando características típicas de dano muscular causado por desnervação como fibras musculares polimórficas, com aparente diminuição de seu tamanho, o que leva ao comprometimento da funcionalidade do tecido.<sup>(28)</sup>

Devido às alterações apresentadas no 8º PO, foi realizada análise complementar do tecido conjuntivo por meio da quantificação de hidroxiprolina, apenas nos grupos lesados e tratados, do 8º e 15º PO do músculo

sóleo, mas não houve diferença significativa. Apesar de serem músculos com estrutura e função diferentes, ambos recebem inervação do nervo tibial, que é um ramo do nervo isquiático.<sup>(4)</sup>

A hidroxiprolina atua como um marcador biológico do catabolismo/anabolismo do colágeno do aparelho locomotor.<sup>(29)</sup> Existe, na literatura, um consenso no que se refere à identificação da concentração de colágeno, relacionado aos componentes bioquímicos, que, por sua vez, são determinantes na regeneração dos danos pelo aumento da bioatividade molecular.<sup>(30)</sup> Desta forma, observou-se que não houve diferença na deposição de colágeno entre o grupo tratado e aquele apenas lesão, mas ressalta-se que, por dificuldades técnicas, não foi realizada tal avaliação no Grupo C (outra limitação), sugerindo-se que, em futuros estudos, seja realizada tal comparação. Destaca-se ainda, como limitação, a ausência de avaliação de marcadores inflamatórios, tanto sistêmicos quanto locais, no tecido muscular, mediados pelo processo de inflamação neurogênica,<sup>(31,32)</sup> sendo indicado para que futuros estudos possam explorar tais avaliações, bem como possam ser realizadas pesquisas envolvendo seres humanos com lesões nervosas periféricas, de forma aguda e em curto prazo.

## CONCLUSÃO

A lesão nervosa resultou na diminuição da força e trofismo muscular (peso, diâmetro e área). A crioterapia retardou a hipotrofia durante sua aplicação, porém não ocorreu a manutenção deste efeito após o tratamento cessar.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, Curitiba, PR, Brasil, pelo apoio financeiro ao estudo.

### INFORMAÇÃO DOS AUTORES

Karvat J: <https://orcid.org/0000-0002-3714-0002>  
 Kakhata CM: <https://orcid.org/0000-0002-1586-4720>  
 Vieira L: <https://orcid.org/0000-0003-3881-896X>  
 Silva JL: <https://orcid.org/0000-0002-5460-8797>  
 Ribeiro LF: <https://orcid.org/0000-0001-5174-7399>  
 Brancalhão RM: <https://orcid.org/0000-0002-5344-5076>  
 Bertolini GR: <https://orcid.org/0000-0003-0565-2019>

## REFERÊNCIAS

- Martínez de Albornoz P, Delgado PJ, Forriol F, Maffulli N. Non-surgical therapies for peripheral nerve injury. *Br Med Bull*. 2011;100:73-100. Review.
- Craig A. Entrapment neuropathies of the lower extremity. *PM R*. 2013; 5(5 Suppl):S31-40. Review.
- Faroni A, Mobasser SA, Kingham PJ, Reid AJ. Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015; 82-83:160-7. Review.
- Savastano LE, Laurito SR, Fitt MR, Rasmussen JA, Gonzalez Polo V, Patterson SI. Sciatic nerve injury: a simple and subtle model for investigating many aspects of nervous system damage and recovery. *J Neurosci Methods*. 2014;227:166-80.
- Artifon EL, Silva LI, Ribeiro LD, Brancalhão RM, Bertolini GR. Treinamento aeróbico prévio à compressão nervosa: análise da morfometria muscular de ratos. *Rev Bras Med Esporte*. 2013;19(1):66-9.
- Caierão QM, Betini J, Teodori RM, Minamoto VB. O efeito do intervalo da estimulação elétrica no músculo desnervado de rato. *Rev Bras Fisioter*. 2008;12(2):143-8.
- Dubový P. Wallerian degeneration and peripheral nerve conditions for both axonal regeneration and neuropathic pain induction. *Ann Anat*. 2011;193(4): 267-75. Review.
- Menorca RM, Fussell TS, Elfar JC. Nerve physiology: mechanisms of injury and recovery. *Hand Clin*. 2013;29(3):317-30. Review.
- Krueger-Beck E, Scheeren EM, Nogueira Neto GN, Nohama P. Campos elétricos e magnéticos aplicados à regeneração nervosa periférica. *Rev Neurociências*. 2011;19(2):314-28. Revisão.
- Felice TD, Santana LR. Recursos fisioterapêuticos (crioterapia e termoterapia) na espasticidade: revisão de literatura. *Rev Neurocienc*. 2009;17(1):57-62.
- Gutiérrez Espinoza HJ, Lavado Bustamante IP, Méndez Pérez SJ. Revisión sistemática sobre el efecto analgésico de la crioterapia en el manejo del dolor de origen músculo esquelético. *Rev la Soc Española del Dolor*. 2010; 17(5):242-52. Revisión.
- Herrera E, Sandoval MC, Camargo DM, Salvini TF. Effect of walking and resting after three cryotherapy modalities on the recovery of sensory and motor nerve conduction velocity in healthy subjects. *Rev Bras Fisioter*. 2011; 15(3):233-40.
- Abreu EA, Santos JD, Ventura PL. Analgesic effectiveness of the association of transcutaneous electrical nerve stimulation and cryotherapy for chronic low back pain. *Rev Dor*. 2011;12(1):23-8.
- Cerqueira MS, Thiebaut A, Pereira R, Pereira LG. Comparação da temperatura local, após diferentes métodos de resfriamento tecidual. *Rev Bras Ciênc Saúde*. 2013;11(36):45-9.
- Bridge PM, Ball DJ, Mackinnon SE, Nakao Y, Brandt K, Hunter DA, et al. Nerve crush injuries -- a model for axonotmese. *Exp Neurol*. 1994;127(2):284-90.
- Moreira NB, Artifon EL, Meireles A, Silva LI, Rosa CT, Bertolini GR. The cryotherapy influence on pain and edema induced by experimental synovitis. *Fisioter e Pesqui*. 2010;18(1):79-83.
- Bertelli JA, Mira JC. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. *J Neurosci Methods*. 1995;58(1-2):151-5.
- Cavalcante EV, Silva LG, Montenegro EJ, Pontes Filho NT. Efeito da eletroestimulação no músculo desnervado de animais: revisão sistemática. *Fisioter Mov*. 2012;25(3):669-78.
- Sebben AD, Lichtenfels M, Silva JL. Regeneração de nervos periféricos: Terapia celular e fatores neurotróficos. *Rev Bras Ortop*. 2011;46(6):643-9.
- Malanotte JA, Kakhata CM, Karvat J, Brancalhão RM, Ribeiro LF, Bertolini GR. Jumping in aquatic environment after sciatic nerve compression: nociceptive evaluation and morphological characteristics of the soleus muscle of Wistar rats. *einstein (São Paulo)*. 2017;15(1):77-84.
- Cruz O, Kuffler DP. Neuroprotection of adult rat dorsal root ganglion neurons by combined hypothermia and alkalization against prolonged ischemia. *Neuroscience*. 2005;132(1):115-22.
- Kawamura N, Schmelzer JD, Wang Y, Schmeichel AM, Low PA. The therapeutic window of hypothermic neuroprotection in experimental ischemic neuropathy: protection in ischemic phase and potential deterioration in later reperfusion phase. *Exp Neurol*. 2005;195(2):305-12.
- Chung T, Prasad K, Lloyd TE. Peripheral neuropathy: clinical and electrophysiological considerations. *Neuroimaging Clin N Am*. 2014;24(1):49-65. Review.

24. Minamoto VB. Efeitos da desnervação no músculo esquelético: uma revisão. *Fisioter Mov.* 2007;20(3):63-9.
25. Polônio J de T, Mazzer N, Barbieri CH, Mattiello-Sverzut AC. Eletroestimulação seletiva mantém estrutura e função do tibial anterior desnervado de ratos. *Acta Ortopédica Bras.* 2010;18(2):85-9.
26. Possamai F, Siepko CM, André ES. Investigação dos efeitos do exercício terapêutico sobre a regeneração nervosa periférica. *Acta Fisiatr.* 2010;17(4):142-7.
27. Câmara CN, Brito MV, Silveira EL, Silva DS, Simões VR, Ponte RW. Histological analysis of low-intensity laser therapy effects in peripheral nerve regeneration in Wistar rats. *Acta Cir Bras.* 2011;26(1):12-8.
28. Salvini TF, Durigan JL, Peviani SM, Russo TL. Effects of electrical stimulation and stretching on the adaptation of denervated skeletal muscle: implications for physical therapy. *Rev Bras Fisioter.* 2012;16(3):175-83.
29. Mafra OR, Silva E, Giani T, Neves C, Lopes R, Dantas E. Hydroxyproline levels in young adults undergoing muscular stretching and neural mobilization. *J Med Biochem.* 2010;29(1):39-43.
30. Ruehl M, Somasundaram R, Schoenfelder I, Farndale RW, Knight CG, Schmid M, et al. The epithelial mitogen keratinocyte growth factor binds to collagens via the consensus sequence glycine-proline-hydroxyproline. *J Biol Chem.* 2002;277(30):26872-8.
31. Foletto VR, Martins MA, Tonussi CR. The involvement of potassium channels in the peripheral antiedematogenic effect of intrathecally injected morphine in rats. *Anesth Analg.* 2013;116(1):232-8.
32. Stein T, Souza-Silva E, Mascarin L, Eto C, Fin FE, Tonussi CR. Histaminergic pharmacology modulates the analgesic and antiedematogenic effects of spinally injected morphine. *Anesth Analg.* 2016;123(1):238-43.