



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ  
JAMILLE SOARES MOREIRA ALVES

**ANÁLISE DOS PARÂMETROS  
ELETROFISIOLÓGICOS DO NERVO CIÁTICO E  
GÂNGLIO DA RAIZ DORSAL DECORRENTES DE UM  
PERÍODO DE IMOBILIZAÇÃO DA PATA TRASEIRA  
DIREITA DE RATOS DIABÉTICOS**

FORTALEZA-CEARÁ

2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

JAMILLE SOARES MOREIRA ALVES

**ANÁLISE DOS PARÂMETROS  
ELETROFISIOLÓGICOS DO NERVO CIÁTICO E  
GÂNGLIO DA RAIZ DORSAL DECORRENTES DE UM  
PERÍODO DE IMOBILIZAÇÃO DA PATA TRASEIRA  
DIREITA DE RATOS DIABÉTICOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Área de Concentração: Fisiologia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Roseli Barbosa

FORTALEZA-CEARÁ

2010

A474a      Alves, Jamille Soares Moreira.  
Análise dos parâmetros eletrofisiológicos do nervo ciático e gânglio da raiz dorsal decorrentes de um período de imobilização da pata traseira direita de ratos diabéticos / Jamille Soares Moreira Alves. – Fortaleza, 2010.  
105p.;il.  
Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Roseli Barbosa.  
Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas) – Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde.  
1. Imobilização. 2. Diabetes. 3. Nervo Ciático. 4. Gânglio Raiz Dorsal. 5. Potencial de Ação Composto. I. Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde.

CDD: 574.1

JAMILLE SOARES MOREIRA ALVES

**ANÁLISE DOS PARÂMETROS ELETROFISIOLÓGICOS DO NERVO CIÁTICO E  
GÂNGLIO DA RAIZ DORSAL DECORRENTES DE UM PERÍODO DE  
IMOBILIZAÇÃO DA PATA TRASEIRA DIREITA DE RATOS DIABÉTICOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Aprovada em 15/05/2010

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Roseli Barbosa (Orientadora)  
Universidade Estadual do Ceará -UECE

---

Prof. Dr. José Henrique Leal Cardoso  
Universidade Estadual do Ceará - UECE

---

Prof. Dr. José Cipolla Neto  
Universidade de São Paulo - USP

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela força e amparo nos momentos mais difíceis desta caminhada.

A minha mãe Maria, pelo exemplo de determinação, coragem e luta por seus objetivos, pelo apoio e compreensão nos momentos em que estive ausente para dedicar-me a este trabalho.

A minha irmã Jéssica, pelo carinho e companheirismo.

Ao José Carlos, pelo apoio nos momentos de dificuldade, incentivo em todas as minhas vitórias e por me fazer acreditar que tudo daria certo.

A minha orientadora Roseli Barbosa, por me aceitar como orientanda e pelos ensinamentos compartilhados durante o desenvolvimento deste trabalho.

A todos os membros da minha banca, que aceitaram esse convite, para acrescentarem neste trabalho.

A professora Vânia Ceccatto, por ter aberto o seu laboratório para início da pesquisa.

Aos meus colegas Fleury, Patrick, Liza, André, Alex, Elenir, Haward, Flávio, Kerly, Humberto, Emmanuely, Tiago, Matheus pela amizade e contribuição científica.

A todos os membros dos Laboratórios de Eletrofisiologia e de Bioquímica e Cultura de Células que contribuíram, direta ou indiretamente, para este trabalho.

Aos professores do curso de mestrado, por seus ensinamentos e contribuições científicas.

Ao Pedro Militão e Franck pelos ensinamentos de laboratório e biotério.

A Ecila Maria e Maria Lindalva por todo apoio.

A todos que de certa forma, fizeram-se presente e contribuíram para a concretização de mais um passo neste longo trajeto.

**Sem sonhos, as perdas se tornam insuportáveis,  
as pedras do caminho se tornam montanhas,  
os fracassos se transformam em golpes fatais.**

**Mas, se você tiver grandes sonhos...  
seus erros produzirão crescimento,  
seus desafios produzirão oportunidades,  
seus medos produzirão coragem.**

**(Augusto Cury)**

## RESUMO

Diariamente, milhares de pessoas passam por limitações físicas provisórias decorrentes da imobilização de alguma parte de seu corpo, podendo resultar numa alteração de sua função orgânica normal. Entretanto, esta situação poderá agravar-se quando o paciente for diabético, devido a alterações metabólicas e do sistema nervoso motor e sensitivo. Neste contexto, o presente estudo tem com objetivo de caracterizar a interação imobilização/diabetes experimental, avaliando os parâmetros eletrofisiológicos do nervo ciático (NC) e do gânglio da raiz dorsal (GRD), os quais podem contribuir para um melhor entendimento da interação imobilização/diabetes. Utilizou-se 56 *Rattus norvegicus* (Wistar), machos, com oito semanas de idade, com massa corpórea 200-320 g. Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais: Controle (n=15), Imobilizado (n=16), Diabético (n=11) e Diabético Imobilizado (n=14), sendo a *Diabetes Mellitus induzida com estreptozotocina* 65 mg/kg. Para os grupos imobilizados o membro posterior direito foi imobilizado por duas semanas com esparadrapo impermeável. O NC e GRD, ambos direito, foram dissecados e mantidos a temperatura entre 18 a 22°C numa solução nutritiva Locke com pH ajustado para  $7,4 \pm 0,1$ . Para os registros eletrofisiológicos do NC, utilizou-se a técnica extracelular. Obteve-se uma redução da 1ª componente e um aumento da 2ª componente do potencial de ação composto da fibra do nervo ciático para os grupos imobilizados, diabéticos e diabéticos imobilizados comparados com o grupo controle. Sugerindo um comprometimento das fibras motoras decorrentes das alterações da imobilização e da diabetes, e um aumento das fibras sensitivas por alteração da excitabilidade. A redução da velocidade de condução nervosa do NC, possivelmente, deve-se pela degeneração axonal das fibras mielinizadas de menor diâmetro e pelo período adaptativo funcional em reorganizar esta velocidade durante a imobilização. Para os registros eletrofisiológicos do GRD, utilizou-se a técnica do microeletrodo intracelular (Current Clamp). Mostrando que a imobilização juntamente com a diabetes de uma maneira geral resultou em uma tendência a aumento da excitabilidade que possivelmente deva-se a uma diminuição da condutância ao potássio. Verificou-se também um aumento da resistência de membrana e diminuição da  $dV/dT$  ascendente e  $dV/dT$  descendente. Devido a não alteração do potencial de repouso, sugere-se que a alteração da excitabilidade se deva principalmente ao bloqueio da corrente M de potássio.

**Palavras-chave:** Imobilização, Diabetes, Nervo Ciático, Gânglio Raiz Dorsal, Potencial de Ação Composto.



## ABSTRACT

Temporary immobilization of body limbs may result in changes of the normal function of the immobilized body organ. This situation could be hypothetically dangerous in diabetic disease which, by itself, tends to derange the muscular and nervous system function. In this context, this study was developed in order to characterize the effects of immobilization by itself and of interaction between immobilization and diabetes on the neural function of peripheral nerves, evaluating the electrophysiological parameters of the sciatic nerve (SN) and dorsal root ganglion (DRG) cells. Male wistar rats, eight weeks old, weighing 200-320 g, were used. They were divided into four groups: Control (n = 15), Immobilized (n = 16), Diabetic (n = 11) and Diabetic Immobilized (n = 14). For immobilized groups the right hind limb was chosen to immobilization for two weeks with waterproof tape. The experimental diabetes mellitus was induced by means of a single intraperitoneal administration of streptozotocin (65 mg / kg) to two months old rats. The SN and GRD of same body side of the immobilization were dissected and kept at temperature between 18-22 °C in Locke's solution with pH adjusted to  $7,4 \pm 0,1$ . For electrophysiological recordings of SN, was used the extracellular electrophysiological recording. The data showed a reduction of the 1st component and an increase of the 2nd component of the compound action potential of the SN, as compared to controls, in the immobilized group, diabetic and diabetic immobilized group. Also there were a reduction of nerve velocity conduction in immobilized groups, diabetics and diabetics immobilized compared with the control group. In DRG it was used the technique of intracellular microelectrode (Current Clamp) recording. Intracellular recording showed that immobilization, diabetes and immobilization+diabetes generally resulted in a tendency to increase in excitability since a tendency to decrease in threshold current for action potential firing was observed. There was also an increase in membrane resistance and a decrease in upward and downward absolute value of maximum  $dV / dT$ . No significant alteration of resting potential was observed. These data suggest that the this change in excitability was mainly due to alteration in  $K^+$  conductance, possibly predominantly involving a blockade of potassium M current.

**Keywords:** Immobilization, Diabetes, Sciatic Nerve, Dorsal Root Ganglion, Compound Action Potential.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	11
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	12
<b>LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS</b> .....	14
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
1.1 Histórico da <i>Diabetes Mellitus</i> .....	17
1.2 <i>Diabetes Mellitus</i> .....	18
1.3 Neuropatia Diabética.....	22
1.4 Agente Diabetogênico.....	25
1.5 Imobilização.....	26
1.6 Potencial de Ação.....	27
1.7 Potencial de Ação Composto.....	29
1.8 Nervo Ciático e Gânglio da Raiz Dorsal.....	30
<b>2 RELEVÂNCIA</b> .....	34
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	35
3.1 Objetivo geral.....	35
3.2 Objetivos específicos.....	35
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	36
4.1 Delineamento Experimental.....	36
4.1.1 Materiais Biológicos.....	36
4.1.2 Grupos Experimentais.....	36
4.1.3 Indução de Diabetes Experimental.....	37

4.1.4 Técnica de Imobilização.....	38
4.1.5 Sacrifício dos animais.....	39
4.1.6 Solução.....	39
4.1.7 Dissecção do nervo ciático e montagem do sistema extracelular.....	39
4.1.8 Dissecção do gânglio da raiz dorsal e montagem do sistema intracelular.....	42
4.1.9 Laboratórios.....	44
<b>4.2 Análise Eletrofisiológica.....</b>	<b>45</b>
<b>4.3 Tratamento Estatístico.....</b>	<b>46</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>47</b>
<b>5.1 Glicemia.....</b>	<b>47</b>
<b>5.2 Massa corpórea.....</b>	<b>48</b>
<b>5.3 Ingestão alimentar.....</b>	<b>49</b>
<b>5.4 Registro Extracelular.....</b>	<b>51</b>
5.4.1 Caracterização.....	51
5.4.2 Traçados eletrofisiológicos das componentes do potencial de ação composto do nervo ciático direito.....	51
5.4.3 Análise eletrofisiológica da amplitude positiva da 1ª componente do potencial de ação composto do nervo ciático direito.....	53
5.4.4 Análise eletrofisiológica da amplitude positiva da 2ª componente do potencial de ação composto do nervo ciático direito.....	54
5.4.5 Análise eletrofisiológica da amplitude pico-a-pico do potencial de ação composto do nervo ciático direito.....	55
5.4.6 Análise eletrofisiológica da velocidade de condução da 1ª componente do potencial de ação composto do nervo ciático direito.....	56
5.4.7 Análise eletrofisiológica da velocidade de condução da 2ª componente do potencial de ação composto do nervo ciático direito.....	58
5.4.8 Análise eletrofisiológica da reobase e cronaxia do nervo ciático direito.....	59

<b>5.5 Registro Intracelular</b> .....	60
5.5.1 Caracterização e distribuição dos neurônios.....	60
5.5.2 Análise eletrofisiológica da corrente limiar.....	62
5.5.3 Análise eletrofisiológica da resistência de entrada.....	64
5.5.4 Análise eletrofisiológica do potencial de repouso.....	66
5.5.5 Análise eletrofisiológica da amplitude do potencial de ação.....	68
5.5.6 Análise eletrofisiológica da inclinação máxima ascendente ( $dV/dT_{asc}$ )...	70
5.5.7 Análise eletrofisiológica da inclinação máxima descendente ( $dV/dT_{desc}$ )	72
5.5.8 Análise eletrofisiológica da duração do potencial de ação.....	74
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	76
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	84
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	85
<b>APÊNDICES</b> .....	96

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b>	Classificação das fibras nervosas de mamíferos.....	30
<b>Tabela 02</b>	Protocolo experimental de coleta de registros de frequências do potencial de ação composto do nervo ciático.....	41
<b>Tabela 03</b>	Amplitude positiva da 1ª componente do potencial de ação composto, em diferentes frequências de estimulação no nervo ciático direito de ratos (APÊNDICE I).....	97
<b>Tabela 04</b>	Amplitude positiva da 2ª componente do potencial de ação composto, em diferentes frequências de estimulação no nervo ciático direito de ratos (APÊNDICE II).....	98
<b>Tabela 05</b>	Amplitude pico-a-pico do potencial de ação composto, em diferentes frequências de estimulação no nervo ciático direito de ratos (APÊNDICE III).....	99
<b>Tabela 06</b>	Velocidade de condução da 1ª componente do potencial de ação composto, em diferentes frequências de estimulação no nervo ciático direito de ratos (APÊNDICE IV).....	100
<b>Tabela 07</b>	Velocidade de condução da 2ª componente do potencial de ação composto, em diferentes frequências de estimulação no nervo ciático direito de ratos (APÊNDICE V).....	101
<b>Tabela 08</b>	Distribuição dos parâmetros eletrofisiológicos do registro intracelular dos neurônios sem inflexão (APÊNDICE VI).....	102
<b>Tabela 09</b>	Distribuição dos parâmetros eletrofisiológicos do registro intracelular dos neurônios com inflexão (APÊNDICE VII).....	103

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b>	Fotoneuromiografia do GRD.....	32
<b>Figura 02</b>	Esquema ilustrativo do “setup” para registro extracelular do potencial de ação composto.....	42
<b>Figura 03</b>	Esquema ilustrativo do “setup” para registro intracelular do potencial de ação dos neurônios do gânglio da raiz dorsal.....	44
<b>Figura 04</b>	Evolução da média da glicemia nos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI), durante seis semanas após indução da STZ.....	48
<b>Figura 05</b>	Comparação da média da massa corpórea dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI), durante a quarta e sexta semana após indução da STZ.....	49
<b>Figura 06</b>	Evolução da ingestão de ração nos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI), durante seis semanas após indução da STZ.....	50
<b>Figura 07</b>	Traçados eletrofisiológicos representativos do potencial de ação composto (PAC) do nervo ciático direito dos grupos controle (A), imobilizado.(B), diabético (C), diabético imobilizado (D).....	52
<b>Figura 08</b>	Amplitude positiva da 1ª componente do PAC, em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	53
<b>Figura 09</b>	Amplitude positiva da 2ª componente do PAC, em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	54
<b>Figura 10</b>	Amplitude pico-a-pico do PAC, em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	56
<b>Figura 11</b>	Velocidade de condução da 1ª componente do PAC, em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	57

<b>Figura 12</b>	Velocidade de condução da 2ª componente do PAC, em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	58
<b>Figura 13</b>	Reobase em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	59
<b>Figura 14</b>	Cronaxia em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	60
<b>Figura 15</b>	Traçados representativos do potencial de ação nos neurônios sem inflexão ( $N_{si}$ )(A) e com inflexão ( $N_{ci}$ )(B).....	61
<b>Figura 16</b>	Corrente limiar avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	63
<b>Figura 17</b>	Resistência de entrada avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	65
<b>Figura 18</b>	Potencial de repouso avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	67
<b>Figura 19</b>	Amplitude do potencial de ação avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	69
<b>Figura 20</b>	Inclinação máxima ascendente avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	71
<b>Figura 21</b>	Inclinação máxima descendente avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	73
<b>Figura 22</b>	Duração do potencial de ação avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI).....	75

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A/D	Análogo Digital
ANOVA	Análise de variância
C	Controle
CaCl <sub>2</sub>	Cloreto de cálcio
C <sub>ci</sub>	Neurônios de ratos controle com inflexão na fase de repolarização do potencial de ação
CEUA	Comitê de Ética para o uso de Animais
CFMV	Conselho Federal de Medicina Veterinária
cm	Centímetro
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
C <sub>si</sub>	Neurônios de ratos controle sem inflexão na fase de repolarização do potencial de ação
D	Diabético
D <sub>ci</sub>	Neurônios de ratos diabéticos com inflexão na fase de repolarização do potencial de ação
DI	Diabético imobilizado
DI <sub>ci</sub>	Neurônios de ratos diabéticos imobilizados com inflexão na fase de repolarização do potencial de ação
DI <sub>si</sub>	Neurônios de ratos diabéticos imobilizados sem inflexão na fase de repolarização do potencial de ação
DM	Diabetes mellitus
D <sub>si</sub>	Neurônios de ratos diabéticos sem inflexão na fase de repolarização do potencial de ação
dV/dT <sub>asc</sub>	Inclinação máxima do ramo ascendente do potencial de ação
dV/dT <sub>desc</sub>	Inclinação máxima do ramo descendente do potencial de ação
g	Gramas



GRD	Gânglio da Raiz Dorsal
HCl	Ácido Clorídrico
Hz	Hertz
I	Imobilizado
$I_{ci}$	Neurônios de ratos imobilizados com inflexão na fase de repolarização do potencial de ação
$I_M$	Corrente de potássio M
ISCB	Instituto Superior de Ciências Biomédicas
$I_{si}$	Neurônios de ratos imobilizados sem inflexão na fase de repolarização do potencial de ação
$K^+$	Íon potássio
KCl	Cloreto de potássio
M	Molar
m/s	Metro por segundo
mg/dl	Miligrama por decilitro
mg/kg	Miligrama por quilograma
$MgCl_2$	Cloreto de magnésio
min	Minutos
ml	Mililitro
ml/min	Mililitro por minuto
mm	Milimetro
ms	Milissegundos
mV	Milivolt
$M\Omega$	Megaohm
N	Número de experimentos
nA	Nanoampere
$Na^+$	Íon sódio
NaCl	Cloreto de sódio

NaOH	Hidróxido de sódio
NC	Nervo Ciático
N <sub>ci</sub>	Neurônios com inflexão na fase de repolarização do potencial de ação
NDs	Neuropatias diabéticas
N <sub>si</sub>	Neurônios sem inflexão na fase de repolarização do potencial de ação
PA	Potencial de ação
PAC	Potencial de ação composto
PAs	Potenciais de ação
pH	Potencial hidrogeniônico
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
STZ	Estreptozotocina
TRIS	Tris-Hidroximetil-Aminometano
UECE	Universidade Estadual do Ceará
UFC	Universidade Federal do Ceará
V/s	Volt por segundo
V <sub>m</sub>	Potencial de membrana
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
μm	Micrômetro
μs	Microsegundo

# 1 INTRODUÇÃO

---

## 1.1 Histórico da *Diabetes Mellitus*

Doença conhecida antes da era cristã. No papiro de Ebers descoberto no Egito, correspondente ao século XV antes de Cristo, já se descreviam sintomas que pareciam corresponder à diabetes, porém sem nome específico (ARDUINO, 1980; LAUN, 1993).

No SÉCULO II da ERA CRISTÃ, Areteu da Capadócia deu a esta afecção o nome de diabetes, que em grego significa sifão, referindo-se ao seu sintoma mais chamativo que é a eliminação exagerada de água pelo rim, expressando que a água entrava e saía do organismo do portador sem fixar-se nele (polidipsia e poliúria, características da doença e por ele avaliadas por esta ordem). Ainda no século II, Galeno, contemporâneo de Areteu da Capadócia, também se referiu à diabetes, atribuindo-a à incapacidade dos rins em reter água (ARDUINO, 1980; LAUN, 1993).

Em 1670, Thomas Willis fez uma descrição da diabetes, magistral para a época, ficando desde então reconhecida por sua sintomatologia como entidade clínica. Foi ele quem, referindo-se ao sabor doce da urina, lhe deu o nome de *diabetes mellitus* (sabor de mel) (RUBIN; PEYROT, 2002).

Na metade do século XIX, o grande clínico francês Bouchardat assinalou a importância da obesidade e da vida sedentária na origem da diabetes e traçou as normas para o tratamento dietético, baseando-a na restrição dos glicídios e no baixo valor calórico da dieta. Os trabalhos clínicos e anatômico-patológicos adquiriram grande importância em fins do século XIX, nas mãos de Frerichs, Cantani, Naunyn, Lanceraux (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

Em 1921, dois jovens canadenses, Banting e Chalés Best, conseguiram isolar a insulina e demonstrar seu efeito hipoglicêmico. Esta descoberta significou uma das maiores conquistas médicas do século XX, porque transformou as expectativas e a vida dos diabéticos e ampliou horizontes no campo experimental e biológico para o estudo da diabetes e do metabolismo dos glicídios. Posteriormente,

o transplante de pâncreas passou a ser considerado uma alternativa viável à insulina para o tratamento da *diabetes mellitus* do tipo 1 (SKYLER; RAPITS, 1981; KING, 2003).

A importância de novas alternativas para o tratamento da diabetes mellitus está se tornando maior pela difícil terapêutica e alta mortalidade que continuam ocorrendo em pacientes com a forma insulino-dependente, tipo 1. A administração de insulina, controlando os níveis sanguíneos de açúcar, embora permita ao paciente diabético sobreviver, não tem prevenido o desenvolvimento de complicações microvasculares, em quase metade desses pacientes, resultando em doença renal, amaurose, cardiopatia, hipertensão, embolia e gangrena (WAINSBURG; MAGALHÃES; GONÇALVES, 1987).

Em 1966, foi realizado o primeiro transplante de pâncreas com essa finalidade no Canadá, na universidade de Manitoba (SKYLER; RAPITS, 1981).

Em 2004, realizado primeiro transplante de ilhotas de Langerhans para curar diabetes do tipo 1, feito pela equipe do Dr. F. G. Eliaschewitz no Hospital Albert Einstein de São Paulo. Uma linha mais recente de pesquisa na Medicina que busca fazer o transplante apenas das ilhotas de Langerhans. O procedimento é simples, tem poucas complicações e exige uma hospitalização de curta duração. O grande problema é a obtenção das células, que são originárias de cadáveres. São necessários em média três doadores para se conseguir um número razoável de células (KING, 2003).

## **1.2 *Diabetes Mellitus***

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (2002), em seu Consenso, a Diabetes Mellitus (DM) pode ser definida como uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina de exercer adequadamente seus efeitos. Caracterizando-se por uma hiperglicemia

crônica, frequentemente acompanhada de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial.

Segundo World Health Organization (1999), a *Diabetes Mellitus* inclui um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia, resultante de defeitos na secreção de insulina e/ou em sua ação. A hiperglicemia se manifesta por sintomas como poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia e visão turva ou por complicações agudas que podem levar ao risco de vida: a cetoacidose diabética e a síndrome hiperosmolar hiperglicêmica não cetótica. A hiperglicemia crônica está associada a dano, disfunção e falência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos.

Em longo prazo, as conseqüências da DM decorrem de alterações micro e macrovasculares que levam a disfunção, dano ou falência de vários órgãos. Dentre as complicações crônicas pode-se incluir a nefropatia, com possível evolução para insuficiência renal, a retinopatia, com a possibilidade de cegueira e/ou neuropatia, com risco de úlceras nos pés, amputações, artropatia de Charcot e manifestações de disfunções autonômicas, incluindo disfunção sexual. Portadores de diabetes apresentam maior propensão à doença vascular aterosclerótica, como doença coronariana, doença arterial periférica e doença vascular cerebral (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2002).

De acordo com estudos sobre prevalência em diabetes (WILD *et al.*, 2004), em 1985 estimava-se a existência de 30 milhões de adultos com DM no mundo; crescendo para 135 milhões em 1995, passando a atingir 173 milhões em 2002, projetando-se a 300 milhões no ano de 2030, sendo que cerca de dois terços desses indivíduos com DM vivem nos países em desenvolvimento, onde a epidemia tem maior intensidade, com crescente proporção de pessoas afetadas em grupos etários mais jovens.

Sartorelli e Franco (2003) demonstraram que um estudo multicêntrico de base populacional, conduzido em 1988 em nove capitais de estados brasileiros, demonstrou a prevalência da diabetes e a tolerância à glicose diminuída em população urbana, entre 30 e 69 anos de idade, é de 7,6 e 7,8% respectivamente. Os casos de diabetes previamente diagnosticados corresponderam a 54% dos casos identificados, ou seja, 46% dos casos existentes desconheciam o diagnóstico, que provavelmente seria feito por ocasião de manifestação de alguma complicação

crônica da diabetes. No Brasil, as cidades das regiões Sul e Sudeste, consideradas de maior desenvolvimento econômico do país, apresentam maiores prevalências de DM e de tolerância à glicose diminuída. Os principais fatores associados à maior prevalência da diabetes no Brasil foram a obesidade, o envelhecimento populacional e a história familiar da diabetes.

No contexto de saúde pública, os dados abaixo caracterizam a importância médico-econômico-social da diabetes (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2002):

- Diabetes mellitus como o diagnóstico primário de internação hospitalar aparece como a sexta causa mais freqüente e contribui de forma significativa (30 a 50%), para outras causas como cardiopatia isquêmica, insuficiência cardíaca, colecistopatias, doença vascular cerebral e hipertensão arterial;
- Pacientes diabéticos representam cerca de 30% dos pacientes que se internam em unidades coronarianas intensivas com dor precordial;
- Diabetes é a principal causa de amputações de membros inferiores;
- É, também, a principal causa de cegueira adquirida;
- Cerca de 26% dos pacientes que ingressam em programas de diálise são diabéticos.

As principais desordens são a diabetes tipo I ou insulino-dependente (uma condição na qual as células beta do pâncreas não produzem ou produzem muito pouco insulina) e a diabetes tipo II ou não insulino-dependente (uma condição na qual existe uma deficiência das células beta ou uma resistência à insulina) (DYCK; GIANNINI, 1996).

O diagnóstico correto e precoce da *diabetes mellitus* e das alterações da tolerância à glicose é extremamente importante porque permite que sejam adotadas medidas terapêuticas que podem evitar o aparecimento de diabetes nos indivíduos com tolerância diminuída e retardar o aparecimento das complicações crônicas nos pacientes diagnosticados, como a neuropatia diabética.

Em vários tecidos não insulino-sensíveis, a glicose é metabolizada pela via polióis em sorbitol e frutose, respectivamente pela ação das enzimas aldose reductase e desidrogenase do sorbitol. Na diabetes mellitus, como resultado da

hiperglicemia, a via dos polióis é ativada tanto em neurônios como em células endoteliais, o que leva ao acúmulo de sorbitol intracelular com diminuição compensatória de mioinositol. A queda dos níveis de mioinositol associa-se à redução na síntese e turnover de fosfoinositol. A depleção de mioinositol em neurônios de ratos diabéticos associa-se à menor atividade da Na-K-ATPase e diminuição da velocidade de condução nervosa, e suplementação de mioinositol na dieta ou o uso de inibidores da aldose redutase revertem estas alterações. Redução no fluxo sanguíneo nervoso, aumento de resistência vascular e menor tensão de oxigênio em nervos ciáticos de ratos diabéticos também têm sido descritos. (GREENE *et al.*, 1999). Biopsias de nervos surais de humanos demonstraram alterações vasculares como espessamento de membrana basal, edema e proliferação de células endoteliais, agregação plaquetária e oclusões de vasos (DYCK *et al.*, 1986). Esses dados sugerem que, pelo menos em parte, a perda de fibras mielinizadas características da *diabetes mellitus* deve-se a dano secundário à isquemia e hipóxia (DYCK *et al.*, 1986; STEVENS; FELDMAN; GREENE, 1995; BROWNLEE, 2001).

Uma unificação das hipóteses metabólica e vascular é sugerida. Vários autores acreditam que precocemente, no início da *diabetes mellitus*, defeitos metabólicos levam à ativação da via aldose redutase e sorbitol desidrogenase. O óxido nítrico é um radical altamente reativo, mediador de vasodilatação e neurotransmissor inibitório, sintetizado pela sintetase do óxido nítrico, que é dependente do fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADPH). O fluxo de glicose pela via dos polióis diminui a disponibilidade de NADPH, o que limita reações dependentes da glutatona e também a atividade da síntese do óxido nítrico levando a sua depleção. A depleção do óxido nítrico leva a alterações de fluxo sanguíneo do nervo, o que, por sua vez, diminui a capacidade do nervo em tamponar radicais livres, além de esgotar as reservas energéticas disponíveis. Essa falha energética promoveria o início da neuropatia diabética. O uso de inibidores da aldose-redutase, bloqueando a formação de sorbitol e portanto, impedindo a depleção de NADPH, preveniu o aparecimento de neuropatia diabética em ratos com diabetes por estreptozotocina. A associação destes com o inibidor da sintetase do óxido nítrico (L-NAME) permitiu novamente que os animais desenvolvessem neuropatia diabética, dados que reforçam as teorias de que o fluxo contínuo de glicose através

da via dos polióis e aumento do estresse oxidativo (FELDMAN, 2003) limitam a síntese de óxido nítrico por causar depleção de NADPH, e a diminuição de óxido nítrico resulta em vasoconstrição, isquemia e diminuição da velocidade de condução nervosa (STEVENS; FELDMAN; GREENE, 1995).

### 1.3 Neuropatia Diabética

A frequência pela qual o sistema nervoso é acometido pelo DM foi, sem dúvida, o responsável pela idéia inicial de que o DM era causado por uma doença do sistema nervoso. Apenas em 1864, foi reconhecido inicialmente que o contrário é verdadeiro (THOMAS; ELIASSON, 1984). A partir de então, as características clínicas marcantes da neuropatia diabética foram precisamente delineadas, com descrições de perda dos reflexos tendinosos nos membros inferiores, semelhanças clínicas com alguns casos de *tabes dorsalis*, a ocorrência de dor espontânea, particularmente noturna, e parestesias. Manifestações motoras nos membros inferiores foram também documentadas, bem como o envolvimento de nervos cranianos. A natureza altamente variável da neuropatia na diabetes foi então apreciada em 1893 (THOMAS; ELIASSON, 1984) e surgiram classificações para padronizar todos os eventos nessa direção.

As Neuropatias Diabéticas (NDs) estão entre as complicações crônicas mais comuns da DM, afetando mais de 50% dos pacientes. As NDs ocorrem como consequência de todos os tipos de DM. As alterações neuropáticas afetam o sistema nervoso somático e o autonômico. Como resultado, as complicações clínicas das NDs são extremamente variadas, determinando importante perda da qualidade de vida dos pacientes (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION AND AMERICAN ACADEMY OF NEUROLOGY, 1992).

As NDs têm sido definidas conforme a conferência de consenso de San Antonio: "A neuropatia diabética descreve uma desordem demonstrável, tanto clínica como subclínicamente, que ocorre na presença de *diabetes mellitus* sem outras



causas para neuropatia periférica. As alterações neuropáticas da diabetes incluem manifestações no sistema nervoso somático e /ou no autonômico”. As neuropatias diabéticas não podem ser diagnosticadas com base num sintoma, sinal ou teste único. Um mínimo de duas anormalidades, entre sinais, sintomas, anormalidades de condução nervosa, testes quantitativos de sensibilidade ou testes autonômicos quantitativos, são necessárias (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 1988).

O calibre do nervo tem uma significância funcional, pois ele é o principal determinante da velocidade de condução nas fibras nervosas mielinizadas (HOFFMAN *et al.*, 1987).

Segundo Thomas e Eliasson (1984) alterações no sistema nervoso periférico em animais geneticamente diabéticos ou com diabetes induzida experimentalmente têm sido amplamente investigadas. Por outro lado, espera-se que as alterações encontradas em modelos animais possam reproduzir algumas das alterações da neuropatia diabética humana precoce, levando a um melhor entendimento sobre o mecanismo da doença (SHARMA; THOMAS, 1974).

Existem, pelo menos, quatro razões para se estudar as alterações patológicas na neuropatia diabética (DYCK; GIANNINI, 1996):

- 1) para caracterizar as alterações patológicas intersticiais do nervo, que não podem ser inferidas por estudos clínicos ou eletrofisiológicos;
- 2) para inferir mecanismos ou causas;
- 3) para correlacionar anormalidades morfométricas com mudanças na velocidade de condução nervosa, testes sensoriais quantitativos e testes quantitativos de anormalidades autonômicas;
- 4) para correlacionar achados neuropatológicos com alterações metabólicas.

Na literatura sobre neuropatia diabética, uma distinção entre neuropatia “periférica” e “autonômica” tem sido feita, sem o reconhecimento de que a palavra “periférica” se refere ao sistema nervoso periférico e não à distribuição da neuropatia. O sistema nervoso periférico apresenta ambos os componentes: somático e autonômico. Embora o sistema nervoso autonômico seja tradicionalmente referido como um sistema eferente, para inervação do músculo liso visceral, é interessante incluir as fibras aferentes viscerais que o acompanham.

Portanto, a neuropatia autonômica diabética engloba múltiplos distúrbios do sistema motor, sensorial e das funções reflexas, afetando particularmente os sistemas cardiovascular, gastrointestinal e urogenital. Em adição, existe ainda o prejuízo dos mecanismos termoregulatórios sudomotor e vasomotor, da função pupilar reflexa e dos mecanismos do controle endócrino. Não é de interesse a classificação ou separação das características clínicas em “simpáticas” e/ou “parassimpáticas” uma vez que ambos os sistemas são envolvidos simultaneamente, apresentando lesões morfológicas semelhantes (SATO *et al.*, 2006).

Embora estudos morfológicos tenham sido realizados em vários nervos periféricos de ratos diabéticos induzidos com STZ, tais como sural (SHARMA; THOMAS, 1974; SHARMA *et al.*, 1985; SUGIMURA *et al.*, 1980) fibular (JAKOBSEN, 1979) e tibial (SHARMA; THOMAS, 1974; BROWN *et al.*, 1980; SHARMA; BAJADA; THOMAS *et al.*, 1981), informações sobre alterações patológicas em nervos autonômicos são limitadas. A neuropatia diabética acomete tanto o sistema nervoso somático (principalmente nervos sensitivos) como o sistema nervoso autonômico tanto em humanos como em modelos experimentais. Do ponto de vista de morbi-mortalidade da diabete, a neuropatia autonômica tem um papel muito importante, principalmente quando compromete o controle autonômico cardiovascular. Por algum tempo acreditou-se que a parte parassimpática do sistema nervoso autonômico estava mais afetada pela diabete (MCDOWELL *et al.*, 1994; TOMILSON *et al.*, 1992), não só em pacientes (ECKBERG *et al.*, 1986; LISHNER *et al.*, 1987), mas também em modelos experimentais (CHANG; LUND, 1986; MAEDA *et al.*, 1995a,b). Entretanto, há evidências consistentes que a parte simpática também é bastante afetada na neuropatia autonômica diabética (KAUL, 1999; STUMPEL *et al.*, 1996).

## 1.4 Agente Diabetogênico

Vários agentes químicos são citotóxicos para as células beta do pâncreas, porém a estreptozotocina (STZ) tem sido sistematicamente investigada e amplamente empregada para induzir diabetes nos animais.

A estreptozotocina (STZ), isolada do *Streptomyces achromogene*, efetiva contra organismos gram-positivos e gram-negativos e ação anti-tumoral descrita por Evans *et al.*, 1965 tem sido de grande interesse devido à mimetização da lesão pancreática decorrente da destruição das células beta, que ocorre na *diabetes mellitus* insulino-dependente dos humanos, e por causar um diabetes relativamente permanente, útil para estudos eletrofisiológicos e morfológicos longitudinais de nervos periféricos na diabetes experimental.

Os mecanismos de ação da STZ não são ainda completamente compreendidos (MORDES; ROSSINI, 1981; MALAISSE, 1982), porém algumas características gerais podem ser aferidas. O local de sua ação diabetogênica é a célula beta do pâncreas, sendo a ligação dessas substâncias muito rápida. A STZ pode ser seletivamente direcionada para as células produtoras de insulina devido à especial capacidade dessas células em reconhecer e metabolizar glicose rapidamente. Estruturalmente, a STZ é uma glicose com uma cadeia lateral altamente reativa. Evidências de danos pela STZ aparecem entre 30 minutos e 2 horas (SHARMA; THOMAS, 1999).

As alterações metabólicas que seguem a administração da STZ foram comparadas por Mansford e Opie (1968) que relataram que os animais injetados com STZ, apesar de apresentarem pronunciada hiperglicemia, apresentam níveis normais de corpos cetônicos sanguíneos, ácidos graxos livres plasmáticos e níveis normais de intermediários glicolíticos, glicogênio e citrato no coração perfundido. Junod *et al.* (1969) estenderam e confirmaram essas observações e também demonstraram que a cetonúria só aparece após a injeção de uma alta dose de STZ.

A dose diabetogênica efetiva da STZ é normalmente 4 ou 5 vezes menor que a dose letal. Entretanto, as doses efetivas ou letais da STZ variam consideravelmente entre as espécies e são altamente sensíveis à idade, sexo e

estado nutricional dos animais (GOLD *et al.*, 1981). Uma injeção única, intraperitoneal ou intravenosa de STZ, preferencialmente com os animais em jejum, induz diabetes experimental em ratos que pode ser mantido sem tratamento com insulina por um ou dois anos (SHARMA; THOMAS, 1974; POWEL; KNOX; LEE, 1977; ZEMP; BESTETTI; ROSSI, 1981). Em geral, STZ é mais eficaz e mais específica para as células beta do pâncreas que o aloxane (RAKIETEN; RAKIETEN; NADKARNI, 1963).

## 1.5 Imobilização

Segundo Booth (1982), Falempin e Mounier (1998), Machida e Booth (2004), a perda de massa muscular associada à perda de força é uma das primeiras e mais óbvias modificações que ocorrem como resultado da imobilização. Isso se correlacionaria com a redução no tamanho do músculo e uma queda na tensão por unidade de área transversal do músculo. Essa perda é mais acentuada nas primeiras setenta e duas horas, com índices de 14 a 17%. Tendo decorrido aproximadamente uma semana, o ritmo de perda parece diminuir.

A velocidade de síntese protéica começa a declinar seis horas após o início da imobilização. A consequência direta é o aumento da fadigabilidade devido à menor capacidade oxidativa. Um dos possíveis mecanismos de disparo das mudanças subseqüentes à imobilização é a modificação do grau de atividade neural sobre o tecido muscular (FALEMPIN; MOUNIER, 1998).

Atualmente, ao induzir atrofia muscular que se aproxime das condições de restrição ao leito e hipoatividade, dois modelos são considerados mais apropriados: a suspensão e a imobilização. Em estudo comparativo entre os dois modelos, ambos produzem reduções significativas na massa do músculo sóleo, duração da contração isométrica e pico da tensão tetânica. Segundo Booth e Kelso (1973), Itai, Kariya, Hoshino (2004) as técnicas de inervação, transecção de raiz neural ou medular, tenotomia, fixação das articulações com pinos e castração

utilizadas para mimetizar a hipoatividade apresentam particularidades que podem alterar os índices de atrofia quando comparados aos dois previamente citados. Nesse mesmo estudo, é relatado que a utilização de imobilização gessada permite a integridade dos nervos, músculos e tendões, não é invasiva e não permite que ocorra a descarga sobre os membros imobilizados, tornando possível estudar os efeitos da diminuição do trabalho muscular em se opor à gravidade, além de ser um procedimento que se aproxima das condições deparadas na prática clínica e permitir mais facilmente que se estudem os acontecimentos decorrentes do retorno às atividades.

De acordo com Lundborg (2000), a lesão do SNP pode ser resultante de isquemia de vasos que irrigam o nervo, ou ainda secção, tração e compressão nervosa. A compressão nervosa é dada por meio de uma pressão exógena que causa um decréscimo do fluxo sanguíneo e deformação estrutural das fibras nervosas. Afinamento da bainha de mielina e desmielinização focal são as conseqüências observadas, levando a um bloqueio da condução nervosa e, como sintomas predominantes, conseqüente perda da potência muscular e sensibilidade ao toque. As fibras mielinizadas de grosso calibre são mais susceptíveis que as de fino calibre ou não mielinizadas. Relata-se ainda que longos períodos de compressão intensa possam gerar interrupção da membrana axonal, além de bainhas endoneurais e perineurais.

## **1.6 Potencial de Ação**

O potencial de ação é uma alteração rápida no potencial da membrana seguida por um retorno ao potencial de repouso da membrana. O tamanho e a forma dos potenciais de ação diferem de um tecido excitável para outro (BERNE *et al.*, 2004). Este fato é ocasionado por diferenças de concentração de íons entre as faces interna e externa da membrana que se mantêm em equilíbrio. Uma vez alterado esse equilíbrio, seja qual for o estímulo e desde que se atinja o limiar de excitabilidade da membrana, pode-se produzir uma despolarização com caráter

regenerativo, do tipo tudo ou nada, a qual será um potencial de ação que se propaga por toda a fibra nervosa (BEST; TAYLOR, 1990).

O potencial de ação é uma alteração abrupta do potencial de repouso da membrana de um estado de eletronegatividade da face interna da membrana citoplasmática, para um estado de eletropositividade, uma vez excitada a fibra nervosa. Devemos considerar a origem deste fenômeno a partir da permeabilidade seletiva da membrana a alguns íons. Em repouso, a membrana é mais permeável aos íons  $K^+$ , onde os valores de potencial de membrana ( $V_m$ ) se aproximam do valor do potencial de equilíbrio eletroquímico deste íon. Uma vez excitada, essa permeabilidade seletiva pode alterar-se, observando-se uma inversão da polaridade da membrana e aumento de sua permeabilidade aos íons  $Na^+$ . Este último estado faz com que os valores de potencial de membrana aproximem-se do valor do potencial de equilíbrio eletroquímico do  $Na^+$  (HODGKIN; HUXLEY, 1939; HODGKIN; KATZ, 1949).

No entanto, a condutância aumentada aos íons  $Na^+$  logo cessa e a permeabilidade aos íons  $K^+$  é rapidamente aumentada, fazendo com que o potencial de membrana retorne ao seu estado original de polaridade através dessa alteração de canais de  $K^+$  e, principalmente, através dos processos chamados inativação do canal de  $Na^+$  e regulação da bomba de  $Na^+$  e  $K^+$ . O potencial de ação nervoso é um fenômeno muito rápido, da ordem de apenas alguns milissegundos (ms). A amplitude do potencial de ação demonstrou ser amplamente dependente da concentração externa de  $Na^+$  e insensível à diminuição do  $K^+$  extracelular para valores inferiores aos fisiológicos (BEST; TAYLOR, 1990).

Durante o desenvolvimento do potencial de ação, há inicialmente um influxo de  $Na^+$  e, posteriormente um efluxo de  $K^+$  na fibra, processo esse em que o fluxo de ambos os íons obedece a um gradiente eletroquímico; favorecendo inicialmente a despolarização e, posteriormente, a repolarização da membrana, respectivamente. (HODGKIN; HUXLEY; KATZ *et al.*, 1952; HODGKIN; HUXLEY, 1952a, b; HODGKIN; HUXLEY, 1964).

## 1.7 Potencial de Ação Composto

O potencial de ação é composto (PAC) quando é registrado de forma extracelular, em diferentes pontos, num determinado tronco nervoso constituído por várias fibras nervosas que conduzem a resposta ao estímulo aplicado com diferentes amplitudes e velocidades. O pico registrado é composto de picos individuais de muitos axônios, variando no tamanho com a amplitude do estímulo, pois ao aumentar o estímulo mais e mais axônios contribuem para o total do registro (JUNGE, 1976; BEST; TAYLOR, 1990).

Erlanger e Gasser apud: Best e Taylor, 1990 demonstraram que o registro do potencial de ação composto revelava a presença de até três componentes  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , que refletiam a atividade de diferentes tipos de fibras nervosas. Essas fibras foram denominadas como grupos A, B e C (Tabela 1), levando-se em consideração aspectos relacionados a sua velocidade de condução, diâmetro da fibra e amplitude de resposta. Foi demonstrado que as fibras de diâmetros maiores possuem uma velocidade de condução maior, maior amplitude de resposta elétrica, menor limiar de excitação e menor duração da resposta e do período refratário (HURSH, 1939; GASSER, 1943).

As fibras do tipo A são todas mielinizadas, apresentam diâmetros de 1 a 20  $\mu\text{m}$  e velocidades de condução de 5 m/s ou menos, para as fibras menores, e até 120 m/s, para as maiores. Essas fibras possuem maior amplitude de resposta, menor limiar de excitação, menor duração de resposta e período refratário igualmente menor. Este grupo de fibras é o que quantitativamente mais contribui para o PAC. Podem ocorrer em nervos somáticos como o ciático e o safeno. As fibras do tipo B são mielinizadas, apresentam diâmetros da ordem de 1 a 3  $\mu\text{m}$  e velocidade de condução de 3 a 15 m/s. Ocorrem apenas em nervos autonômicos pré-ganglionares. As fibras do tipo C não são mielinizadas, apresentam diâmetros inferiores a 1  $\mu\text{m}$  e apresentam velocidades de condução em torno de 2 m/s, sendo encontradas principalmente em nervos cutâneos e viscerais (BEST; TAYLOR, 1990).

**Tabela 01.** Classificação das fibras nervosas de mamíferos. A classificação do grupo I a IV aplica-se somente a fibras sensoriais. Fonte: AIDLEY, 1998.

Tipo	Grupo	Diâmetro ( $\mu\text{m}$ )	Velocidade de Condução (m/s)	Função
A $\alpha$		15-20	50-120	Fibras motoras para músculo esquelético
A $\alpha$	Ia	15-20	70-120	Terminações primárias no fuso muscular
A $\alpha$	Ib	12-20	70-120	Aferentes no órgão tendinoso de Golgi
A $\beta$	II	5-10	30-70	Terminações secundárias nos fusos musculares, tato, pressão
A $\gamma$		3-6	15-30	Inervação motora dos fusos musculares
A $\delta$	III	2-5	5-25	Receptores de pressão e dor
B		3	3-15	Pré-ganglionares autonômicas
C		0.5-1	0.5-2	Pós-ganglionares autonômicas (não-mielinizadas)
C	IV	0.5-1	0.5-2	Dor (não-mielinizadas)

### 1.8 Nervo Ciático e Gânglio da Raiz Dorsal

O nervo ciático origina-se dos segmentos espinhais L4 a L6, innervando toda a região dos membros inferiores e dividido abaixo da fossa poplíteia em três ramos: nervos tibial, peroneal e sural, sendo cada um destes dotado de diferentes proporções motoras, sensitivas e autonômicas. Traumatismos em cada um destes braços do ciático levam à paralisia e anestesia de regiões particulares (RODRIGUES *et al.*, 2004; VALERO-CABRÉ *et al.*, 2004; VALERO-CABRÉ *et al.*, 2002).

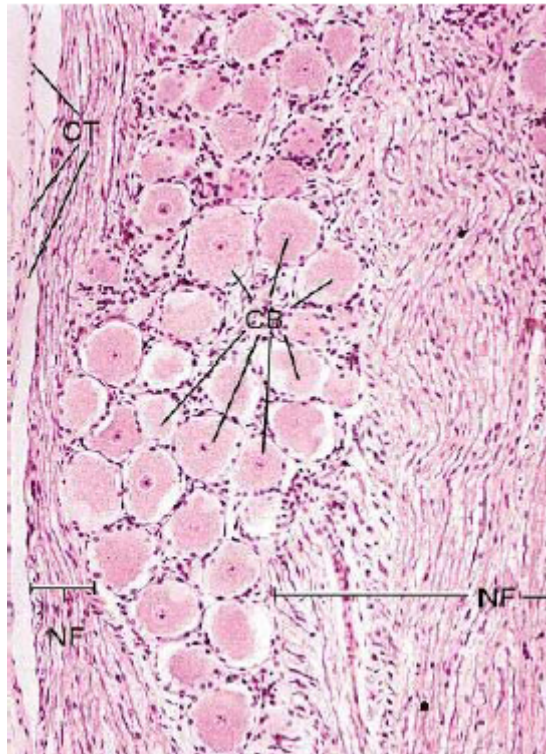
Funcionalmente, o nervo ciático é classificado como nervo misto, contendo fibras motoras (eferentes) e sensitivas (aferentes) (NAVARRO; VERDÚ, 2004).



As fibras nervosas aferentes podem ser mielinizadas ou não mielinizadas, variando seu diâmetro de 2 a 20  $\mu\text{m}$ . As mielinizadas são classificadas como  $A\alpha$ , subtipo (Ib) via aferente do órgão tendinoso de Golgi e (Ia) terminações primárias no fuso muscular, possuindo diâmetro médio de 15  $\mu\text{m}$  e velocidade de condução de 70-120 m/s;  $A\beta$  com diâmetro médio de 8  $\mu\text{m}$  e velocidade de condução média de 50 m/s tendo a função principal de aferência na propriocepção, tato e pressão nos músculos e articulações;  $A\delta$  são fibras sensitivas para temperatura e dor, diâmetro de 1-4  $\mu\text{m}$  e velocidade de condução de 5-25 m/s. As não mielinizadas que são do tipo C conduzem informação referente à dor em uma velocidade de condução média com intervalo entre 0,5-2 m/s (BEST; TAYLOR, 1990; NOKES *et al.*, 1991; CATTERRAL; MACKIE apud GOODMAAN; GILMAN, 1996; AIDLEY, 1998).

As fibras motoras são originadas no motoneurônio localizado no corno anterior da medula espinhal e estendem-se até a junção neuromuscular nos músculos esqueléticos; a maioria pode ser dividida em dois tipos: fibras eferentes alfa ( $A\alpha$ ), com diâmetro variável entre 10 e 17  $\mu\text{m}$ , as quais fazem sinapse com o músculo esquelético, tendo uma velocidade de condução de 50-120 m/s e as fibras motoras gama ( $A\gamma$ ), de 3 a 8  $\mu\text{m}$  de diâmetro, que inervam o fuso muscular com velocidade de condução de 15-30 m/s.

O aglomerado de corpos celulares de fibras sensoriais que está localizado junto às raízes dorsais de cada nervo espinhal denomina-se Gânglio da Raiz Dorsal (GRD). Os gânglios das raízes dorsais dos nervos espinhais contêm células satélites, vasos sanguíneos, células de Schwann e corpos dos neurônios sensitivos (PARENT, 1996). Estes se apresentam envoltos por uma cápsula de tecido conjuntivo que é contínua ao epineuro e perineuro dos nervos periféricos adjacentes. A cápsula emite trabéculas do tecido conjuntivo para o interior do gânglio e forma um estroma muito vascularizado que, junto com os feixes de fibras nervosas, divide os corpos das células nervosas em grupos de diferentes tamanhos (Figura 01, DEVOR, 1999).



**Figura 01** - Fotoneuromiografia do GRD. Mostrando corpos celulares (CB), tecido conjuntivo (CT) e fibras nervosas (NF). HxÉ, 160X (ROSS *et al.*, 2006).

Uma característica do GRD é a presença de capilares fenestrados, diferentemente do SNC, que apresenta capilares contínuos, caracterizando a barreira hemato-encefálica, a qual forma uma barreira para difusão de moléculas grandes dos vasos para o espaço extracelular (ALLEN *et al.*, 1994).

As células ganglionares, ou neurônios pseudo-unipolares apresentam um prolongamento em forma de T, cujo ramo central penetra no tronco encefálico ou no corno dorsal da medula espinal, enquanto o ramo periférico entra no nervo periférico e forma as terminações nervosas livres, ou inerva receptores sensoriais. Em alguns neurônios, o ramo inicial do axônio segue um curso convoluto, tortuoso ou “enrolado”, algumas vezes se espiralando ao redor do soma, o chamado glomérulo, aumentando a extensão do axônio inicial (DEVOR, 1999; PARENT, 1996).

Os corpos celulares variam de tamanho (entre 15 e 100  $\mu\text{m}$  de diâmetro), são arredondados com um núcleo redondo, grande e de localização central. Além disso, os corpos dos neurônios dos gânglios sensitivos não apresentam dendritos e também não recebem sinapses, motivo pelo qual o gânglio sensitivo é dito como um

acúmulo de corpos de células nervosas com seus prolongamentos centrais e periféricos (GENESER, 2003; PARENT, 1996).

Toda informação somatossensorial é conduzida até o sistema nervoso central (SNC) pelos neurônios do GRD, esses neurônios têm capacidade de responder seletivamente a tipos específicos de estímulos (calor, frio, pressão, dor) devido a especializações morfológicas e moleculares dos seus terminais nervosos (KANDEL *et al.*, 2003). Devido à localização desses neurônios no GRD, onde há ausência de uma barreira sangue-nervo bem definida como no SNC, estas células tornam-se mais susceptíveis às variações plasmáticas de glicose, a qual quando em níveis elevados causa danos celulares (ALLEN *et al.*, 1994).

A velocidade de condução dos neurônios do GRD estabelece uma relação com a morfologia celular. O potencial de ação é conduzido mais rapidamente pelas células maiores que são classificadas como fibras A $\alpha$  (30-55 m/s) ou A $\beta$  (14-30 m/s); as células de tamanho intermediário são classificadas como A $\delta$  (2,2-8 m/s); as fibras do tipo C de condução lenta (<1,4 m/s) relacionam-se às menores células do GRD (HARPER; LAWSON, 1985a).

Os potenciais de ação evocados apresentam uma diferença entre os tipos de células. As células A $\alpha$  e A $\beta$  tem curta duração e as do tipo C e algumas A $\delta$  tem longa duração, com uma inflexão na sua repolarização (HARPER; LAWSON, 1985b).

As células do GRD possuem diferentes formas de PA apresentando subtipos de canais iônicos. Os PAs de longa duração expressam canais para Na<sup>+</sup> sensíveis a tetrodoxina (TTX-S), as isoformas Na<sub>v</sub>1.8 e Na<sub>v</sub>1.9 dos canais para Na<sup>+</sup> resistentes a tetrodoxina (TTX-R) e canais para K<sup>+</sup> com ativação lenta. Células que expressam canais para Na<sup>+</sup> TTX-S e canais para K<sup>+</sup> com ativação lenta apresentam PA de duração intermediária e as células com PA de curta duração expressam as isoformas Na<sub>v</sub>1.1 e Na<sub>v</sub>1.6 e Na<sub>v</sub>1.7 dos canais para Na<sup>+</sup> TTX-S, o Na<sub>v</sub>1.8 (TTX-R) e canais para K<sup>+</sup> com ativação rápida (CAMPBELL, 1992; BLACK *et al.*, 1996; FJELL *et al.*, 2000).

## 2 RELEVÂNCIA

---

Diariamente, milhares de pessoas são obrigadas a vivenciar situações de limitações físicas provisórias decorrentes de imobilização de alguma parte de seu corpo para restabelecer a função orgânica. Conseqüentemente, este limite abrange muito mais do que uma limitação funcional de um segmento corporal, podendo resultar ao paciente uma restrição provisória de sua função orgânica normal, vindo a limitá-lo quanto à sua locomoção e suas atividades da vida diária. Esta situação poderá agravar-se quando o paciente for diabético, devido a complicações mais graves que por ventura venham a surgir.

A *Diabetes mellitus* (DM) é um problema importante e crescente em Saúde Pública. Sua incidência e prevalência estão aumentando, alcançando proporções epidêmicas. Está associado a complicações que promovem a produtividade, a qualidade de vida e a sobrevivência dos indivíduos. Além disso, acarreta altos custos para seu controle metabólico e tratamento de suas complicações.

A neuropatia diabética é a complicação mais comum do DM, compreendendo um conjunto de síndromes clínicas que afetam o sistema nervoso sensitivo, motor e autonômico, de forma isolada ou difusa, de instalação aguda ou crônica, de caráter reversível ou irreversível, manifestando-se silenciosamente ou com quadros sintomáticos dramáticos.

Apesar disso, poucos são os dados que se tem relacionando às alterações da condução nervosa do nervo ciático e do gânglio da raiz dorsal em relação à imobilização e interação imobilização/diabetes.

Tendo em vista esses fatos, pesquisas científicas que contribuam na busca de soluções para portadores de diabetes imobilizados são extremamente relevantes, tanto do ponto de vista científico, tecnológico e financeiro como no ponto de vista social.

## 3 OBJETIVOS

---

### 3.1 Objetivo Geral:

- Analisar as alterações da excitabilidade do nervo ciático e gânglios da raiz dorsal dos ratos diabéticos e não diabéticos com imobilização da pata traseira direita.

### 3.2 Objetivos Específicos:

- Validar um protocolo de imobilização, adaptando-o para ratos diabéticos;
- Elucidar o efeito da imobilização em ratos diabéticos e não diabéticos;
- Caracterizar e comparar a excitabilidade e o potencial de ação composto do nervo ciático da pata traseira direita imobilizada de ratos diabéticos e não diabéticos, quantificando os seguintes parâmetros de análise: amplitude positiva das componentes, amplitude pico-a-pico, velocidade de condução das componentes, reobase e cronaxia;
- Elucidar as alterações na excitabilidade dos neurônios do gânglio da raiz dorsal direito dos ratos com a pata traseira direita imobilizada, diabéticos, diabéticos com a pata traseira direita imobilizada e não diabéticos (controle), utilizando e quantificando os seguintes parâmetros do potencial de ação intracelular: corrente limiar, resistência de entrada da membrana celular, potencial de repouso, amplitude do potencial de ação, duração desse potencial e inclinações máximas ascendentes e descendentes.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

---

### 4.1 Delineamento Experimental

#### 4.1.1 Materiais Biológicos

Ética na experimentação animal: os experimentos foram realizados obedecendo aos princípios éticos sobre manipulação e utilização de animais experimentais regidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e estabelecidos pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Ceará, sendo aprovado sob protocolo nº 08351783-9 de 26/08/2008.

Foram utilizados 56 (cinquenta e seis) ratos albinos, *Rattus norvegicus*, variedade Wistar, do sexo masculino, adultos jovens (oito semanas de idade), com massa corpórea entre 200-320 gramas, provenientes do Biotério do Instituto Superior de Ciências Biomédicas (ISCB) da Universidade Estadual do Ceará (UECE) e da Universidade Federal do Ceará (UFC). Durante o período experimental os animais ficaram sob condições controladas de temperatura (22-25°C), ciclo claro-escuro de doze horas, recebendo ração e água *ad libitum*.

#### 4.1.2 Grupos Experimentais

Os 56 (cinquenta e seis) animais foram distribuídos em 4 grupos experimentais, conforme descrito abaixo:

### 1 - Grupo Controle (C)

Neste grupo os animais, no início do experimento, foram separados dos demais, pesados, deixados nas gaiolas por seis semanas e depois foram sacrificados.

### 2 - Grupo Imobilizado (I)

Composto por animais com as mesmas características físicas do Grupo Controle, mantidos nas gaiolas por quatro semanas, seguido de imobilização do membro posterior direito por mais duas semanas e depois sacrificados.

### 3 - Grupo Diabético (D)

Os animais, quando jovens, foram induzidos ao quadro diabético conforme descrito e no início do experimento, separados dos demais, pesados, deixados nas gaiolas por seis semanas e depois sacrificados.

### 4 - Grupo Diabético Imobilizado (DI)

Composto por animais com as mesmas características físicas do Grupo Diabético, mantidos nas gaiolas por quatro semanas, seguido de imobilização do membro posterior direito por mais duas semanas e depois sacrificados.

#### 4.1.3 Indução de Diabetes Experimental

Ratos Wistar do sexo masculino, pesando entre 200-320 gramas foram induzidos quimicamente ao diabetes por uma solução de estreptozotocina (STZ) na dose única de 65 mg/kg de peso corporal, dissolvido em solução de citrato de sódio 1M com pH 4,4 e injetado via intraperitoneal, como realizado no estudo de Fox *et al.* (1999). Para isto, os animais permaneceram em jejum alimentar de 12 horas na

véspera da indução, com fornecimento de água *ad libitum*. Após 30 minutos da injeção eles foram alimentados normalmente. Após 48 horas da indução, amostras de sangue foram coletadas através de uma pequena punção na porção distal da cauda do animal, com a coleta de uma gota de sangue sobre a glicofita. A glicemia foi então confirmada no aparelho Accu-Chek Advantage (Roche<sup>®</sup>). Os animais com glicemia maior ou igual a 200 mg/dl, foram considerados diabéticos (incluídos no grupo experimental) e aqueles com glicemia inferior foram descartados do experimento. Outra observação importante para avaliar a diabetes é o elevado consumo de água, redução de peso, alteração na pelagem e intensa diurese. O número de mortes foi reduzido pela limpeza diária das gaiolas e manutenção de água nas garrafas. Pesagem e confirmação da diabetes foram realizadas semanalmente.

#### 4.1.4 Técnica de Imobilização

Previamente os animais foram anestesiados com Cetamina 60 mg/kg e Xilasina 8 mg/kg de peso do animal por via intraperitoneal, ataduras de algodão com 4 cm de largura foram utilizadas nas articulações para prevenir a formação de úlceras de pressão. Para os grupos imobilizados, o membro posterior direito foi imobilizado com esparadrapo impermeável (marca Cremer com 10 cm de largura), que incluíram a pele, quadril, joelho (ambos em extensão) e o tornozelo (em flexão plantar). Em seguida os animais foram enfaixados com o esparadrapo de modo convencional em pequenas tiras de 5 cm de largura e 15 cm de comprimento cada, tiras diferentes para o membro e o tronco, sem muita pressão de torque. A imobilização foi substituída quando danificada e mantida por duas semanas. Os animais já divididos em seus respectivos grupos foram colocados em gaiolas plásticas com livre acesso à ração e água. A imobilização não impediu a locomoção dentro da gaiola.

A imobilização foi realizada quando os ratos completaram oito semanas de vida permanecendo duas semanas de imobilização.



#### 4.1.5 Sacrifício dos animais

Os animais foram sacrificados por concussão cerebral de acordo com a Resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) Nº 714, 20/06/2002, e em seguida pesados para posterior dissecação do nervo ciático direito para análise do potencial de ação composto no sistema extracelular e dos gânglios direitos da raiz dorsal no sistema intracelular.

#### 4.1.6 Solução

O nervo ciático e gânglio da raiz dorsal foram nutridos com solução de Locke modificada, contendo a seguinte composição (em mM): NaCl: 140, KCl: 5,6; MgCl<sub>2</sub>: 1,2; CaCl<sub>2</sub>: 2,2; Tris-Hidroximetil-Aminometano (TRIS): 10; Glicose: 10.

A solução de Locke teve o pH ajustado para  $7,4 \pm 0,01$  utilizando Hidróxido de sódio (NaOH) ou ácido clorídrico (HCl) à temperatura ambiente.

Os sais que foram utilizados no preparo da solução fisiológica são de grau de pureza analítica, obtidos das companhias Sigma Chemical Corporation (St. Louis, Missouri, USA), Merck (Darmstadt, Germany) ou Reagen (Rio de Janeiro, RJ, Br).

#### 4.1.7 Dissecação do nervo ciático e montagem do sistema extracelular

O nervo ciático direito dos ratos foi cuidadosamente submetido à cirurgia de dissecação, sendo removido de sua origem e inserção e imediatamente acondicionado em solução de Locke modificada até o momento de sua utilização.

Em seguida, a câmara de registro (câmara de Harvard) foi preenchida com 8 ml de solução de Locke e o nervo foi posicionado horizontalmente sobre os eletrodos de platina desta câmara. Manteve-se uma alça de aproximadamente 20 milímetros do nervo submerso na solução a fim de que, por capilaridade, a solução fosse administrada ao tecido. A câmara foi mantida hermeticamente fechada para evitar a desidratação da preparação.

Uma das extremidades do nervo foi eletricamente estimulada por pares de eletrodos acoplados a um estimulador de Grass, modelo S-48 (Grass Instrument Co., Quincy, MA, USA), através de uma unidade isoladora de estímulo Grass, modelo SIU 4678 (Grass Instrument Co.). O pulso gerado pelo estimulador foi do tipo onda quadrada, com amplitude de 40 Volts, duração de 100 microssegundos e aplicados nas frequências de 0.2, 20, 50, 100, 200, 300 e 400 Hertz.

O potencial de ação evocado foi coletado por eletrodos de registro na outra extremidade do nervo. O sinal foi aumentado em 1000X por um amplificador (AM 01/UECE) de alta impedância de entrada e visualizado em osciloscópio (KENWOOD, modelo CS4125).

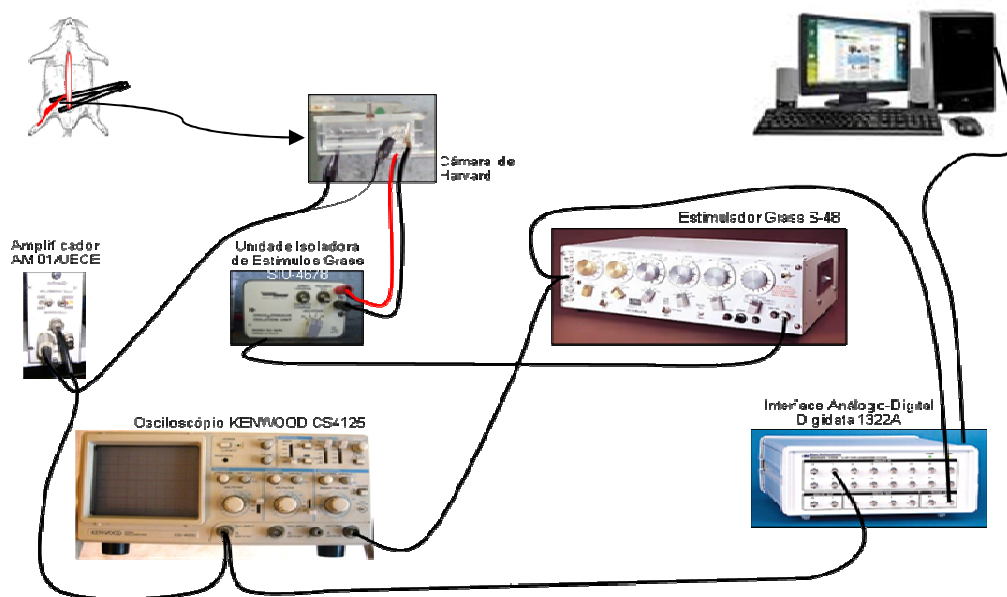
Uma placa de interface análogo-digital (A/D) (DIGIDATA 1322A) transformou o sinal para tornar possível a sua leitura e armazenamento em um computador por meio do software Axoclamp (AxonScope, da Axon Instruments Inc., Foster City, CA, USA).

O nervo direito passou por um período de estabilização do registro de 120 minutos, tempo este mais do que suficiente para que ocorra uma boa estabilização da amplitude do registro do potencial de ação composto. Considerou-se estabilizada a preparação em que não houve variação na amplitude do PAC por mais de 30 minutos. Em seguida foi medida a reobase e a cronaxia. Posteriormente colhidos registros de estímulos do potencial de ação composto com frequências de 20, 50, 100, 200, 300, 400 Hz com intervalos entre as mesmas de 0,2 Hz, conforme Tabela 02.

**Tabela 02.** Protocolo experimental de coleta de registros de frequências do potencial de ação composto do nervo ciático direito.

Frequência (Hz)	Tempo (min.)	Tempo Acumulado (min.)
20 Hz	2"	2"
0,2 Hz	5"	7"
50 Hz	2"	9"
0,2 Hz	5"	14"
100 Hz	2"	16"
0,2 Hz	5"	21"
200Hz	2"	23"
0,2 Hz	5"	28"
300 Hz	2"	30"
0,2 Hz	5"	35"
400 Hz	2"	37"
0,2 Hz	5"	42"

O tempo total previsto para a coleta dos registros do nervo direito de cada animal será de aproximadamente 4 horas.



**Figura 02.** Esquema ilustrativo do “setup” para registro extracelular do potencial de ação composto.

#### 4.1.8 Dissecção do gânglio da raiz dorsal e montagem do sistema intracelular

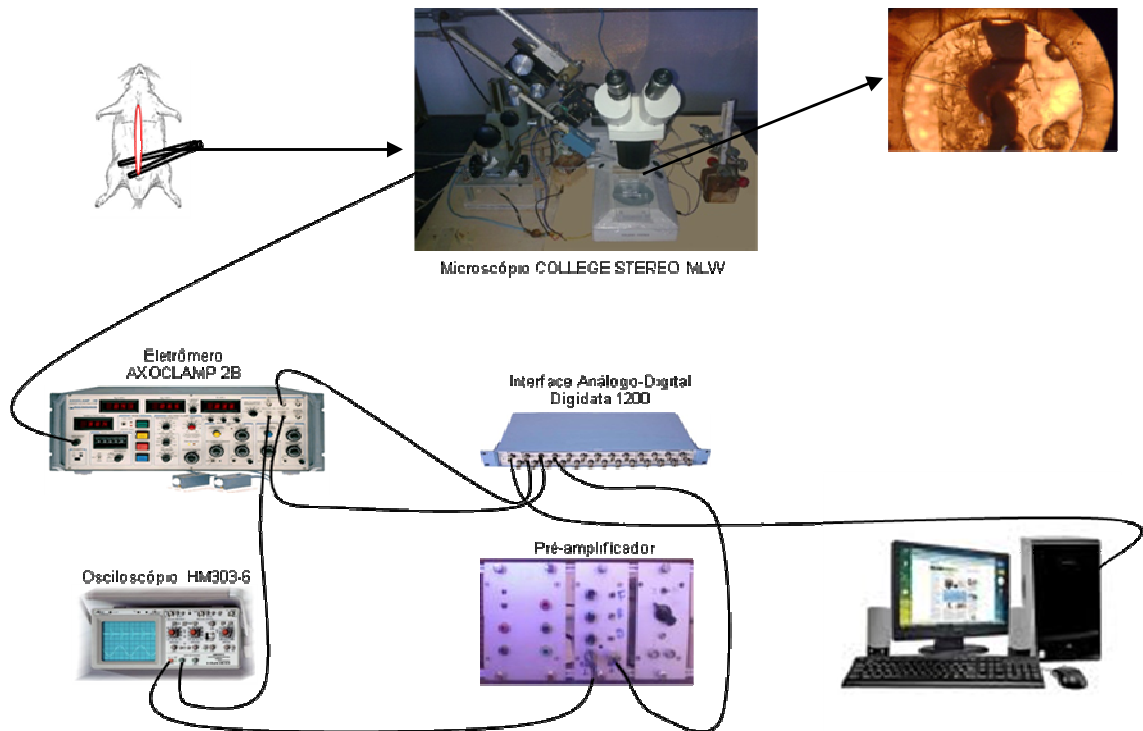
Após a remoção do nervo ciático direito, foram dissecados os gânglios da raiz dorsal a nível dos segmentos L4 e L5, paravertebral direito. Em seguida foram acondicionados em solução de Locke e fixados sobre uma câmara de acrílico com fundo Silgard®. A câmara de registro foi montada sob uma lupa (modelo COLLEGE STEREO, MLW Intermed, Schöneiche, Alemanha), com aumento de 20X, para auxiliar a fixação com microalfinetes inoxidáveis e observação dos procedimentos do gânglio da raiz dorsal.

A nutrição do tecido ocorreu através de perfusão por meio de fluxo por gravidade, ajustado entre 1 a 1,5 ml/min, com solução de Locke. Para minimizar os efeitos de capacitância do eletrodo, o nível de líquido da câmara foi controlado na menor altura possível acima da superfície do gânglio. Para a retirada de líquido da câmara foi utilizada uma bomba de infusão, com uma de suas extremidades

conectada a um estreito tubo (para agir como um sugador de líquido) e a outra a um depósito de descarte de solução. Essa montagem foi instalada fora do local onde estava a câmara, para evitar a adição de vibração ao sistema. Por fim, a solução que ficou na câmara considerada como meio extracelular foi aterrada e, portanto, atribuído valor do potencial igual a zero.

O impalamento dos neurônios do gânglio da raiz dorsal foi realizado com microeletrodos de borossilicato (diâmetro externo de 1,0 mm e interno de 0,5 mm), que foram confeccionados por um puxador de micropipetas (modelo P-97, Sutter Instrument, Novato, CA, EUA) e preenchidos com solução de KCl 3M a fim de obter resistência entre 40 a 90M $\Omega$ . Em seguida, o microeletrodo foi montado em um pré-amplificador, que estava conectado a um eletrômetro (modelo AXOCLAMP 2B, Axon Instruments, Foster City, CA, EUA). A movimentação do eletrodo, bem como o impalamento das células, foi realizada com um micromanipulador hidráulico (modelo MWO-3, Narishige International Inc., Long Island, NY, EUA).

As propriedades elétricas da membrana foram registradas no modo de clampeamento de corrente (current-clamp), no qual há fixação do valor da corrente a ser injetada, de forma a medir as variações de potencial advindo do sistema. Para monitoramento do sinal, utilizamos dois osciloscópios: um para o monitoramento do potencial de membrana ( $V_m$ ) e da corrente injetada (modelo 5111A, TEKTRONIX, Beaverton, OR, EUA) e outro para monitoramento da carga e descarga do microeletrodo (modelo HM303-6, HAMEG Instruments, Mainhausen, Alemanha). Ambos os osciloscópios, bem como uma placa de interface A/D (modelo DIGIDATA 1200, Axon Instruments, Foster City, CA, EUA) estavam conectados às saídas do eletrômetro. A aquisição dos registros eletrofisiológicos foi feita através de um software (CLAMPEX, versão 6.0) e os dados armazenados em computador para posterior análise. O esquema do setup experimental está ilustrado na Figura 03



**Figura 03.** Esquema ilustrativo do “setup” para registro intracelular do potencial de ação dos neurônios do gânglio da raiz dorsal.

#### 4.1.9 Laboratórios

Os experimentos envolvendo os animais e análises foram conduzidos nos laboratórios: Bioquímica e Cultura de Células e de Eletrofisiologia, ambos nas dependências do Instituto Superior de Ciências Biomédicas ([www.uece.br/cmactf](http://www.uece.br/cmactf)) pertencentes à Universidade Estadual do Ceará - UECE.

## 4.2 Análise Eletrofisiológica

As alterações da excitabilidade e da condutibilidade nervosa foram avaliadas através das mudanças observadas na amplitude pico-a-pico, na amplitude positiva das componentes e na velocidade de condução do potencial de ação composto evocado. Para caracterizar o efeito da excitabilidade do nervo, foram avaliados a reobase e a cronaxia. Os dados coletados para observação de possíveis alterações nos parâmetros acima citados foram analisados pelo mesmo software Clampfit, da Axon Instruments Inc., Foster City, CA, USA.

A amplitude pico-a-pico foi estabelecida através da soma da maior amplitude positiva com o módulo da maior amplitude negativa atingidas no registro do potencial de ação composto, proporcional ao número de axônios que conduzem o impulso em uma dada velocidade (MEIRI *et al.*, 1996).

A amplitude dos componentes foi estabelecida através da amplitude máxima positiva de cada um dos três componentes.

Em relação ao cálculo da velocidade de condução nervosa do PAC, utilizamos a proporção entre a distância percorrida pelo potencial de ação composto, desde o eletrodo de estimulação que estava mais próximo do ponto de imersão do nervo na solução até o eletrodo de registro e o tempo decorrido até a finalização deste trajeto. Consideramos o intervalo entre o ponto inicial do artefato de estímulo observado no gráfico de registro, assim como, o ponto onde a inflexão ascendente do gráfico de potencial de ação composto atingiu 50 % de sua amplitude pico-a-pico para definição de tempo. Para análise da velocidade dos componentes utilizamos a relação entre a distância percorrida pelo PAC, como descrito anteriormente e o intervalo entre o ponto inicial do artefato de estímulo e o pico positivo de cada componente.

A curva de intensidade-duração com onda quadrada de voltagem-constante foi usada para determinar reobase e cronaxia (HOLSHEIMER *et al.*, 2000). A reobase mensurada como a voltagem limiar para uma resposta ativa, com uma longa duração do pulso (1000  $\mu$ s) e cronaxia como a duração limiar com um pulso a uma voltagem igual ao dobro da reobase.

### 4.3 Tratamento Estatístico

Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). O número total de experimentos está representado pela letra “n”. A análise estatística e os gráficos foram realizados utilizando os softwares SigmaPlot<sup>®</sup> for Windows (versão 10.0, Systat Software) e Prism<sup>®</sup> 5 for Windows (versão 5.0, GraphPad Software).

A significância estatística foi aceita quando os resultados apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese nula menor que 5% ( $p < 0,05$ ).

Nas comparações realizadas entre duas amostras, foram utilizados o teste t-student pareado ou não pareado. Para as comparações múltiplas foi adotada a Análise de Variância (ANOVA) one-way e two-way conforme apropriado, respeitando-se as hipóteses de normalidade da distribuição e homocedasticidade

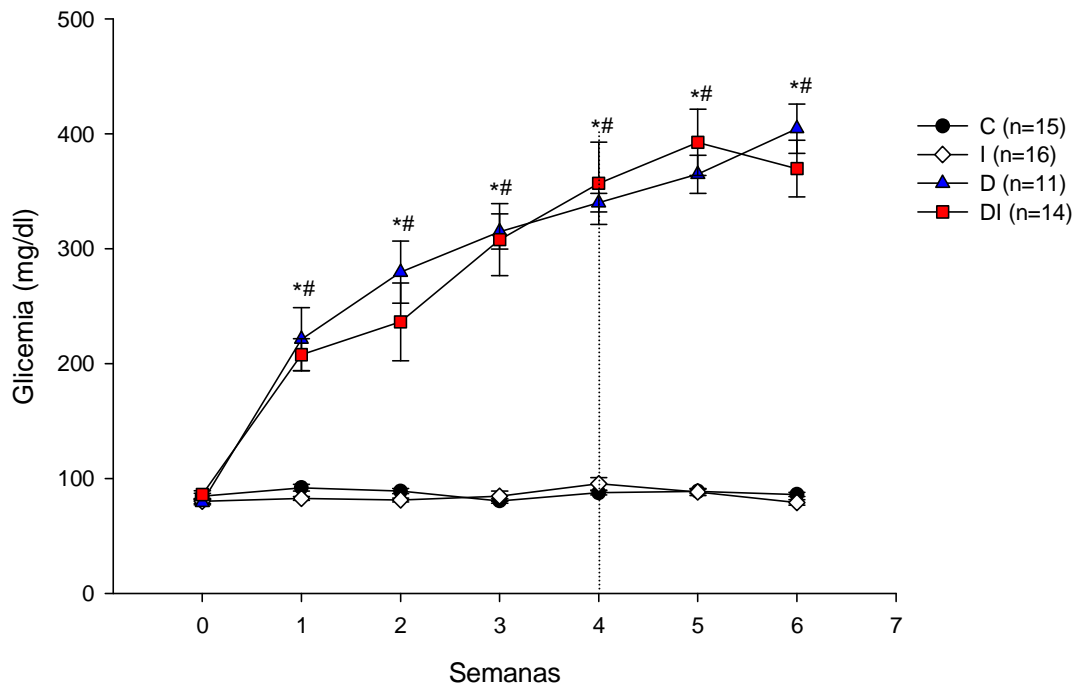


## 5 RESULTADOS

---

### 5.1 Glicemia

A coleta sanguínea foi realizada semanalmente, durante seis semanas consecutivas utilizando o aparelho Accu-Chek Advantage (Roche®). Os animais dos grupos diabético e diabético imobilizado foram induzidos com STZ na semana 1 (Figura 4). Identificou-se um aumento da média de glicemia nos grupos diabético e diabético imobilizado comparados com os grupos controle e imobilizado. As médias  $\pm$  erro padrão de glicemia atingiram os seguintes valores: controle:  $86,87 \pm 0,87$  mg/dl; imobilizado:  $84,45 \pm 1,29$  mg/dl; diabético:  $286,29 \pm 13,45$  mg/dl; diabético imobilizado:  $279,56 \pm 14,01$  mg/dl. As análises estatísticas indicaram um grau de significância ( $p < 0,05$ ) entre os grupos: controle com diabético e diabético imobilizado; imobilizado com diabético e diabético imobilizado.

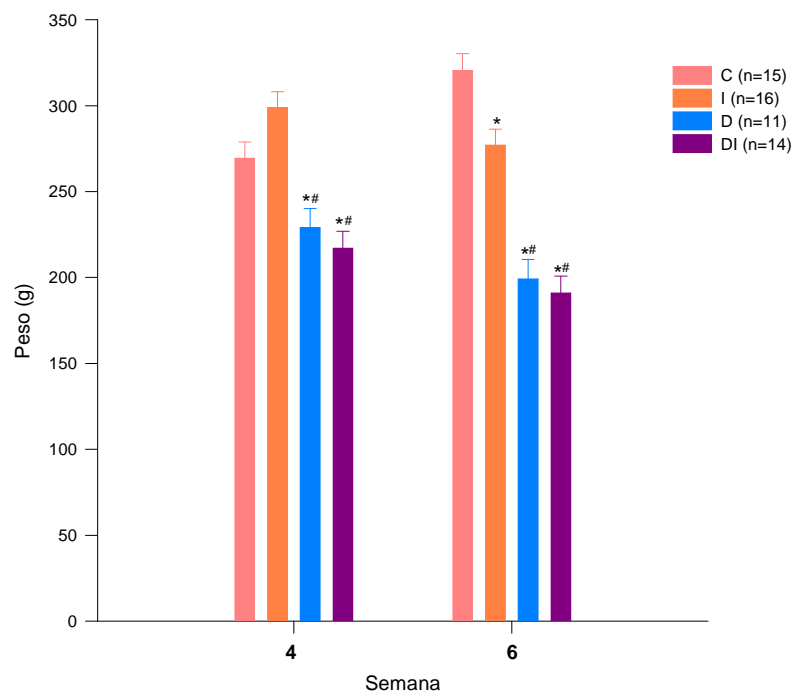


**Figura 04.** Evolução da média da glicemia nos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI), durante seis semanas após indução da STZ. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \*( $p < 0,05$ ) representa significância do grupo controle com os grupos diabético e diabético imobilizado; #( $p < 0,05$ ) do grupo imobilizado com os grupos diabético e diabético imobilizado. O “n” indica o número de animais. O traço pontilhado indica a semana da imobilização.

## 5.2 Massa Corpórea

A Figura 05 representa a comparação do resultado da média da massa corpórea dos grupos controle, imobilizado, diabético e diabético imobilizado durante a quarta semana, onde foi realizada a imobilização da pata traseira direita nos grupos imobilizado e diabético imobilizado e durante a sexta semana, onde foi o sacrifício dos animais. As médias  $\pm$  erro padrão da massa corpórea na quarta semana nos grupos controle, imobilizado, diabético, diabético imobilizado foram respectivamente  $269,40 \pm 9,56$  g;  $298,81 \pm 9,26$  g;  $228,90 \pm 11,17$  g;  $217,07 \pm 9,90$  g e na sexta de  $320,42 \pm 9,90$  g;  $277,12 \pm 9,26$  g;  $199,27 \pm 11,17$  g;  $190,92 \pm 9,90$  g. As análises estatísticas indicaram um grau de significância ( $p < 0,05$ ) na quarta semana entre os

grupos: controle com diabético e diabético imobilizado; imobilizado com diabético e diabético imobilizado. Já na sexta semana todos apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) com o controle e o grupo imobilizado com os grupos diabético e diabético imobilizado. Quando comparadas as semanas, o grupo controle apresentou um ganho de massa corpórea e nos grupos imobilizado, diabético e diabético imobilizado um déficit da massa corpórea.

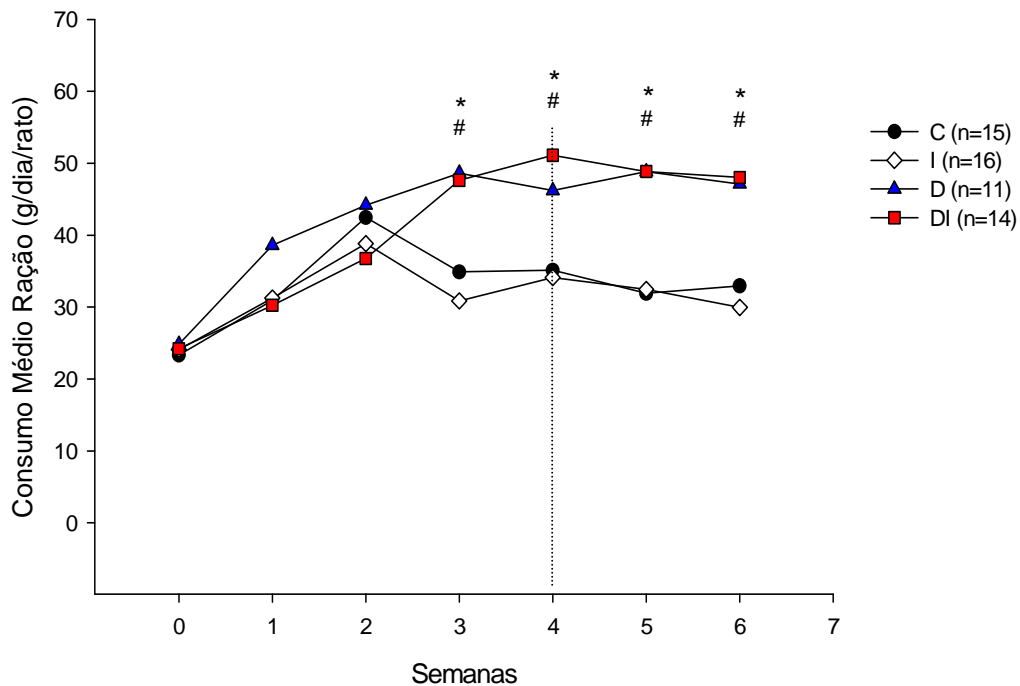


**Figura 05.** Comparação da média da massa corpórea dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI), durante a quarta e sexta semana após indução da STZ. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \*( $p < 0,05$ ) representa significância em relação ao grupo controle com os grupos diabético e diabético imobilizado; #( $p < 0,05$ ) do grupo controle com os grupos diabético e diabético imobilizado. O “n” indica o número de animais.

### 5.3 Ingestão de ração

O controle da ingestão de ração diária iniciou-se em todos os grupos a partir da semana de indução (semana 0 na Figura 06) de STZ nos grupos diabético e diabético imobilizado, havendo acompanhamento diário durante seis semanas

consecutivas. Identificou-se um consumo alimentar semelhante entre os grupos controle e imobilizado e entre os grupos diabéticos e diabéticos imobilizados a partir da terceira semana. Os dois últimos grupos mencionados também apresentaram um consumo superior em relação ao controle e imobilizado, caracterizando o efeito da diabetes. Durante o período de imobilização correspondente entre a quarta e sexta semana, os grupos imobilizado e diabético imobilizado não apresentaram redução do consumo de ração. A média  $\pm$  erro padrão geral de todas as semanas apresentou os seguintes valores: controle  $33,09 \pm 2,16$  g/dia/rato; imobilizado  $31,65 \pm 1,68$  g/dia/rato; diabético  $42,63 \pm 3,24$  g/dia/rato; diabético imobilizado  $40,98 \pm 4,00$  g/dia/rato. As análises estatísticas para cada semana indicaram um grau de significância ( $p < 0,05$ ) a partir da terceira semana entre os grupos: controle com diabético e diabético imobilizado; imobilizado com diabético e diabético imobilizado.



**Figura 06.** Evolução da ingestão de ração nos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI), durante seis semanas após indução da STZ. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \*( $p < 0,05$ ) representa significância do grupo controle com os grupos diabético e diabético imobilizado; #( $p < 0,05$ ) do grupo imobilizado com os grupos diabético e diabético imobilizado. O "n" indica o número de animais. O traço pontilhado indica a semana da imobilização.

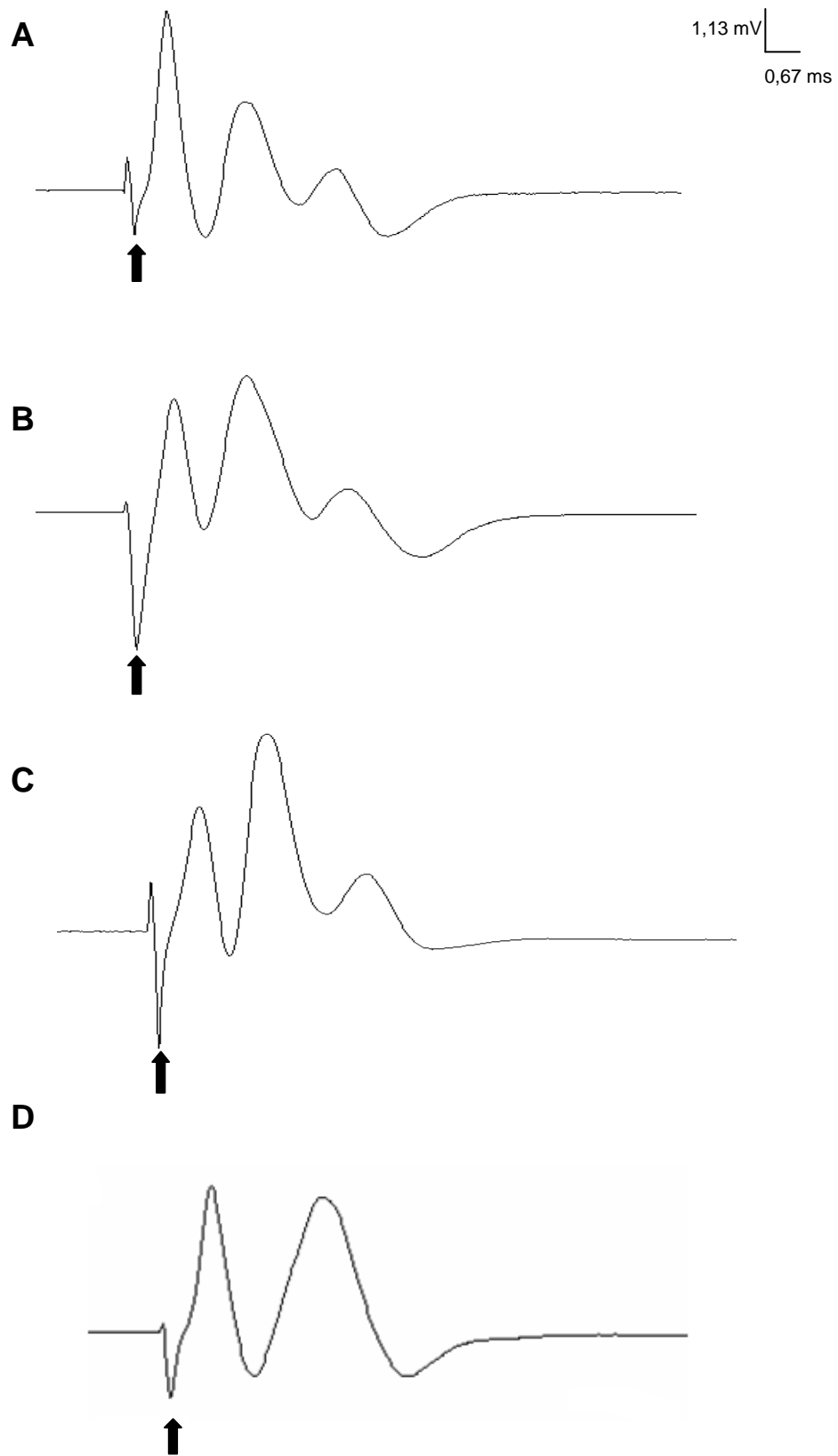
## 5.4 Registro Extracelular

### 5.4.1 Caracterização

A formação do potencial de ação composto (PAC) apresentou até três componentes de onda, porém com o aumento da frequência de estímulo a partir de 100Hz a terceira componente não foi apresentada em 74% do total dos registros. Como o estudo foi realizado para as frequências 0,2Hz, 20Hz, 50Hz, 100Hz, 200Hz, 300Hz e 400Hz, a terceira componente foi desconsiderada para este estudo.

### 5.4.2 Traçados eletrofisiológicos das componentes do potencial de ação composto do nervo ciático direito

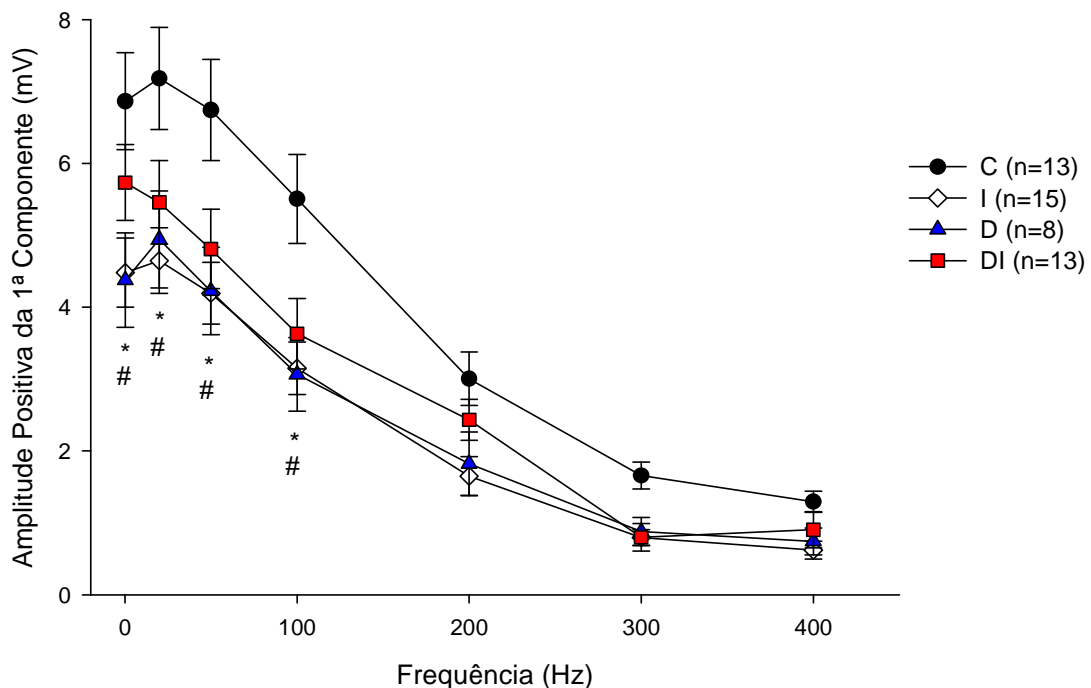
Os traçados eletrofisiológicos representativos do potencial de ação composto dos grupos diabético (Figura 07C) e diabético imobilizado (Figura 07D) mostraram uma tendência de prevalência da segunda componente positiva possuir uma amplitude superior que as demais, caracterizando uma predominância de fibras nervosas sensitivas. No grupo controle (Figura 07A) houve uma tendência da amplitude da primeira componente positiva ser superior que as demais, caracterizando uma predominância das fibras nervosas motoras. No grupo imobilizado (Figura 07B) houve uma tendência da amplitude da segunda componente ser igual ou superior à amplitude da primeira componente.



**Figura 07.** Traçados eletrofisiológicos representativos do potencial de ação composto (PAC) do nervo ciático direito dos grupos controle (A), imobilizado (B), diabético (C), diabético imobilizado (D). A seta (↑) indica o artefato.

### 5.4.3 Análise eletrofisiológica da amplitude positiva da 1ª componente do potencial de ação composto do nervo ciático direito

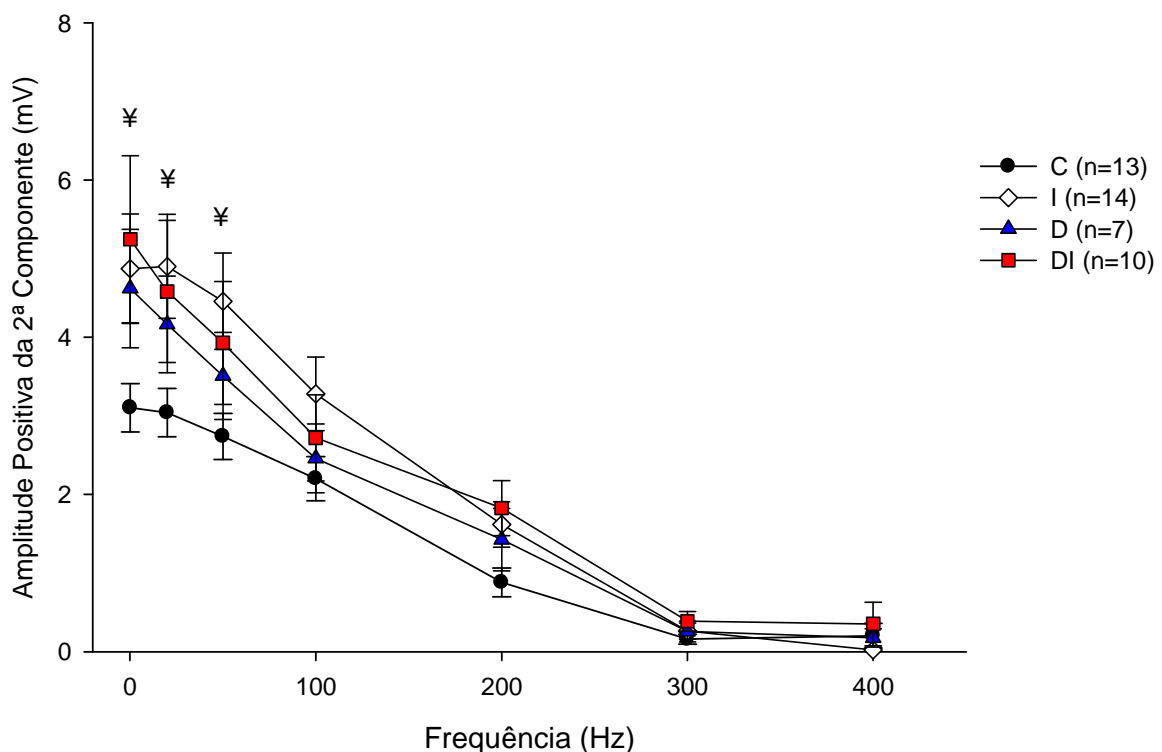
Na análise da amplitude positiva da 1ª componente do PAC, os resultados apresentados na Tabela 03 (Apêndice I), representam a distribuição das médias  $\pm$  erro padrão dos grupos controle, imobilizado, diabético, diabético imobilizado em relação as frequências de estímulo. O aumento da frequência de estímulo apresentou uma diminuição da curva em todos os grupos e os valores da amplitude dos grupos imobilizado, diabético, diabético imobilizado foram inferiores comparados com o grupo controle (Figura 08). Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) dos grupos imobilizado e diabético em relação ao grupo controle nas frequências de 0,2 Hz até 100 Hz. Nas frequências de 200 Hz, 300 Hz e 400 Hz não houve diferença estatisticamente significativa.



**Figura 08.** Amplitude positiva da 1ª componente do PAC, em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \* ( $p < 0,05$ ) representa significância entre controle e imobilizado nas frequências de 0,2 Hz, 20 Hz, 50 Hz e 100 Hz; # ( $p < 0,05$ ) entre controle e diabético nas frequências de 0,2 Hz, 20 Hz, 50 Hz e 100 Hz. O “n” indica o número de nervos ciáticos direito de ratos.

#### 5.4.4 Análise eletrofisiológica da amplitude positiva da 2ª componente do potencial de ação composto do nervo ciático direito

Na análise da amplitude positiva da 2ª componente do PAC, os resultados apresentados na Tabela 04 (Apêndice II), representam a distribuição das médias  $\pm$  erro padrão dos grupos controle, imobilizado, diabético, diabético imobilizado em relação as frequências de estímulo. O aumento da frequência de estímulo apresentou uma diminuição da curva em todos os grupos e os valores da amplitude dos grupos imobilizado, diabético e diabético imobilizado foram significativamente superiores comparados com o grupo controle (Figura 09). Houve diferença estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ) comparando o grupo diabético imobilizado em relação ao controle nas frequências de 0,2 Hz, 20 Hz, 50 Hz e nas frequências de 100 Hz, 200 Hz, 300 Hz e 400 Hz não houve diferença estatisticamente significante.

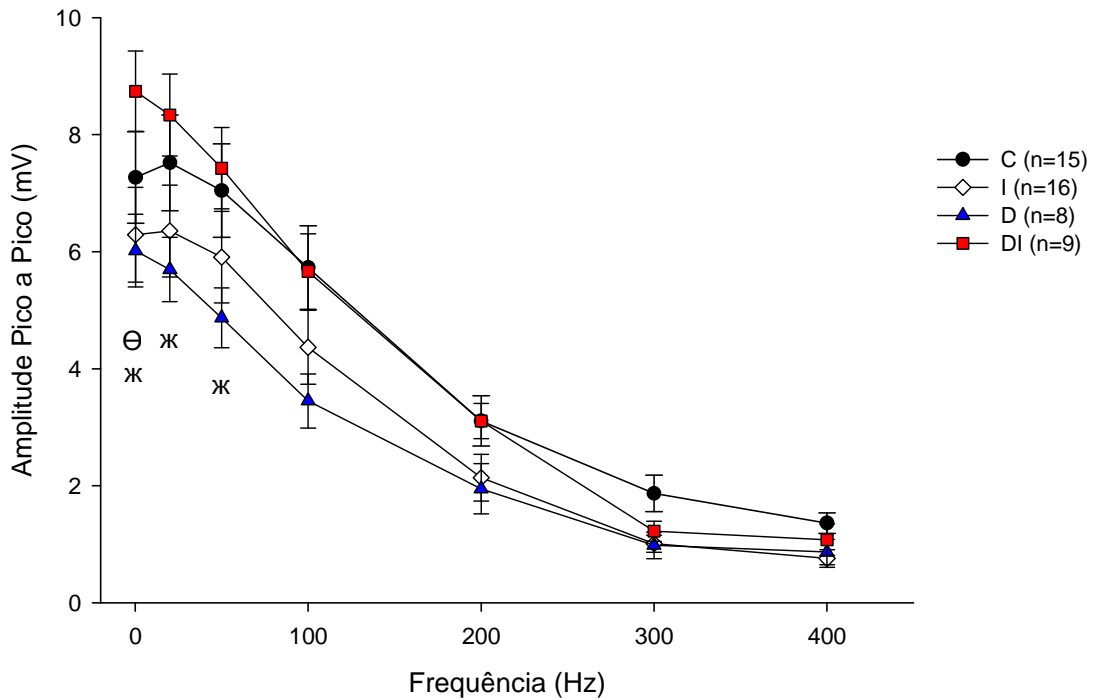


**Figura 09.** Amplitude positiva da 2ª componente do PAC, em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). ¥( $p < 0,05$ ) representa significância entre controle e diabético imobilizado nas frequências de 0,2 Hz, 20 Hz e 50 Hz. O “n” indica o número de nervos ciáticos direito de ratos.



#### 5.4.5 Análise eletrofisiológica da amplitude pico-a-pico do potencial de ação composto do nervo ciático direito

Na análise da amplitude pico-a-pico do PAC, os resultados apresentados na Tabela 05 (Apêndice III), representam a distribuição das médias  $\pm$  erro padrão dos grupos controle, imobilizado, diabético, diabético imobilizado em relação às frequências de estímulo. O aumento da frequência de estímulo apresentou uma diminuição da curva em todos os grupos e os valores da amplitude dos grupos imobilizado e diabético imobilizado foram inferiores comparados com o grupo controle (Figura 10). Já o grupo diabético imobilizado foi superior ao grupo controle até a frequência de 50 Hz por apresentar uma maior hiperpolarização e conseqüentemente elevou a amplitude pico a pico, mantendo o resultado semelhante ao grupo controle em 100 Hz e 200 Hz. Após esta frequência comportou-se semelhante aos grupos diabético e diabético imobilizado. Houve diferença estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ) comparando o grupo diabético imobilizado com os grupos imobilizado e diabético na frequência de 0,2 Hz. Já nas frequências de 20 Hz e 50 Hz houve diferença estatística entre diabético imobilizado e diabético. Nas demais frequências não houve diferença estatística.

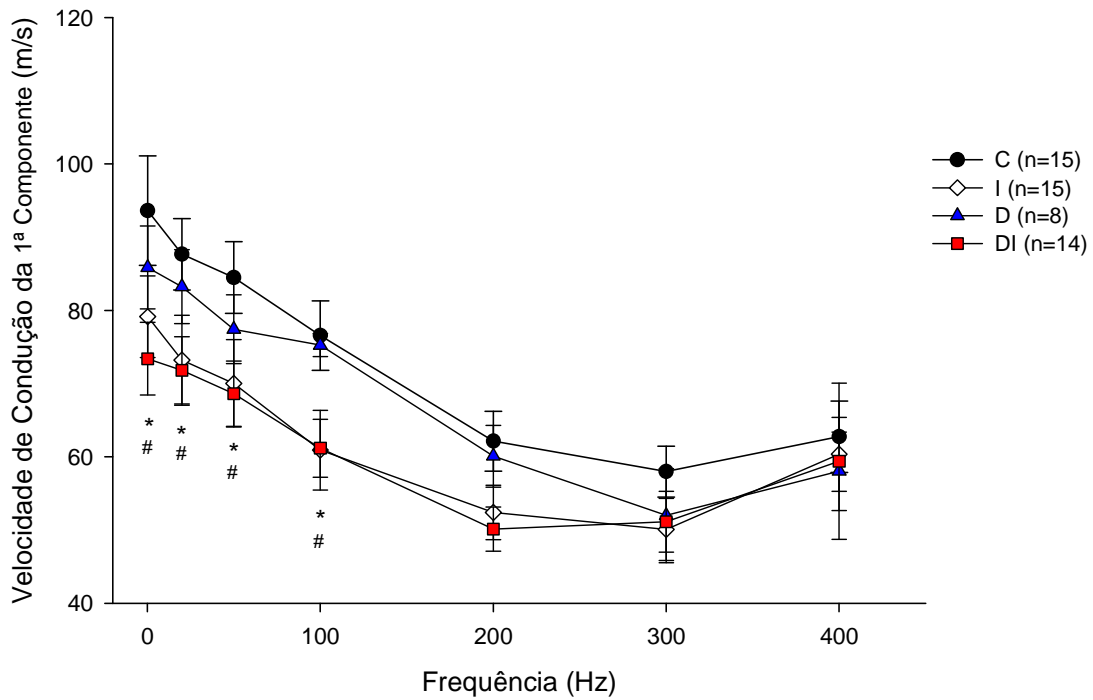


**Figura 10.** Amplitude pico-a-pico do PAC, em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA).  $\Theta$  ( $p < 0,05$ ) representa significância entre diabético imobilizado e imobilizado na frequência de 0,2 Hz;  $\text{Ж}$  ( $p < 0,05$ ) entre diabético imobilizado e diabético nas frequências de 0,2 Hz, 20 Hz e 50 Hz. O "n" indica o número de nervos ciáticos direito de ratos.

#### 5.4.6 Análise eletrofisiológica da velocidade de condução da 1ª componente do potencial de ação composto do nervo ciático direito.

Na análise da velocidade de condução da 1ª componente do PAC, os resultados apresentados na Tabela 06 (Apêndice IV), representam a distribuição das médias  $\pm$  erro padrão dos grupos controle, imobilizado, diabético, diabético imobilizado em relação às frequências de estímulo. Na comparação entre os grupos, observou-se uma redução no imobilizado, diabético e diabético imobilizado, em relação ao grupo controle (Figura 11), havendo diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nas frequências de 0,2 Hz até 100 Hz do grupo controle em relação aos grupos imobilizado e diabético imobilizado. Observou-se uma tendência

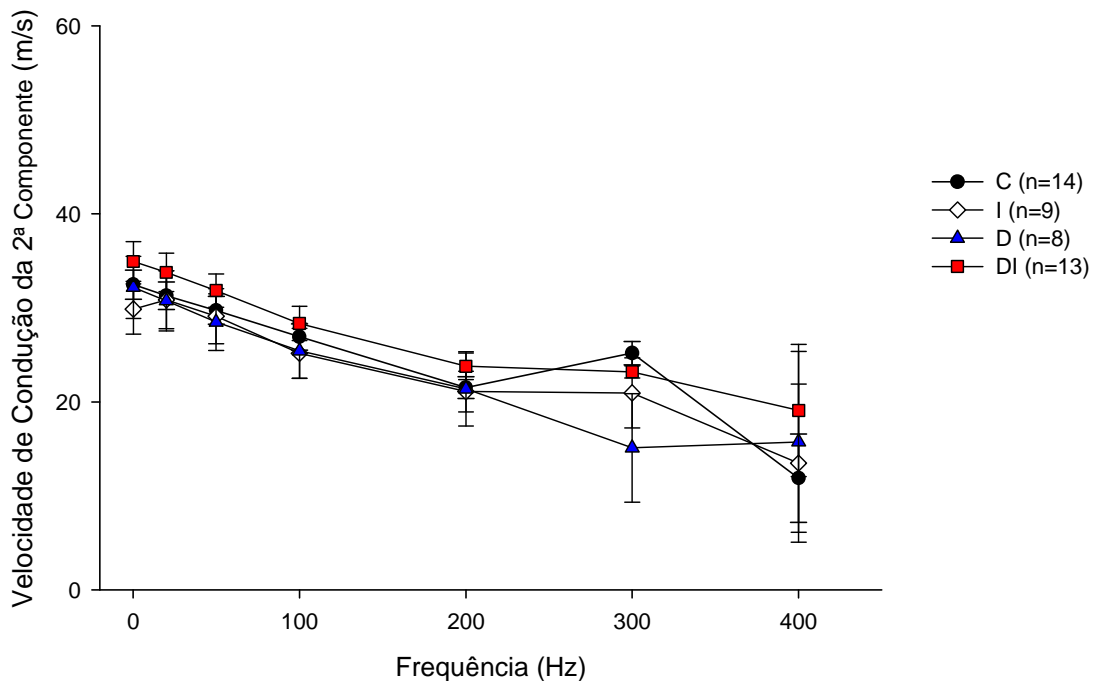
de redução da velocidade de condução dos grupos diabético, imobilizado e diabético imobilizado em relação ao controle.



**Figura 11.** Velocidade de condução da 1ª componente do PAC, em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \* ( $p < 0,05$ ) representa significância entre controle e imobilizado nas frequências de 0,2 Hz, 20 Hz, 50 Hz e 100 Hz; # ( $p < 0,05$ ) entre controle e diabético imobilizado nas frequências de 0,2 Hz, 20 Hz, 50 Hz e 100 Hz. O “n” indica o número de nervos ciáticos direito de ratos.

#### 5.4.7 Análise eletrofisiológica da velocidade de condução da 2ª componente do potencial de ação composto do nervo ciático direito.

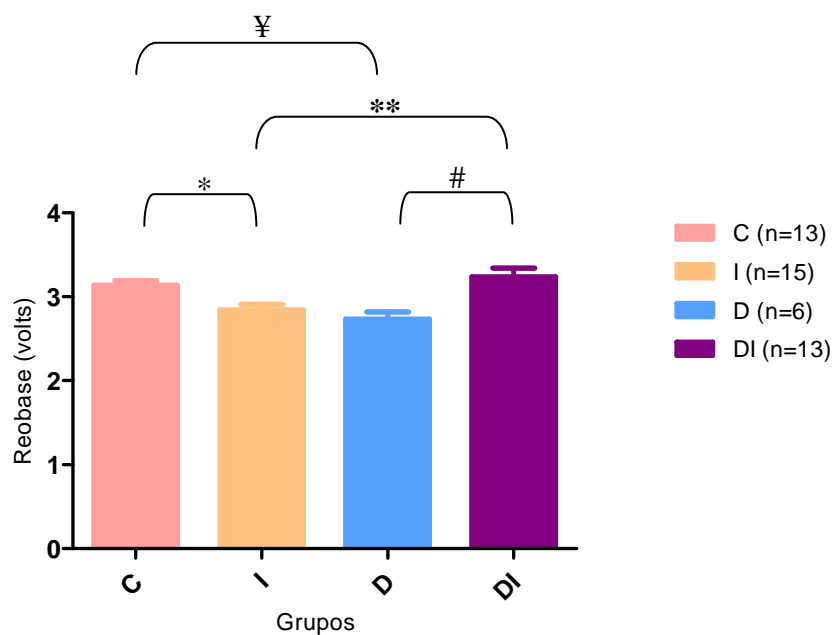
Na análise da velocidade de condução da 2ª componente do PAC, os resultados apresentados na Tabela 7 (Apêndice V), representam a distribuição das médias  $\pm$  erro padrão dos grupos controle, imobilizado, diabético, diabético imobilizado em relação às frequências de estímulo. Embora houvesse uma discreta redução das velocidades de condução dos grupos em relação ao grupo controle (Figura 12), não houve diferença estatisticamente significativa.



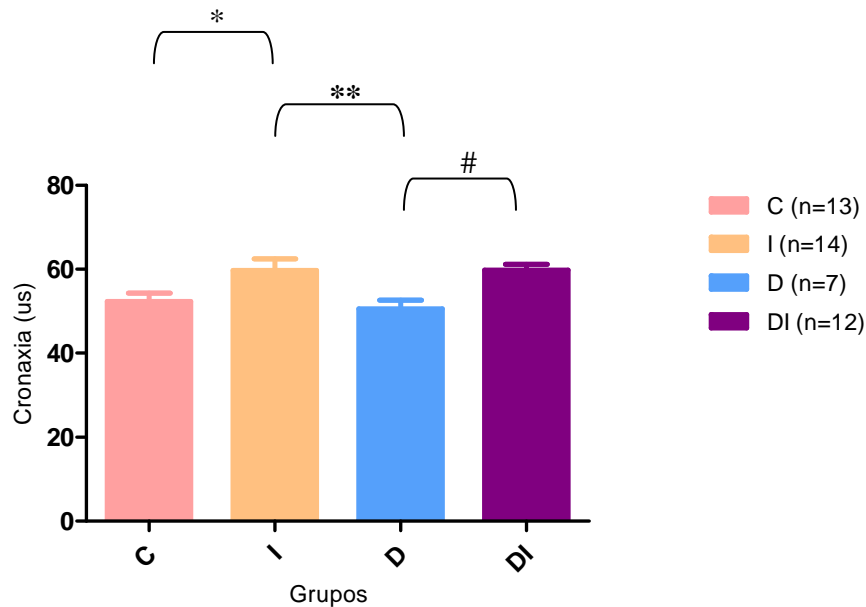
**Figura 12.** Velocidade de condução da 2ª componente do PAC, em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). Não houve significância estatística com  $p < 0,05$ . O “n” indica o número de nervos ciáticos direito de ratos.

#### 5.4.8 Análise eletrofisiológica da reobase e cronaxia do nervo ciático direito

Na análise da reobase, o resultado apresentado na Figura 13, obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $3,13 \pm 0,05$  volts, no grupo imobilizado  $2,84 \pm 0,06$  volts, no grupo diabético  $2,73 \pm 0,08$  volts e no grupo diabético imobilizado  $3,23 \pm 0,10$  volts. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e imobilizado, controle e diabético, imobilizado e diabético imobilizado, diabético e diabético imobilizado. Na Figura 14 correspondente a cronaxia, obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $52,31 \pm 1,95$   $\mu$ s, no grupo imobilizado de  $59,71 \pm 2,79$   $\mu$ s, no grupo diabético de  $50,57 \pm 2,08$   $\mu$ s e no grupo diabético imobilizado de  $59,75 \pm 1,41$   $\mu$ s, havendo diferença estatisticamente significativa com  $p < 0,05$  entre os seguintes grupos: controle e imobilizado; imobilizado e diabético; diabético e diabético imobilizado.



**Figura 13.** Reobase em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \* ( $p < 0,05$ ) representa significância entre os grupos controle e imobilizado; \*\* ( $p < 0,05$ ) entre os grupos imobilizado e diabético imobilizado; # ( $p < 0,05$ ) entre os grupos diabético e diabético imobilizado; ¥ ( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético. O "n" indica o número de nervos ciáticos direito de ratos.



**Figura 14.** Cronaxia em nervo ciático direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \* ( $p < 0,05$ ) representa significância entre os grupos controle e imobilizado; \*\* ( $p < 0,05$ ) entre os grupos imobilizado e diabético; # ( $p < 0,05$ ) entre os grupos diabético e diabético imobilizado. O “n” indica o número de nervos ciáticos direito de ratos.

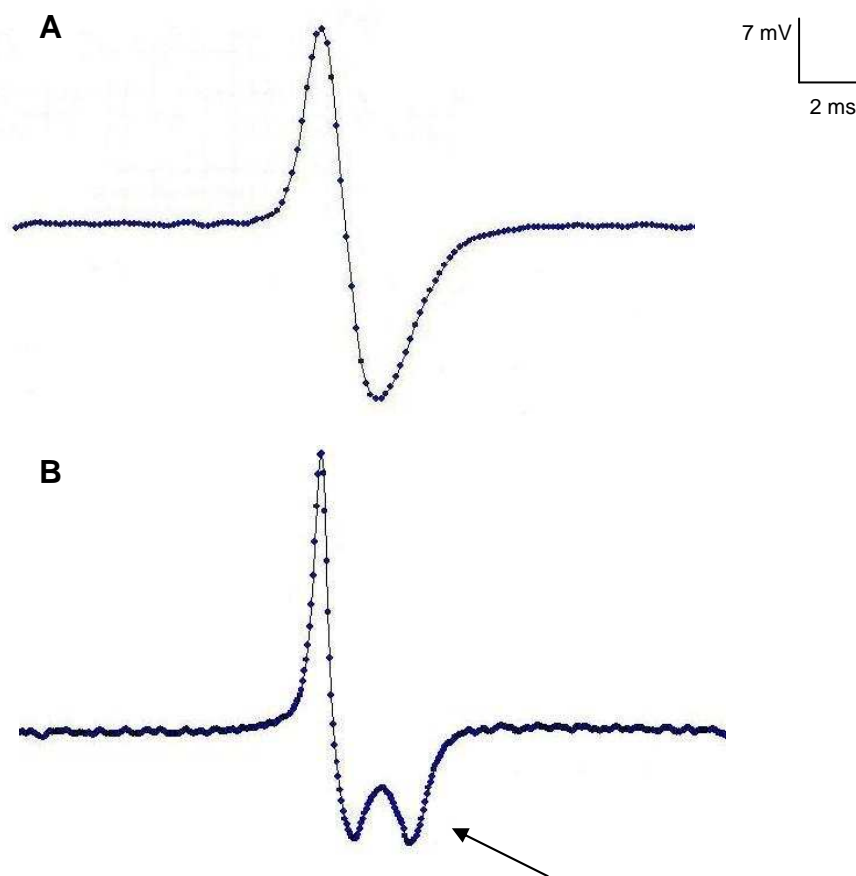
## 5.5 Registro Intracelular

### 5.5.1 Caracterização e distribuição dos neurônios

Este estudo foi baseado nos dados de neurônios do GRD que foram classificados como sem inflexão ( $N_{si}$ ) (Figura 15A) e com inflexão ( $N_{ci}$ ) (Figura 15B), na fase de repolarização do PA, para os grupos controle, imobilizado, diabético e diabético imobilizado.

Os neurônios sem inflexão apresentaram valores superiores para os parâmetros corrente limiar, potencial de repouso,  $dV/dt$  ascendente e  $dV/dt$  descendente comparados com os neurônios com inflexão. Já os parâmetros

resistência de entrada, amplitude e duração do PA apresentam valores inferiores, conforme descritos nas Tabelas 08 e 09 (Apêndice VI e VII).

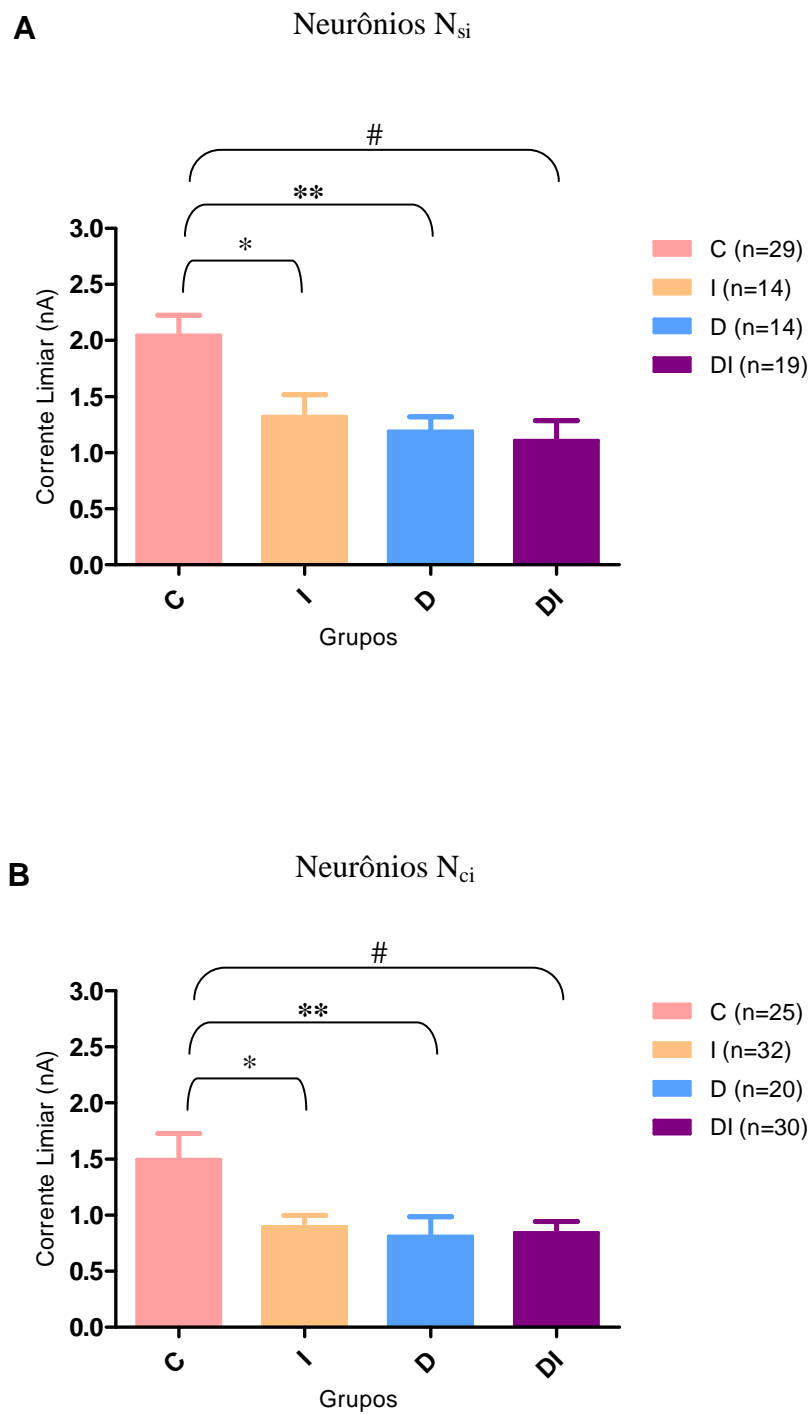


**Figura 15.** Traçados representativos da derivada do potencial de ação nos neurônios sem inflexão ( $N_{si}$ )(A) e com inflexão ( $N_{oi}$ )(B). A seta indica a inflexão presente na fase de repolarização dos neurônios com inflexão.

### 5.5.2 Análise eletrofisiológica da corrente limiar

Na análise da corrente limiar do GRD direito, os resultados apresentados na Figura 16A, correspondentes aos neurônios sem inflexão ( $N_{si}$ ). Nesses neurônios, obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $2,04 \pm 0,17$  nA, no grupo imobilizado  $1,32 \pm 0,19$  nA, no grupo diabético  $1,19 \pm 0,13$  nA e no grupo diabético imobilizado  $1,11 \pm 0,17$  nA. Na Figura 16B, correspondente aos neurônios com inflexão ( $N_{ci}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $1,49 \pm 0,23$  nA, no grupo imobilizado  $0,89 \pm 0,10$  nA, no grupo diabético  $0,81 \pm 0,13$  nA e no grupo diabético imobilizado  $0,84 \pm 0,10$  nA. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos neurônios com e sem inflexão, entre o grupo controle e os grupos imobilizado, diabético e diabético imobilizado, observando-se em ambas as figuras uma redução das médias em relação ao grupo controle.

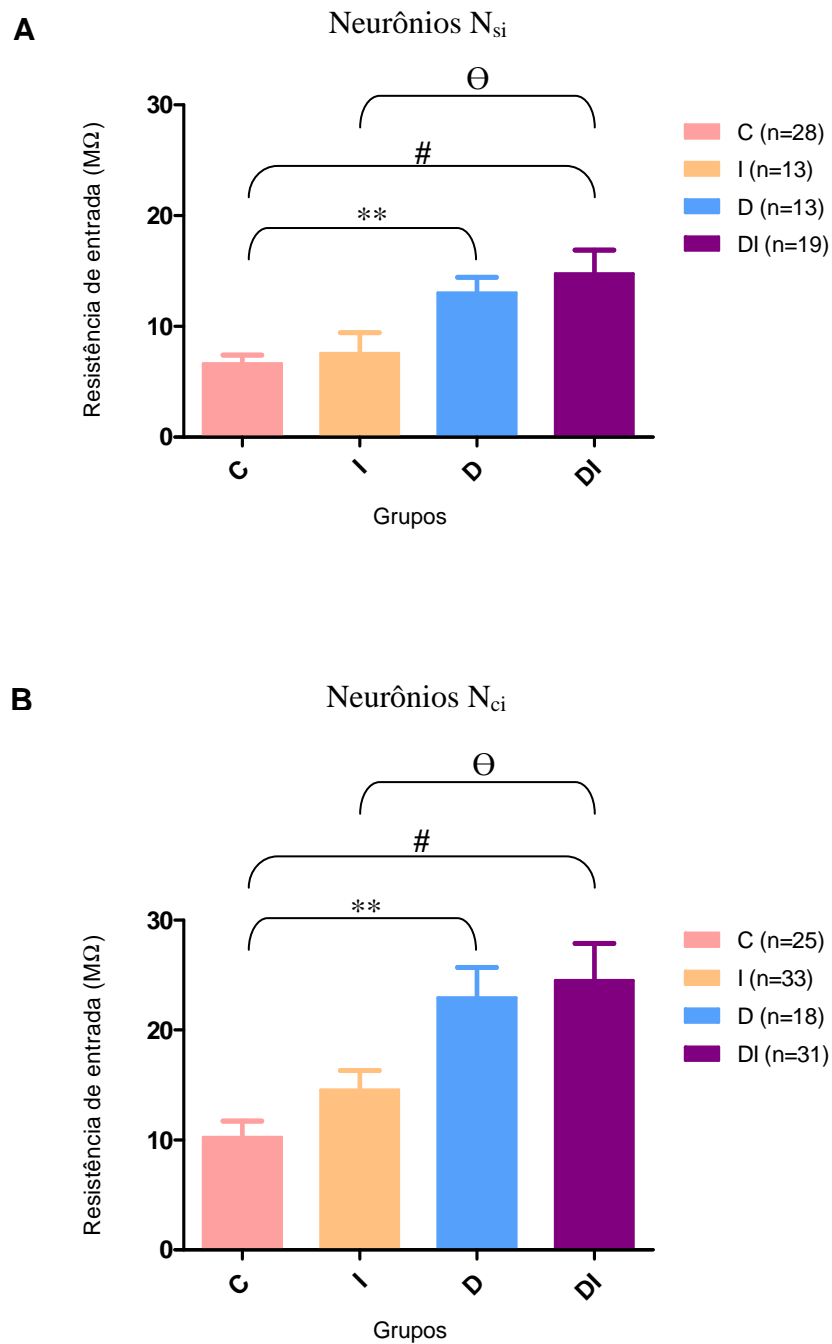




**Figura 16.** Corrente limiar avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \* ( $p < 0,05$ ) representa significância entre os grupos controle e imobilizado; \*\* ( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético; # ( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético imobilizado. O “n” indica o número de células dos gânglios da raiz dorsal de ratos.

### 5.5.3 Análise eletrofisiológica da resistência de entrada

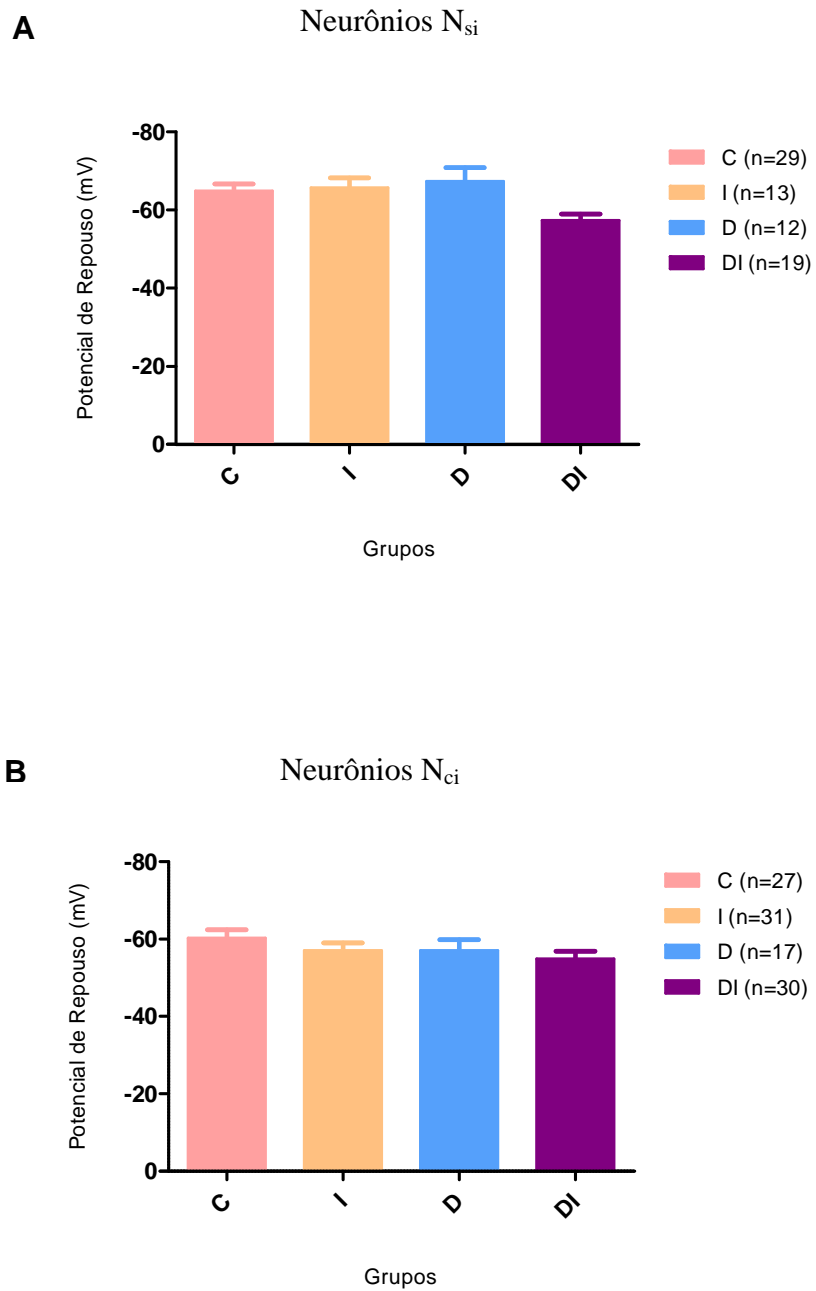
Na resistência de entrada do GRD direito, os resultados apresentados na Figura 17A, correspondentes aos neurônios sem inflexão ( $N_{si}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $6,60 \pm 0,78 \text{ M}\Omega$ , no grupo imobilizado  $7,54 \pm 1,88 \text{ M}\Omega$ , no grupo diabético  $13,00 \pm 1,41 \text{ M}\Omega$  e no grupo diabético imobilizado  $14,77 \pm 2,12 \text{ M}\Omega$ . Na Figura 17B, correspondente aos neurônios com inflexão ( $N_{ci}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $10,24 \pm 1,47 \text{ M}\Omega$ , no grupo imobilizado  $14,55 \pm 1,75 \text{ M}\Omega$ , no grupo diabético  $22,93 \pm 2,77 \text{ M}\Omega$  e no grupo diabético imobilizado  $24,50 \pm 3,37 \text{ M}\Omega$ . Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos  $N_{si}$  (Figura 17A) e  $N_{ci}$  (Figura 17B) entre os seguintes grupos: controle e diabético; controle e diabético imobilizado; imobilizado e diabético imobilizado. Pode-se observar que em ambas as figuras apresentaram uma tendência de aumento das médias em relação ao grupo controle e são inversamente proporcionais aos respectivos resultados da corrente limiar (Figura 16AB).



**Figura 17.** Resistência de entrada avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \*( $p < 0,05$ ) representa significância entre os grupos controle e diabético; \*\*( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético imobilizado; #( $p < 0,05$ ) entre os grupos imobilizado e diabético imobilizado. O “n” indica o número de células dos gânglios da raiz dorsal de ratos.

#### 5.5.4 Análise eletrofisiológica do potencial de repouso

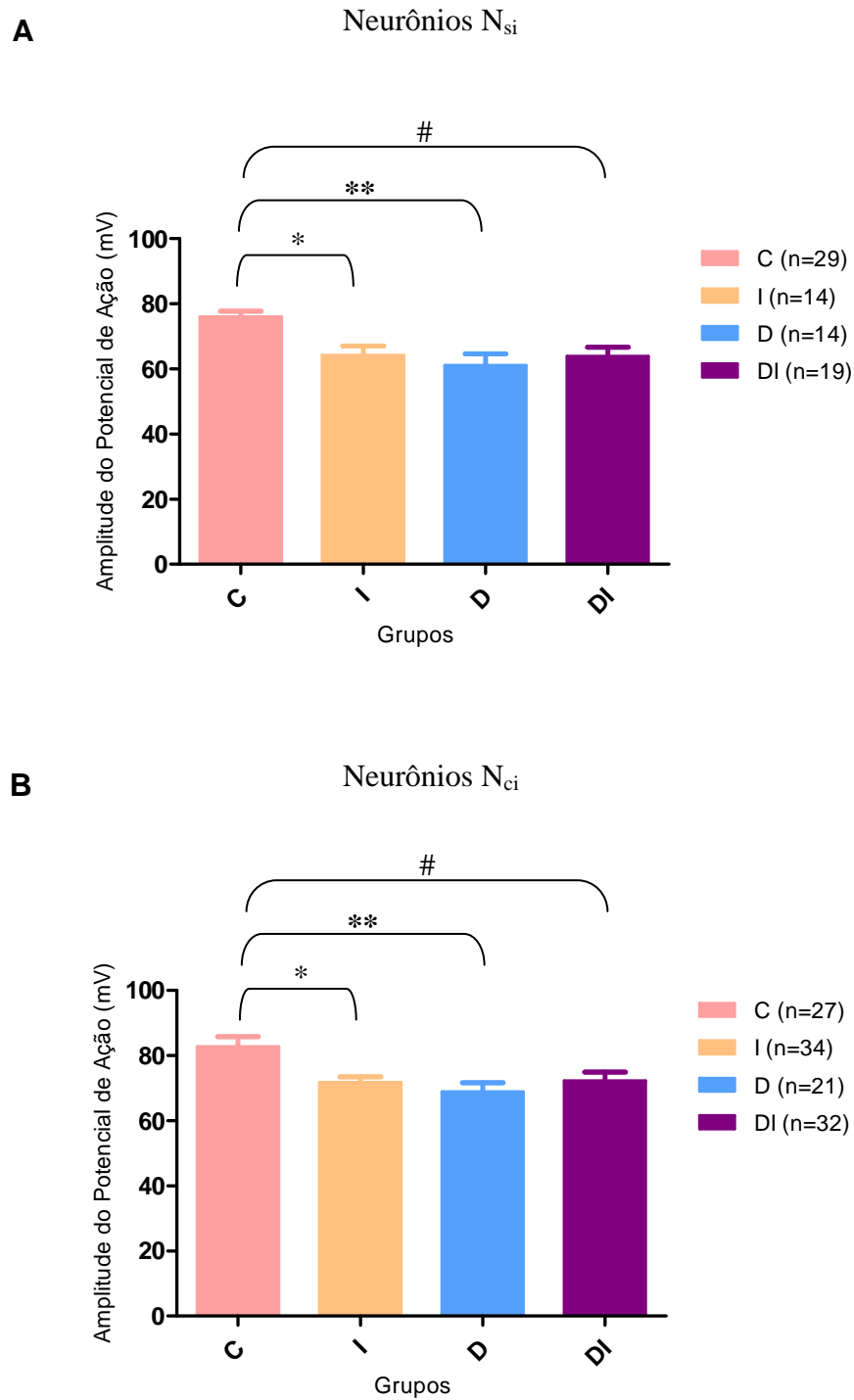
Na Figura 18A representando o potencial de repouso do GRD direito dos neurônios sem inflexão, apresentou média  $\pm$  erro padrão nos grupos controle de  $-64,83 \pm 1,75$  mV, imobilizado  $-65,69 \pm 2,47$  mV, diabético  $-67,33 \pm 3,49$  mV e diabético imobilizado  $-57,26 \pm 1,69$  mV. Na Figura 18B, representando o potencial de repouso do GRD direito dos neurônios com inflexão apresentou média  $\pm$  erro padrão nos grupos controle de  $-60,22 \pm 2,22$  mV, imobilizado  $-57,00 \pm 2,01$  mV, diabético  $-57,00 \pm 2,85$  mV e diabético imobilizado  $-54,83 \pm 2,05$  mV. Não houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).



**Figura 18.** Potencial de repouso avaliado nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). Não houve significância com  $p < 0,05$ . “n” indica o número de células dos gânglios da raiz dorsal de ratos.

### 5.5.5 Análise eletrofisiológica da amplitude do potencial de ação

Na amplitude do potencial de ação do GRD direito, os resultados apresentados na Figura 19A, correspondentes aos neurônios sem inflexão ( $N_{si}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $75,92 \pm 1,75$  mV, no grupo imobilizado  $64,22 \pm 2,79$  mV, no grupo diabético  $61,13 \pm 3,53$  mV e no grupo diabético imobilizado  $63,86 \pm 2,85$  mV. Na Figura 19B, correspondente aos neurônios com inflexão ( $N_{ci}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $82,70 \pm 3,05$  mV, no grupo imobilizado  $71,75 \pm 1,81$  mV, no grupo diabético  $68,83 \pm 2,84$  mV e no grupo diabético imobilizado  $72,17 \pm 2,82$  mV. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos  $N_{si}$  (Figura 19A) e  $N_{ci}$  (Figura 19B), entre o grupo controle e os grupos imobilizado, diabético e diabético imobilizado.

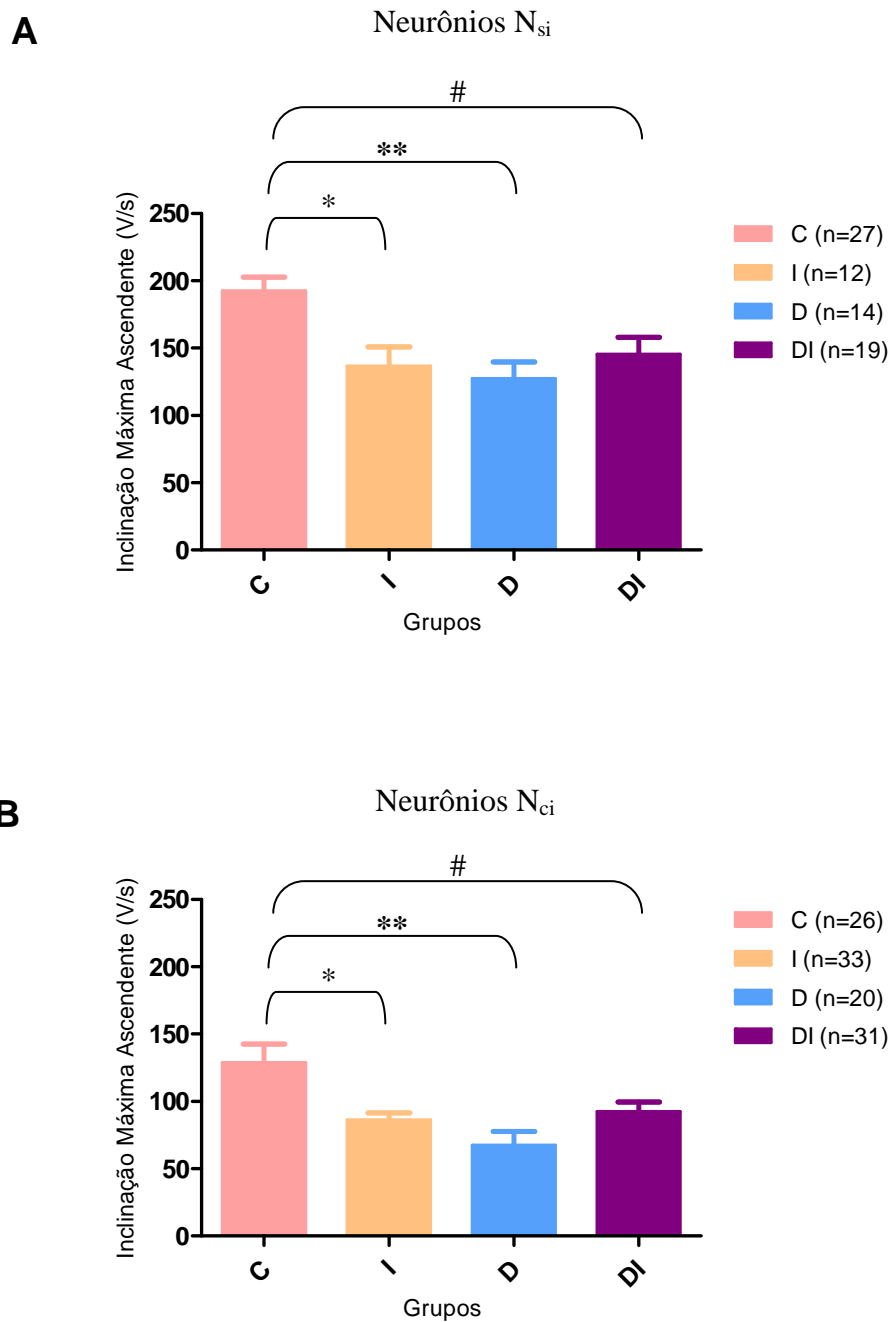


**Figura 19.** Amplitude do potencial de ação avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \* ( $p < 0,05$ ) representa significância entre os grupos controle e imobilizado; \*\* ( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético; # ( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético imobilizado. O “n” indica o número de células dos gânglios da raiz dorsal de ratos.

### 5.5.6 Análise eletrofisiológica da inclinação máxima ascendente ( $dV/dT_{asc}$ )

Na  $dV/dt_{asc}$  do GRD direito, os resultados apresentados na Figura 20A, correspondentes aos neurônios sem inflexão ( $N_{si}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $192,60 \pm 10,26$  V/s, no grupo imobilizado  $136,60 \pm 14,44$  V/s, no grupo diabético  $127,40 \pm 12,29$  V/s e no grupo diabético imobilizado  $145,60 \pm 12,44$  V/s. Na Figura 20B, correspondente aos neurônios com inflexão ( $N_{ci}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $128,80 \pm 13,83$  V/s, no grupo imobilizado  $86,04 \pm 5,42$  V/s, no grupo diabético  $67,48 \pm 10,19$  V/s e no grupo diabético imobilizado  $92,34 \pm 7,30$  V/s. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos  $N_{si}$  (Figura 20A) e  $N_{ci}$  (Figura 20B), entre o grupo controle e os grupos imobilizado, diabético e diabético imobilizado.

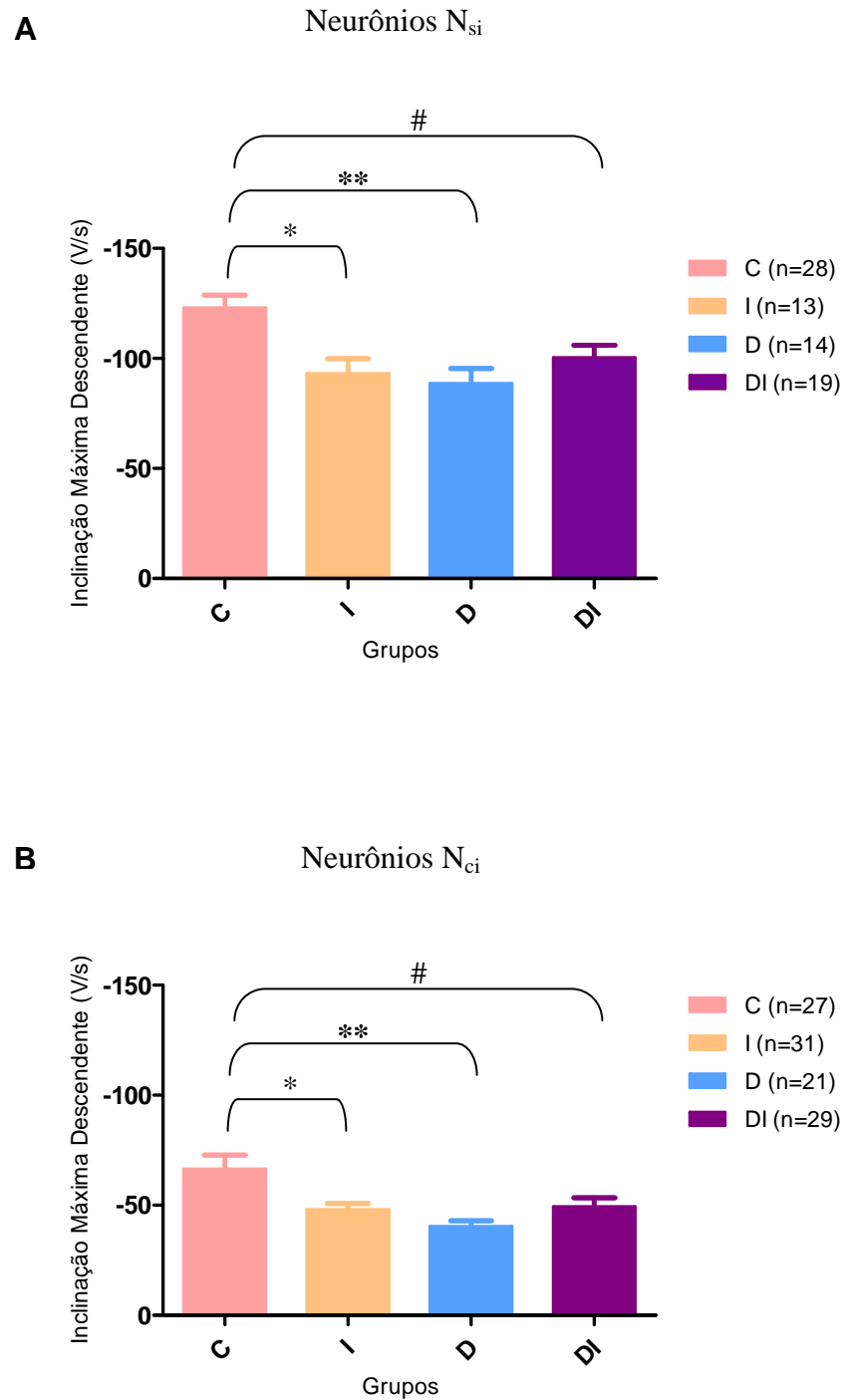




**Figura 20.** Inclinação máxima ascendente avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \*( $p < 0,05$ ) representa significância entre os grupos controle e imobilizado; \*\*( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético; #( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético imobilizado. O “n” indica o número de células dos gânglios da raiz dorsal de ratos.

### 5.5.7 Análise eletrofisiológica da inclinação máxima descendente ( $dV/dT_{desc}$ )

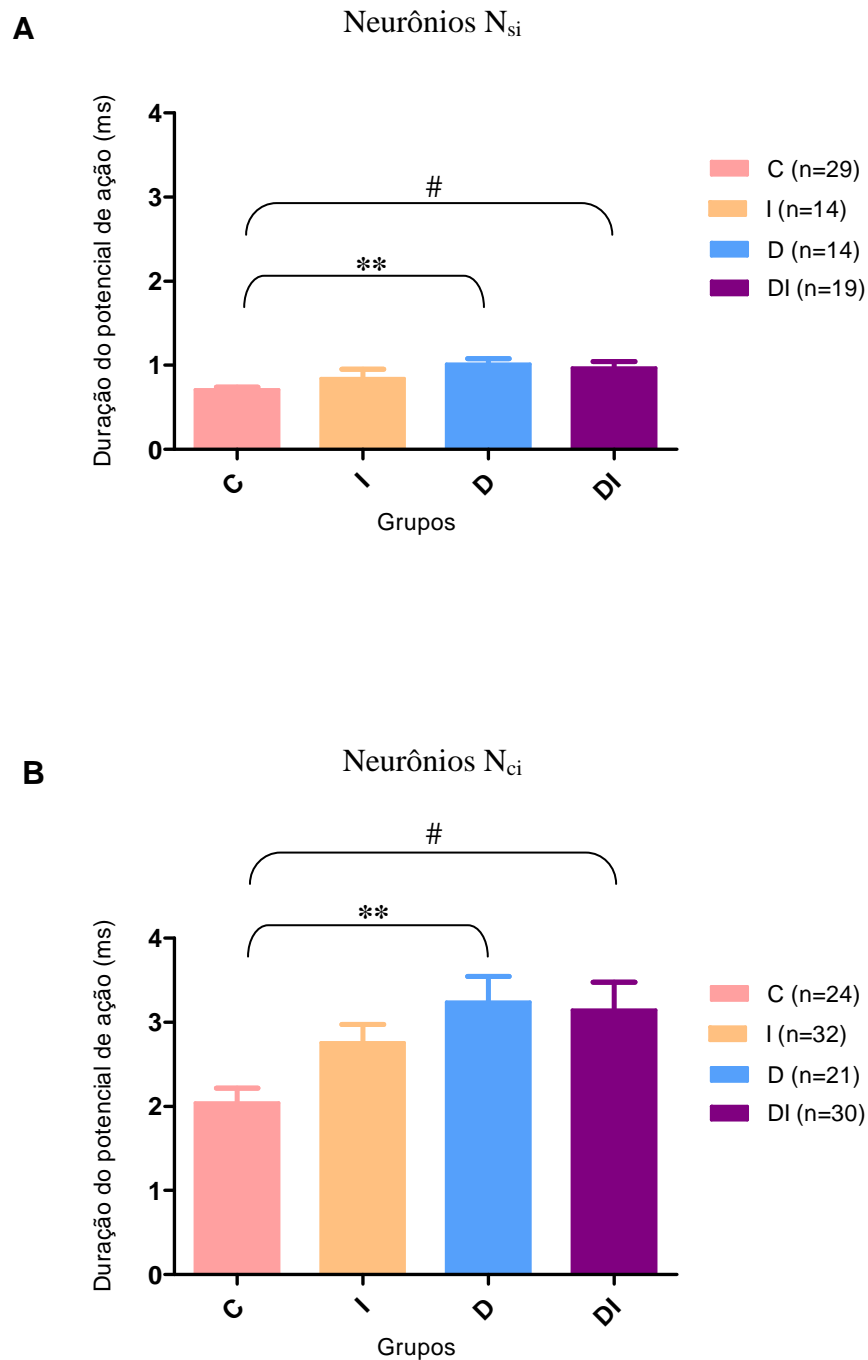
Na  $dV/dt_{desc}$  do GRD direito, os resultados apresentados na Figura 21A, correspondentes aos neurônios sem inflexão ( $N_{si}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $-122,9 \pm 5,70$  V/s, no grupo imobilizado  $-93,00 \pm 6,80$  V/s, no grupo diabético  $-88,46 \pm 6,83$  V/s e no grupo diabético imobilizado  $-100,20 \pm 5,83$  V/s. Na Figura 21B, correspondente aos neurônios com inflexão ( $N_{ci}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $-66,35 \pm 6,39$  V/s, no grupo imobilizado  $-47,91 \pm 2,78$  V/s, no grupo diabético  $-40,33 \pm 2,42$  V/s e no grupo diabético imobilizado  $-49,19 \pm 4,09$  V/s. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos  $N_{si}$  (Figura 21A) e  $N_{ci}$  (Figura 21B), entre o grupo controle e os grupos imobilizado, diabético e diabético imobilizado.



**Figura 21.** Inclinação máxima descendente avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \*( $p < 0,05$ ) representa significância entre os grupos controle e imobilizado; \*\*( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético; #( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético imobilizado. O “n” indica o número de células dos gânglios da raiz dorsal de ratos.

### 5.5.8 Análise eletrofisiológica da duração do potencial de ação

Na duração do potencial de ação do GRD direito, os resultados apresentados na Figura 22A, correspondentes aos neurônios sem inflexão ( $N_{si}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $0,71 \pm 0,02$  ms, no grupo imobilizado  $0,84 \pm 0,10$  ms, no grupo diabético  $1,01 \pm 0,06$  ms e no grupo diabético imobilizado  $0,96 \pm 0,07$  ms. Na Figura 22B, correspondente aos neurônios com inflexão ( $N_{ci}$ ), obteve-se no grupo controle a média  $\pm$  erro padrão de  $2,04 \pm 0,17$  ms, no grupo imobilizado  $2,75 \pm 0,21$  ms, no grupo diabético  $3,24 \pm 0,30$  ms e no grupo diabético imobilizado  $3,14 \pm 0,33$  ms. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), nos  $N_{si}$  Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos  $N_{si}$  (Figura 22A) e  $N_{ci}$  (Figura 22B), entre o grupo controle e os grupos diabético e diabético imobilizado.



**Figura 22.** Duração do potencial de ação avaliada nos neurônios sem inflexão (A) e com inflexão (B) do GRD direito dos grupos controle (C), imobilizado (I), diabético (D) e diabético imobilizado (DI). O lado direito foi o lado imobilizado nos animais submetidos à imobilização. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  EPM (ANOVA). \*( $p < 0,05$ ) representa significância entre os grupos controle e diabético; \*\*( $p < 0,05$ ) entre os grupos controle e diabético imobilizado. O "n" indica o número de células dos gânglios da raiz dorsal de ratos.

## 6 DISCUSSÃO

---

A imobilização de um membro do corpo acarreta limitações físicas provisórias podendo resultar numa alteração de sua funcionalidade. Entretanto, esta situação poderá agravar-se quando o paciente for diabético. Tendo em vista poucos estudos relatados na literatura correlacionando imobilização e diabetes, o Laboratório de Eletrofisiologia da Universidade Estadual do Ceará (UECE), propôs investigar a caracterização dos efeitos da imobilização e da interação imobilização/diabetes em animais experimentais, avaliando os parâmetros eletrofisiológicos do nervo ciático e gânglio da raiz dorsal, os quais podem contribuir para um melhor entendimento dos efeitos da imobilização e da interação imobilização/diabetes.

No presente trabalho optou-se pelo estudo da imobilização da pata direita de ratos associada ou não ao diabetes experimental, tendo como base a análise de quatro grupos experimentais: controle, imobilizado, diabético, diabético imobilizado, acompanhados por um período de seis semanas, sendo as primeiras quatro semanas de diabetes e mais duas semanas de imobilização.

O método proposto de imobilização por Carvalho (2001), não foi adotado por apresentar o aparecimento de edemas na região imobilizada. Então, o método de imobilização foi alterado utilizando esparadrapo impermeável que envolveu o membro posterior direito. A imobilização realizada nos grupos imobilizado e diabético imobilizado foi mantida por duas semanas, sendo necessária a manutenção em virtude da diurese e desgaste do esparadrapo.

A indução do diabetes experimental utilizando-se de substâncias químicas que destroem seletivamente as células  $\beta$  do pâncreas é extremamente conveniente, e de fácil manuseio devido às suas semelhanças clínicas, laboratoriais e histopatológicas com o diabetes do ser humano (GREENE *et al.*, 1975; JAKOBSEN, 1976; MERING; MINKOWSKI, 1889; HETHERINGTON; RANSON, 1940; MORDES; ROSSINI, 1985). Por essa razão, em nosso trabalho foi utilizada a droga streptozotocina.

Os animais do grupo controle e imobilizado apresentaram médias de glicemia de jejum compatíveis com o metabolismo normal da glicose na espécie, em

todo período experimental. Já, os grupos diabético e diabético imobilizado mostraram níveis glicêmicos significativamente elevados, decorrentes do diabetes induzido pela estreptozotocina (SPADELLA *et al.*, 1996, 1998, 2000, 2002, 2005; LERCO *et al.*, 2006).

Na análise da massa corpórea ao final das seis semanas do período experimental, houve um déficit da massa corporal em relação a idade, nos grupos imobilizado e diabético imobilizado em relação aos grupos controle e diabético, devido possivelmente, a atrofia muscular decorrente da imobilização da pata traseira direita.

A ingesta alimentar apresentou-se alterada nos grupos diabético e diabético imobilizado. A polifagia, produzida em resposta à diminuição relativa ou absoluta de glicose no interior das células, em decorrência da redução na produção e/ou ação da insulina (COSTA; ALMEIDA NETO, 2004), é um sinal detectado nos ratos diabéticos utilizados neste estudo. Nos animais do grupo diabético e diabético imobilizado, os valores da variável ingestão alimentar foram maiores que os apresentados pelos grupos controle e imobilizado, respectivamente.

Quando analisada a ingesta alimentar os grupos imobilizado e diabético imobilizado não deixaram de consumir o alimento comparados aos grupos controle e diabético, confirmando assim que, durante as duas semanas de imobilização, os animais não deixaram de se alimentar.

Os dados obtidos dos parâmetros eletrofisiológicos demonstraram que de uma maneira geral houve uma redução da primeira componente do potencial de ação composto da fibra do nervo ciático e uma tendência ao aumento da segunda componente para os grupos imobilizado, diabético e diabético imobilizado comparados com o grupo controle. A diminuição da primeira componente é provavelmente devida ao comprometimento das fibras motoras decorrentes das alterações da imobilização e da diabetes. Como no presente estudo utilizamos apenas o nervo, esta alteração da primeira componente mostra uma alteração primária do ciático. Este é um aspecto importante a ressaltar, pois é sabido que com a imobilização, há uma redução de unidades motoras distais em junções neuromusculares, como também, alteração do mecanismo de disparo subsequentes à imobilização, que representam modificação do grau de atividade neural, vista através da eletroneuromiografia sobre o tecido muscular, podendo ter alteração no

sistema nervoso periférico, gerando um padrão de lesões degenerativas que começam nos terminais distais, resultando em alterações sensitivas (McCOMAS *et al.*, 1971). Por outro lado o aumento na segunda componente do PAC do nervo ciático pode representar um aumento da excitabilidade de neurônios sensoriais, que inclui componentes inflamatórios a nível tecidual. Esse aumento da excitabilidade quando relacionado ao gânglio da raiz dorsal (GRD), é devido ao aumento de canais de sódio e cálcio ao nível celular (NOKES *et al.*, 1991; CATTERALL *et al.*, 2001; HONG; WILEY, 2006).

O nervo ciático é constituído em sua maior parte por fibras do tipo A, segundo a classificação de Erlanger e Gasser, apresentando os subtipos A $\alpha$ , A $\beta$ , A $\gamma$ , A $\delta$  e fibras do tipo C. Estas fibras apresentam diâmetros, velocidades, limiar de excitabilidade e possivelmente populações de canais de Na<sup>+</sup> diferentes (NOKES *et al.*, 1991; CATTERALL; MACKIE, 1996; JUNGE, 1976). A primeira componente do potencial de ação é constituída pelas respostas das fibras do tipo A $\alpha$  e A $\beta$ . A segunda e terceira componentes são constituídas por respostas de fibras sensoriais e motoras (A $\gamma$  e A $\delta$ ).

A amplitude pico-a-pico reflete a quantidade de fibras que estão sendo despolarizadas simultaneamente. Os resultados apresentados demonstraram que um aumento da frequência de estímulo gera uma diminuição da amplitude do sinal de todos os grupos. Os valores da amplitude dos grupos imobilizado e diabético foram inferiores, comparados com o grupo controle. No grupo diabético imobilizado ocorreu o inverso, sendo superior ao grupo controle até a frequência de 50 Hz por apresentar uma maior amplitude negativa. Ainda não temos explicação para o fato da amplitude pico-a-pico no grupo diabético imobilizado ser superior ao grupo controle nas frequências de estimulação de 0,2 Hz a 50 Hz.

Os valores da velocidade de condução da primeira componente do nervo ciático direito foram menores nos grupos diabético imobilizado, imobilizado e diabético em relação ao controle. Havendo diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos grupos imobilizado e diabético imobilizado em relação ao controle nas frequências de 0,2 Hz até 100 Hz. Já a velocidade de condução da segunda componente, embora houvesse uma discreta redução das velocidades de condução dos grupos em relação ao grupo controle, não foi significativa.



A alteração do axônio pode ser originada de dois grandes grupos: degeneração axonal e desmielinização (LUNDBORG, 2000). Malone *et al.* (1996) encontraram uma diminuição do diâmetro da fibra nervosa, da espessura da bainha de mielina e do número de fibras mielinizadas de maior calibre, em animais com diabetes induzido na 6ª semana de vida. Esses dados estão de acordo com a redução da amplitude e da velocidade de condução do primeiro componente do PAC aqui documentadas. Os animais em processo de maturação, tanto estrutural quanto funcional, do nervo periférico, e expostos à hiperglicemia crônica, apresentaram maiores alterações patológicas quando comparados aos ratos com nervos já maduros e submetidos às mesmas condições experimentais. Os autores sugerem que modelos-animais de neuropatia diabética que utilizem ratos com o sistema nervoso ainda imaturo podem não ser apropriados para compreender o processo que comumente ocorrem em humanos, os quais tornam-se diabéticos após a maturação dos nervos periféricos. No presente estudo trabalhamos com ratos maduros (iniciando com ratos de oito semanas) e as alterações eletrofisiológicas encontradas são coerentes com o que se esperaria das alterações morfológicas escrita por Malone *et al.* (1996).

Os nervos mielinizados apresentam uma condução saltatória do potencial de ação, pois a excitabilidade destes nervos está localizada nos nódulos de Ranvier. A mielina age como um conjunto de resistores e capacitores em paralelo, sem participação direta na geração do potencial de ação (FALK; STALBERG, 1995). Nos segmentos desmielinizados ou durante a remielinização parcial, a diminuição da espessura de mielina resulta em um aumento da capacitância e condutância internodal, resultando na perda ou diminuição de corrente local. As falhas para se ativar o nódulo de Ranvier subsequente resultam em bloqueio de condução, porém quando há um retorno da função, os impulsos se propagam mais lentamente do que o normal, porque a corrente dissipada despende um maior tempo para gerar um potencial de ação (KIMURA, 1984).

A velocidade de condução nervosa em um nervo saudável depende do diâmetro da fibra nervosa, da relação entre o diâmetro do axônio e da bainha de mielina e da distância entre os nódulos de Ranvier (FALK; STALBERG, 1995). A desmielinização segmentar das fibras nervosas, comum no diabetes, produz um bloqueio do impulso nervoso, o qual é restabelecido após o início do processo de

remielinização. No processo de remielinização das fibras nervosas são gerados novos nódulos de Ranvier, os quais apresentam uma menor distância entre si, resultando em uma mudança das características funcionais do nervo correspondente (FALK; STALBERG, 1995; HILBURN, 1996).

Segundo Karsidag *et al.* (2005) as alterações de condução nervosa são mais freqüentes nas fibras mielinizadas de maior diâmetro nos estágios iniciais do diabetes, embora também haja um envolvimento das fibras desmielinizadas e mielinizadas de menor calibre, especialmente nas extremidades inferiores. As alterações da condução nervosa no presente estudo parecem haver sido mais profundas nos axônios de maior diâmetro (aqueles com maior velocidade de condução). Este achado concorda com os dados de Karsidag *et al.* (2005).

Em relação aos nervos dos ratos que sofreram apenas imobilização, as alterações neuronais eletrofisiológicas são muito semelhantes aquelas do animal diabético. Não encontramos na literatura dados de alterações neurais morfológicas por imobilização com protocolo similar ao nosso, aqui empregado. Contudo a similaridade das alterações funcionais com o diabetes demonstra que a imobilização pode causar modificações importantes do nervo.

Durante a imobilização há um período adaptativo funcional do organismo em reorganizar esta velocidade de condução, já que possivelmente há uma atrofia na estrutura muscular. E quando há interação diabetes/imobilização sugere-se haver uma redução da velocidade de condução também pela alteração metabólica e sistêmica do organismo. Um dado dos nossos achados nos pareceu surpreendente, trata-se do conspícuo aumento da amplitude da segunda componente do PAC. Não temos ainda uma explicação clara para este fenômeno. Uma hipótese que nos parece atraente, contudo, é aquela de que fibras de velocidade de condução de primeira componente passarem a ter velocidade de condução de segunda componente, e assim passarem a reforçar a amplitude da segunda componente. A velocidade de condução pode ser diminuída por redução da corrente de  $\text{Na}^+$  ou por aumento da capacitância de membrana, como já discutido. Mas, independentemente da origem da redução, ela iria aumentar o número de potenciais com velocidade de segunda componente.

A reobase é a intensidade mínima necessária para se obter uma despolarização da fibra através de um impulso de longa duração. Em nosso estudo,

houve uma redução das médias nos grupos diabético e imobilizado em relação ao controle, resultando um aumento da excitabilidade nervosa. Este aumento da excitabilidade no nervo ciático está correlacionado com a redução da corrente limiar no gânglio da raiz dorsal que sofre alterações dos canais de sódio e potássio. No grupo diabético imobilizado observou-se o inverso, apresentando um aumento da média comparada com os demais grupos. Uma hipótese para explicar este aumento da reobase no grupo diabético imobilizado é que talvez o curso temporal das alterações seja acelerado, pois é sabido da literatura que no início da diabetes há aumento da excitabilidade e depois, com a progressão da doença há uma diminuição.

Os resultados da cronaxia demonstraram um aumento da média nos grupos que sofreram imobilização (imobilizado, diabético imobilizado) em relação aos grupos controle e diabético, havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e imobilizado; imobilizado e diabético; diabético e diabético imobilizado. O aumento da cronaxia do nervo pode-se originar de uma diminuição da mielinização do axônio ou de uma diminuição de canais de sódio no nodo de Ranvier. No presente estudo, com a imobilização houve uma tendência do aumento da excitabilidade (diminuição da reobase) e aumento da cronaxia. Esse dado poderia sugerir que haveria diminuição na imobilização, mas esta hipótese necessita de confirmação por estudos morfológicos.

A forma do potencial de ação registrado intracelularmente está relacionada com a modalidade sensorial conduzida pelo neurônio. McCarthy e Lawson (1987) mostraram que os neurônios do gânglio da raiz dorsal que expressam substância P e gene relacionado à calcitonina (dois peptídeos ligados a nocicepção) estão associados com os PAs que apresentam uma inflexão na fase de repolarização. Estes neurônios, por sua vez, estão relacionados com as células de menor diâmetro que conduzem lentamente o PA, sendo representados predominantemente por neurônios sensoriais do tipo A $\delta$  e C. Os PAs sem inflexão caracterizam neurônios de grande diâmetro do tipo A $\alpha/\beta$  muitos dos quais são mecanorreceptores (McCARTHY; LAWSON, 1997; DJOUHRI *et al.*, 1998; RUSH *et al.*, 2007). Com base na informação contida na literatura científica e a construção do plano de fase desses neurônios, nós classificamos N<sub>si</sub> como neurônios mecanorreceptores e N<sub>ci</sub> como nociceptores.

Estudos anteriores demonstraram que os neurônios nociceptivos apresentaram duração e amplitude maiores do que os neurônios mecanoceptivos. Estas observações estão de acordo com os valores de controle obtidos por nós neste estudo, o que sugere uma classificação fidedigna dos nossos estudos.

Em relação a corrente limiar no GRD, houve uma redução das médias dos grupos imobilizado, diabético e diabético imobilizado comparados com o grupo controle. Este fato deve-se ao aumento da excitabilidade provavelmente devida e alteração nos canais de sódio e/ou potássio.

As alterações nos canais de sódio e potássio podem implicar alterações do fluxo de íons do fluxo iônico normalmente a membrana citoplasmática, em repouso, é mais permeável aos íons  $K^+$  e os valores de potencial de membrana aproximam-se do valor do potencial eletroquímico deste íon (HODGKIN; HUXLEY, 1939; HODGKIN; KATZ, 1949). Quando a membrana é excitada, ocorre o aumento de sua condutância ao  $Na^+$ , direcionando esse íon para o interior da célula a favor de um gradiente eletroquímico. Esse processo promove uma despolarização. Esta, ao atingir o limiar de excitabilidade, desencadeia o potencial de ação, considerado como a resposta tipo tudo ou nada, que se propaga por toda a fibra nervosa (BEST; TAYLOR, 1990; BERNE; LEVY, 2004). O potencial de ação ocorre com uma inversão no potencial de membrana, aproximando-o do valor do potencial eletroquímico do  $Na^+$  (HODGKIN; HUXLEY, 1939; HODGKIN; KATZ, 1949). Dessa forma, para que haja o potencial de ação neural, é necessário que haja um grande aumento da condutância ao  $Na^+$  em relação à condutância ao  $K^+$ . Assim, o aumento da excitabilidade no neurosoma do GRD do rato diabético imobilizado deve-se ao aumento do número de canais de  $Na^+$  da membrana ou alterações dos parâmetros cinéticos dos canais de  $Na^+$  ou uma diminuição da condutância de membrana ao  $K^+$  ou ambos. No presente estudo, como houve tendência aumento na resistência de entrada da membrana, é muito provável que tenha havido uma diminuição na condutância ao  $K^+$ , a qual contribui para o aumento da excitabilidade.

Coincidentemente com a fase de repolarização do PA, a condutância aumentada aos íons  $Na^+$  logo cessa e a permeabilidade aos íons  $K^+$  é rapidamente restaurada, fazendo com que o potencial de membrana retorne ao seu estado original de negatividade através da abertura dos canais de  $K^+$  e, principalmente, através de um processo chamado inativação do canal de  $Na^+$ . O potencial de ação

nervoso é um fenômeno muito rápido, da ordem de apenas alguns milissegundos. A amplitude do potencial de ação demonstrou ser amplamente dependente da concentração externa de  $\text{Na}^+$  e insensível à diminuição do  $\text{K}^+$  extracelular para valores inferiores aos fisiológicos (BEST; TAYLOR, 1990).

No que concerne à resistência de entrada da membrana do GRD, os resultados demonstraram uma tendência a aumento dos grupos diabético imobilizado, diabético e imobilizado em relação ao controle, semelhante à duração do PA. Este fato deve-se muito provavelmente ao fechamento dos canais de potássio, o que causa a diminuição da permeabilidade dos íons potássio, aumento da duração do PA e da excitabilidade.

Uma diminuição da condutância ao  $\text{K}^+$  pode resultar ou não na alteração do potencial de repouso. Isso se deve a que algumas condutância ao  $\text{K}^+$ , como a da corrente M, podem não incluir a voltagem transmembrana ao potencial de repouso na sua faixa da modificação do estado da ativação dependente de voltagem. No presente estudo houve uma tendência à alteração do potencial de repouso apenas nos neurônios sem inflexão do grupo diabético imobilizado em relação ao controle. Esses dados sugerem, portanto que a alteração da condutância ao  $\text{K}^+$ , se real, ocorreu apenas para uma condutância que não contribuiu de maneira importante para o potencial de repouso. Uma candidata atraente é a corrente M de potássio. Esta corrente M ( $I_M$ ) é carregada por íons potássio, ativada e desativada lentamente e não possui mecanismo de inativação. Essa corrente está ligada ao controle da geração do PA, pois ela atua na repolarização da membrana celular em direção ao valor de repouso do potencial de membrana. Além disso, a inibição da  $I_M$  resulta em pequena ou nula despolarização, aumento da resistência da membrana e um conspícuo aumento na excitabilidade celular (IKEDA; KAMMERMEIER, 2002).

O potencial de ação foi alterado. Houve uma tendência à redução significativa e da  $dV/dT$  máxima ascendente e da  $dV/dT$  máxima descendente, sugerindo diminuição dos canais de  $\text{Na}^+$  e fechamento de canais de  $\text{K}^+$ . Esse dado corrobora que o aumento da excitabilidade foi devido a uma diminuição da condutância ao potássio, tornando assim também mais lenta a repolarização e aumento da duração.

## 7 CONCLUSÃO

---

1. Houve uma redução da amplitude e da velocidade de condução da 1ª componente do potencial de ação composto da fibra do nervo ciático e um aumento da 2ª componente em relação ao controle para os grupos imobilizados, diabéticos e diabéticos imobilizados. Sugerindo um comprometimento das fibras motoras decorrentes das alterações da imobilização e da diabetes, e um aumento da excitabilidade dos neurônios sensoriais.

2. Houve de uma maneira geral uma tendência a aumento da excitabilidade medida através de vários parâmetros, que possivelmente resulta de uma diminuição da condutância de repouso ao potássio, já que nos neurossomas do GRD houve aumento da resistência de membrana e diminuição da  $dV/dT$  ascendente e  $dV/dT$  descendente.

3. Devido a não alteração do potencial de repouso, sugere-se que a alteração da excitabilidade se deva principalmente ao bloqueio da corrente M de potássio.

## REFERÊNCIAS

---

AIDLEY, D. J. The physiology of excitable cells. 4 ed. Cambridge: Cambridge University Press 35 – 71, 1998.

ALLEN, D. T.; KIERNAN, J. A. Permeation of proteins from the blood into peripheral nerves and ganglia. *Neuroscience*, 59: 755-764, 1994.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION AND AMERICAN ACADEMY OF NEUROLOGY. Proceedings of a consensus development conference on standardized measures in diabetic neuropathy. *Diabetes Care*; 15:1080-107, 1992.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. American Academy of Neurology Report and recommendations of the San Antonio Conference on Diabetic Neuropathy Consensus Statement. *Diabetes Care*;11:592-7, 1988.

ARDUINO, F. Diabetes Mellitus e suas complicações. Ed. Rio de Janeiro; p.249-341, v.1, 1980.

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; NETO, A. G. F.; RODRIGUES, C. J. Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica. 2.ed. Barueri: Manole, 2003.

BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. *Physiology*. 5<sup>th</sup> edition. Ed. Mosby, St. louis, USA, 2004.

BEST, C.; TAYLOR, N. *Physiological basis of medical practice*. 12 ed. Baltimore: Willians & Wilkins. 24-46, 1990.

BLACK, J. A.; DIB-HAJJ, S.; McNABOLA, K.; JESTE, S.; RIZZO, M. A.; KOCSIS, J. D.; WAXMAN, S. G. Spinal sensory neurons express multiple sodium channel  $\alpha$ -subunit mRNAs. *Molecular Brain Research*, v. 43, p.117-131,1996.

BOOTH, F. W. Effect of immobilization on skeletal muscle. *J Appl. Physiol.* 52 (2) 1113-1118, 1982.

BOOTH, F. W.; KELSO, J. R. Production of rat muscle atrophy by cast fixation. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v. 34 p. 404-406, March,1973.

BROWN, M. J.; SUMNER, A. J.; GREENE, D. A.; DIAMOND, S. M.; ASBURY, A. K. Distal neuropathy in experimental diabetes mellitus. *Ann Neurol*; 8: 168-78, 1980.

BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* ; 414:813-20, 2001.

CAMPBELL, D. T. Large and small vertebrate sensory neurons express different Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> channel subtypes. *Neurobiology*, v. 89, p. 9569-9573, 1992.

CARVALHO, C. M. M. Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético. Dissertação (Mestrado) Interunidades em Bioengenharia, Universidade de São Paulo, 2001.

CATTERALL, W.; MACKIE, K. Local anesthetic., 1996. In: GOODMAN, L.S; GILMAN, A. The pharmacological basis of therapeutics. 9.ed. USA: Mcgraw-Hill Companies Inc., p.95-166, 2001.

CATTERALL, W.; MACKIE, K. Local anesthetic. In: GOODMAN, L.S; GILMAN, A. The pharmacological basis of therapeutics. 9.ed. USA: Mcgraw-Hill Companies Inc., p.331-347, 1996.

CHANG, S. K; LUNG, D. D. Alterations in the baroreceptor reflex control of heart rate in streptozotocin diabetic rats. *J Molec Cell Cardiol*; 18: 617-24, 1986.

COSTA, A. A., ALMEIDA NETO, J. S. Manual de diabetes: educação, alimentação, medicamentos e atividades físicas. 4.ed. São Paulo: Savier, p.204, 2004.

DEVOR, M. Unexplained peculiarities of the dorsal root ganglion. *Pain Supplement*, 6: S27-S35, 1999.

DJOUHRI, L.; JBLEAZARD, L.; LAWSON S. N. Association of somatic action potential shape with sensory receptive properties in guinea-pig dorsal root ganglion neurons. *Journl of Physiology*, v. 513, p. 857-872, 1998.

DYCK, P. J; GIANNINI, C. Pathologic alteration in the diabetic neuropathies of human. *Neurophatol Exp Neurol*; 55: 1181-93, 1996.

DYCK, P. J; LAIS, A.; KARNES, J. L.; O'BRIEN P.; RIZZA R. Fiber loss is primary and multifocal in sural nerves in diabetic polyneuropathy. *Ann Neurol*; 19(5):425-39, 1986.



ECKBERG, D. L.; HARKINS, S. W.; FRISCH, J. M.; MUSGRAVE, G. E.; GARDNER, D. F. Baroreflex control of plasma norepinephrine and heart rate period in healthy subjects and diabetic patients. *J Clin Invest*; 78: 366-74, 1986.

EVANS, J. S.; GERTSEN, G. C.; MANN, K. M.; OWEN, S. P. Antitumor and hyperglycemic activity of streptozotocin (NSC-37917) and its cofactor, U-15, 774. *Cancer Chemother Rep*; 48: 1-6, 1965.

FACER, P. *et al.* Differential expression of the capsaicin receptor TRPV1 and related novel receptors TRPV3, TRPV4 and TRPM8 in normal human tissues and changes in traumatic and diabetic neuropathy. *BMC Neurology*, 7-11, 2007.

FALCK, B.; STALBERG, E. Motor nerve conduction studies: measurement principles and interpretation of findings. *Journal of Clinical Neurophysiology*. v.12, p.254-79, 1995.

FALEMPIN, M.; MOUNIER, Y. Muscle atrophy associated with microgravity in rat: basic data for countermeasures. *Acta Astronautica*. 42, 489-502, 1998.

FELDMAN, E. L. Oxidative stress and diabetic neuropathy: a new understanding of an old problem. *J Clin Invest*; 111:431-3, 2003.

FJELL, J.; HJELMSTROM, P.; HORMUZDIAR, W.; MILENKOVIC, M.; AGLIECO, F.; TYRRELL, L.; DIB-HAJJ, S.; WAXMAN, S. G.; BLACK, J. A. Localization of the tetrodotoxin-resistant sodium channel Na<sub>v</sub> in nociceptors. *Neuroreport*, v. 11, p. 199-202, 2000.

FOX, A.; EASTWOOD, C.; GENTRY, C.; MANNING, D.; URBAN, L. Critical evaluation of the streptozotocin model of painful diabetic neuropathy in the rat. *Pain*. 81:307-316, 1999.

GASSER, H. S. Pain-producing impulses in peripheral nerves. *Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis., Proc.* 23: 44 - 62, 1943.

GENESER, F. *Histologia, com bases biomoleculares*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

GOLD, G.; MANNING, M.; HELDT, A.; NOWLAIN, R.; PETTIT, J. R.; GRODSKY, G. M. Diabetes induced with multiple subdiabetogenic doses of streptozotocin. Lack of protection by exogenous superoxide dismutase. *Diabetes*; 30: 634-8, 1981.

GRENE, D. A.; JESUS Jr.; P. V.; WINEGRAD, A. I. Effect of insulin and dietary myoinositol on impaired peripheral motor nerve conduction velocity in acute streptozotocin diabetes. *J. clin. Invest.*, v.55, p.1326-36, 1975.

GREENE, D. A.; STEVENS, M. J.; OBROSOVA, I.; FELDMAN, E. L. Glucose-induced oxidative stress and programmed cell death in diabetic neuropathy. *Eur J Pharmacol*; 375(1-3):217-25, 1999.

HARPER, A.A.; LAWSON, S.N. Conduction velocity is related to morphological cell type in rat dorsal root ganglion neurons. *The Journal of Physiology*, v. 359: p. 31-46, 1985a.

HARPER, A. A.; LAWSON, S. N. Electrical properties of rat dorsal root ganglion neurons with different peripheral nerve conduction velocities. *Journal of Physiology*, v. 359, p.47-63, 1985.

HETHERINGTON, A. W.; RANSON, S. W. Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *Anat. Rec.*, v.78, p.149-53, 1940.

HILBURN, J. W. General principles and use of electrodiagnostic studies in carpal and cubital tunnel syndromes: with special attention to pitfalls and interpretation. *Hand Clinics*, v.12, p.205-21, 1996.

HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F. The ionic basis of nervous conduction. *Science* 145: 1148 – 1154, 1964.

HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F.; KATZ, B. Measurement of current-voltage relations in the membrane of giant axon of *Loligo*. *Journal of Physiology (London)* 116: 424 – 448, 1952.

HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F. Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *Journal of Physiology (London)* 116: 449 – 472, 1952a.

HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *Journal of Physiology (London)* 117: 500 – 544, 1952b.

HODGKIN, A. L.; KATZ, B. The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *Journal of Physiology*, 108: 37 – 77, 1949.

HODGKIN, A. L.; HUXLEY A. F. Action potentials recorded from inside a nerve fiber. *Nature London*. 144: 710 – 711, 1939.

HOFFMAN, P. N.; CLEVELAND, D. W.; GRIFFIN, J. W.; LANDES, P. W.; COWAN, N. J.; PRICE, D. L. Neurofilament gene expression: A major determinant of axonal caliber. *Neurobiology*. Maio, Vol 84 pag 3472-3476, 1987.

HOLSHEIMER, J. D.; DIJKSTRA, E. A.; DEMEULEMEESTER, H.; NUTIM, B. Chronaxy calculated from current-duration and voltage-duration data. *Journal of Neuroscience Methods*, 97: 47-50, 2000.

HONG, S.; WILEY, J. W. Altered expression and function of sodium channels in large DRG neurons and myelinated A-fibers in early diabetic neuropathy in the rat. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 339, 652-660, 2006.

HURSH, J. B. Conduction velocity and diameter of nerve fibers. *American Journal of physiology* 127 (1): 131 – 139, 1939.

IKEDA, S. R.; KAMMERMEIER, P. J. M current mystery messenger revealed? *Neuron*, vol. 35, nº 3, pág. 411-412, 2002.

ITAI, Y.; KARIYA, Y.; HOSHINO, Y. Morphological changes in rat hindlimb muscle fibers during recovery from disuse atrophy. *Acta Physiol. Scand.* (181) 217-324, 2004.

JAKOBSEN, J. Axonal dwindling in early experimental diabetes: a study of isolated nerve fibres. *Diabetologia*, v.12, p.547-53, 1976.

JAKOBSEN, J. Early and preventable changes of peripheral nerve structure and function in insulin-deficient diabetic rats. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*;42: 509-18, 1979.

JUNGE, D. *Nerve and muscle excitation*. Massachusetts: Sinauer Associates Inc. 7-21, 1976.

JUNOD, A.; LAMBERT, A. E.; STAUFFACHER, W.; RENOLD, A. E. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest*; 48:2129-39, 1969.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. *Princípios da Neurociência*. São Paulo: Manole , 2003.

KARSIDAG, S.; MORALI, S.; SARGIN, M.; SALMAN, K.; KARSIDAG, K.; US, O. The electrophysiological findings of subclinical neuropathy in patients with recently diagnosed type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, v.67, p.211-9, 2005.

KASPER, C. E.; XUN L. Expression of titin in skeletal muscle varies with hind-limb unloading. *Biological Research for Nursing* (2) 2 107-115, 2000.

KAUL, C. L. Role of sympathetic nervous system in experimental hypertension and diabetes mellitus. *Clin Exp Hypert*; 21: 95-112, 1999.

KIMURA, J Principles and pitfalls of nerve conduction studies. *Ann. Neurol.*, v.16, p.415-29, 1984.

KING, K. M. A history of insulin: from discovery to modern alternatives. *Br J Nurs.*; 12(19):1137-41, 2003.

LAUN, I. C. Diabetes Gestacional. Rio de Janeiro: Revinter; p.05-55.v.1, 1993.

LERCO, M. M.; MACEDO, C. S.; SILVA, R. J.; PINHEIRO, D. O.; SPADELLA, C. T. The and slit number of podocyte diaphragm is decreased in experimental diabetic nephropathy. *Acta Cir. Bras.*, v.21, p.87-91, 2006.

LIMA-ACCIOLY, P. M.; LAVOR-PORTO, P. R.; CAVALCANTE, F. S.; MAGALHÃES, P. J.; LAHLOU, S.; MORAIS, S. M.; LEAL-CARDOSO, J. H. Essential oil *Cróton nepetaefolius* and its main constituent, 1,8-cineole, block excitability of rat sciatic nerve in vitro. *Clinical and Experimental Pharmacological and Physiology*, v. 33, p. 1158 – 1163, 2006.

LISHNER, M.; AKSERROD, S.; DIVON, M.; RAVID, M. Spectral analysis of heart rate fluctuation. A non-invasive sensitive method for the early diagnosis of autonomic neuropathy in diabetes mellitus. *J Auton Nerv Syst*; 19: 119-25, 1987.

LUNDBORG, G. A. 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J. Hand Surg*, v. 25A, p.391-414, 2000.

MACHIDA, S.; BOOTH, F. W. Regrowth of skeletal muscle atrophied from inactivity. *Méd. Sci. Sports Exerc.* 36 (1), 52-59, 2004.

MAEDA, C. Y.; FERNANDES, T. G.; LUTHIER, F.; IRIGOYEN, M. C. Streptozotocin diabetes changes arterial pressure and baroreflex sensitivity in rats. *Braz J Med Biol Res*; 28: 497-501, 1995a.

MAEDA, C. Y.; FERNANDES, T. G.; TIMM, H. B.; IRIGOYEN, M. C. Autonomic dysfunction in short term experimental diabetes. *Hypertension*; 26: 1100-4, 1995b.

MALAISSE, W. J. Alloxan toxicity to the pancreatic B-cell. A new hypothesis. *Biochem Pharmacol*; 31: 3527-34, 1982.

MALONE, J. I.; LOWITT, S.; KORTHALS, J. K.; SALEM, A.; MIRANDA, C. The effect of hyperglycemia on nerve conduction and structure is age dependent. *Diabetes*, v.45, p. 209-15, 1996.

MANSFORD, K. R. L.; OPIE, L. Comparison of metabolic abnormalities in diabetes mellitus induced by streptozotocin or alloxan. *Lancet*; 1: 670-1, 1968.

MCCARTHY, P. W.; LAWSON, S. N. Differing action potential shapes in rat dorsal root ganglion neurons related to their substance P and calcitonin gene-related peptide immunoreactivity. *Journal of Comparative Neurology*, v. 388, p. 541-549, 1997.

MCCOMAS, A. J.; FAWCETT, P. R. W.; CAMPBELL, M. J. Electrophysiological estimation of the number of motor units within a human muscle. *J Neuro Neurosurg Psychiatry*; 34:121-31, 1971.

MCDOWELL, T. S.; HAJDUCZOK, G.; ABBOUD, F. M.; CHAPLEAU, M. W. Baroreflex dysfunction in diabetes mellitus. I. Selective impairment of parasympathetic control of heart rate. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 266: 235-43, 1994.

MEIRI, K. F.; PEKINER, C.; DENT, E. W.; ROBERTS, R. E.; MCLEAN, W. G. Altered GAP-43 immunoreactivity in regenerating sciatic nerve of diabetic rats. *Diabetes* 45, 199-204, 1996.

MENDEZ, J. D.; RAMOS, H. G. Animals models in diabetes research. *Arch Med Res*; 25:367-75, 1995.

MERING, J. V.; MINKOWSKI, O. Diabetes mellitus nach pankrease x stirpation. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, v.26, p.371-87, 1889.

MORDES, J. P.; ROSSINI, A. A. Animal models of diabetes. *Am J Med*; 70: 353-60, 1981.

MORDES, J. P.; ROSSINI, A. A., Animal model of diabetes mellitus. In: MARBLE, A., KRALL, L.P., BRADLEY, R.F., CHRISTLIEB, A.R., SOELDNER, J.S. (Eds) *Joslin's diabetes mellitus*. Philadelphia: Lea & Febiger, p.110-37, 1985.

NAVARRO, X.; VERDÚ, E. Brain damage and repair. From molecular research to clinical therapy. In: HERDEGEN, T.; DELGADO-GARCIA, J.M. eds. *Cell transplants and artificial guides for nerve repair*. Klumer Dordrecht/Boston/London Academic Publishers, 2004, pp. 451-471.

NOKES, L. D. M.; DANIEL. D.; FLINT, T.; BARASI, S. Investigations into the analysis of the rate of decay of the compound actions potentials recorded from the rat sciatic nerve after death: Significance for the prediction of the post-mortem period. *Forensic science International* 50 (1): 75 – 85, 1991.

PARENT, A. *Carpenter's human neuroanatomy*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996.

POWELL, H.; KNOX, D.; LEE, S. Alloxan diabetic neuropathy. Electron microscopic studies. *Neurology*; 27: 60-6, 1977.

RAKIETEN, N.; RAKIETEN, M.; NADKARNI, A. Antitumor and hyperglycemic activity of streptozotocin (NSC-37917) and its cofactor, U-15, 774. *Cancer Chemother Rep.*;29:91-8, 1963.

RODRÍGUES, F. J.; VALERO-CABRÉ, A.; NAVARRO, X. Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. *Drug Discovery Today: Disease Models*, v. 1, p. 177-185, 2004.

ROSS, M.; PAWLINA, W. *Histology a text and atlas, with correlated cell and molecular biology*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

RUBIN, R. R.; PEYROT M. Was Willis right? Thoughts on the interaction of depression and diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 18, 173-175, 2002.

RUSH, A. M.; CUMMINS, T. R.; WAXMAN, S.G. Multiple sodium channels and their roles in electrogenesis within dorsal root ganglion neurons. *Journal of Physiology*, v. 579, p. 1-14, 2007.

SARTORELLI, D. S.; FRANCO, L. J. Tendências do diabetes mellitus no Brasil: o papel da transição nutricional. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 19 (sup.1): S29-S36, 2003.

SATO, K. L.; MIGLIACCIO, V.; CARMO, J. M.; OLIVETI, M. C. D. B. B.; FERREIRA, R. S.; FAZAN, V. P. S. Diabete como modelo de neuropatia autonômica. X Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular. *Medicina*, Ribeirão Preto, 39 (1): 28-38, jan./mar. 2006.

SHARMA, A. K.; BAJADA, S.; THOMAS, P. K. Influence of streptozotocin-induced diabetes on myelinated nerve fiber maturation and on body growth in the rat. *Acta Neuropathol*; 53: 257-65, 1981.

SHARMA, A. K.; DUGUID, I. G. M.; BLANCHARD, D. S.; THOMAS, P. K. The effect of insulin treatment on myelinated nerve fibre maturation and integrity and on body growth in streptozotocindabetic rats. *J Neurol Sci*; 67: 285-97, 1985.

SHARMA, A. K.; THOMAS, P. K. Peripheral nerve structure and function in experimental diabetes. *J Neurol Sci*; 23: 1-5, 1974.

SHARMA, A. K.; THOMAS, P. K. Animal models: pathology and pathophysiology. In: DYCK, P.J.; THOMAS, P.K. eds. *Diabetic neuropathy*, 2nd ed, Philadelphia: WB Saunders Company, p. 237-52, 1999.

SKYLER J. S.; RAPTIS S. Symposium on biosyntetic human insulin. *Diabetes Care*; 4:139-264, 1981.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Consenso brasileiro sobre diabetes 2002: diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito tipo 2. Rio de Janeiro: Diagraphic, 2002.

SPADELLA, C. T.; MERCADANTE, M. C.;SCHELLINI, S. A., MACHADO, J. L.; OLIVEIRA, W. K.; BACCHI, C. E. Effect of pancreas transplantation on the prevention of nephropathy in alloxan-induced rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v.29, p.1019-24,1996.

SPADELLA, C. T.; SCHELLINI, S. A.; BACCHI, C. E. Pancreas transplantation versus islet transplantation versus insulin therapy in the prevention of nephropathy in alloxaninduced diabetic rats. *Transplant. Proceed.*, v.30, p.327-9, 1998.

SPADELLA, C. T.; SCHELLINI, S. A.; CARAMORI, C. A.; BACCHI, C. E. Relationship between endocrine function and digital image quantitation of the

pancreatic-insulin, and glucagons positive cell masses in normal, alloxan-diabetic, and heterotopic pancreas transplantation rats. *Transplant. Proc.*, v.32, p.2820-23, 2000.

SPADELLA, C. T., MACHADO, J. L., CARAMORI, C. A., GREGORIO, E. A. Successful islet transplantation does not prevent the development of neuropathy in alloxan-induced diabetic rats. *Transplant. Proc.*, v.34, p.1296-300, 2002.

SPADELLA, C. T.; MACEDO, C. S.; MACHADO, J. L.; SCHELLINI, S. A.; PADOVANNI, C.R. Comparative study among five different treatments on the clinical and laboratory changes in rats with alloxan-induced diabetes. *Acta Cir. Bras.*, v.20, p.46-54, 2005.

STEVENS, M. J.; FELDMAN, E. L.; GREENE, D. A. The aetiology of diabetic neuropathy the combined roles of metabolic and vascular defects. *Diabet Med*; 12 (7):566-79, 1995.

STUMPEL, F.; KUCERA, T.; BAZOTTE, R.; PUSCHEL, G. P. Loss of regulation by sympathetic hepatic nerves of liver metabolism and hemodynamics in chronically streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*; 39: 161-5, 1996.

SUGIMURA, K.; WINDEBANK, A. J.; NATARAJAN, V.; LAMBERT, E. H.; SCHMIDT, H. O.; DYCK, P. J. Interstitial hyperosmolarity may cause axis cilinder shrinkage in streptozotocin-diabetic nerve. *J Neuropathol Exp Neurol*; 39: 710-21, 1980.

SZALAI, J. P.; HUNTER, R. T. Walking track analysis: A long-term assessment of peripheral nerve recovery. *Plast Reconstr Surg*, v.89, p.251-258, 1992.

THOMAS, P. K.; ELIASSON, S. G. Diabetic neuropathy. In: DYCK, P. J, THOMAS, P. K.; LAMBERT, E. H.; BUNGE, R. eds. *Peripheral neuropathy*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company ; p. 1773-810, 1984.

TOMILSON, K. C.; GARDINER, S. M.; HEBDEN, A.; BENNETTI, T. Functional consequences of streptozotocin-induced diabetes mellitus, with particular reference to the cardiovascular system. *Pharmacol Rev*; 44: 103-50, 1992.

VALERO-CABRÉ, A.; NAVARRO, X. Functional impact of axonal misdirection on muscle reinnervation after peripheral nerve resection and graft or tube repair. *J Neurotrauma*, v. 19, p. 1475-1485, 2002.



VALERO-CABRÉ, A.; TSIRONIS, K.; SKOURAS, E.; NAVARRO, X.; NEISS, W.F. Peripheral and spinal motor reorganization alter nerve injury and repair. *J Neurotrauma*, v. 21, p. 95-108, 2004.

WAINSBERG, J.; MAGALHÃES, R. R.; GONÇALVES, J. E. Aspectos funcionais do autotransplante de ilhotas de Langerhans no baço. Estudo experimental em cães. *Acta Cirurg Bras*, v. 2, n. 4, p. 121-127, 1987.

WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A.; SICREE, R.; KING, H. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*; 27(5): 1047-53, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus, 1999.

UMEDA, M.; OHKUBO, T.; ONO, J., FUKUIZUMI, T.; KITAMURA, K. Molecular and immunohistochemical studies in expression of voltage-dependent  $Ca^{2+}$  channels in dorsal root ganglia from streptozotocin-induced diabetic mice. *Life Science* 79, 2006.

ZEMP, C.; BESTETTI, G.; ROSSI, G. L. Morphological and morphometric study of nerves from rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Acta Neuropathol*; 53: 99-106, 1981.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE I

---

**Tabela 03.** Amplitude positiva da 1ª componente do potencial de ação composto, em diferentes frequências de estimulação no nervo ciático direito de ratos. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (ANOVA). O “n” indica a quantidade de nervos ciáticos direito de ratos.

Frequências (Hz)	Controle (n=13)	Imobilizado (n=15)	Diabético (n=8)	Diabético Imobilizado (n=13)
0,2	6,87 $\pm$ 0,67	4,48 $\pm$ 0,48 *	5,29 $\pm$ 0,77	5,73 $\pm$ 0,53
20	7,18 $\pm$ 0,71	4,65 $\pm$ 0,46 *	4,94 $\pm$ 0,67 #	5,46 $\pm$ 0,58
50	6,74 $\pm$ 0,70	4,19 $\pm$ 0,43 *	4,23 $\pm$ 0,61 #	4,81 $\pm$ 0,55
100	5,51 $\pm$ 0,62	3,15 $\pm$ 0,37 *	3,07 $\pm$ 0,51 #	3,63 $\pm$ 0,49
200	3,01 $\pm$ 0,37	1,65 $\pm$ 0,27	1,82 $\pm$ 0,44	2,43 $\pm$ 0,29
300	1,66 $\pm$ 0,19	0,80 $\pm$ 0,11	0,88 $\pm$ 0,20	0,80 $\pm$ 0,19
400	1,29 $\pm$ 0,15	0,62 $\pm$ 0,12	0,74 $\pm$ 0,19	0,90 $\pm$ 0,25

Estatisticamente significativo: \*(p<0,05) entre os grupos controle e imobilizado; #(p<0,05) entre os grupos controle e diabético.

## APÊNDICE II

---

**Tabela 04.** Amplitude positiva da 2ª componente do potencial de ação composto, em diferentes frequências de estimulação no nervo ciático direito de ratos. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (ANOVA). O “n” indica a quantidade de nervos ciáticos direito de ratos.

Frequências (Hz)	Controle (n=13)	Imobilizado (n=14)	Diabético (n=7)	Diabético Imobilizado (n=10)	
0,2	3,10 $\pm$ 0,31	4,87 $\pm$ 0,70	4,62 $\pm$ 0,75	5,24 $\pm$ 1,06	¥
20	3,04 $\pm$ 0,31	4,90 $\pm$ 0,66	4,16 $\pm$ 0,61	4,58 $\pm$ 0,90	¥
50	2,74 $\pm$ 0,29	4,46 $\pm$ 0,61	3,51 $\pm$ 0,55	3,93 $\pm$ 0,78	¥
100	2,20 $\pm$ 0,28	3,28 $\pm$ 0,47	2,46 $\pm$ 0,44	2,72 $\pm$ 0,55	
200	0,88 $\pm$ 0,18	1,62 $\pm$ 0,29	1,43 $\pm$ 0,40	1,82 $\pm$ 0,35	
300	0,16 $\pm$ 0,06	0,26 $\pm$ 0,10	0,26 $\pm$ 0,13	0,39 $\pm$ 0,12	
400	0,20 $\pm$ 0,16	0,02 $\pm$ 0,02	0,17 $\pm$ 0,11	0,35 $\pm$ 0,28	

Estatisticamente significante: ¥(p<0,05) entre os grupos controle e diabético imobilizado.

## APÊNDICE III

---

**Tabela 05.** Amplitude pico-a-pico do potencial de ação composto, em diferentes frequências de estimulação no nervo ciático direito de ratos. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (ANOVA). O “n” indica a quantidade de nervos ciáticos direito de ratos. O “n” indica a quantidade de nervos ciáticos direito de ratos.

Frequências (Hz)	Controle (n=15)	Imobilizado (n=16)	Diabético (n=8)	Diabético Imobilizado (n=9)
0,2	7,27 $\pm$ 0,78	6,29 $\pm$ 0,81 $\Theta$	6,02 $\pm$ 0,62 $\times$	8,74 $\pm$ 0,69
20	7,52 $\pm$ 0,82	6,35 $\pm$ 0,79	5,69 $\pm$ 0,55 $\times$	8,33 $\pm$ 0,70
50	7,04 $\pm$ 0,80	5,91 $\pm$ 0,78	4,87 $\pm$ 0,51 $\times$	7,42 $\pm$ 0,69
100	5,73 $\pm$ 0,72	4,37 $\pm$ 0,63	3,45 $\pm$ 0,46	5,66 $\pm$ 0,65
200	3,11 $\pm$ 0,43	2,14 $\pm$ 0,40	1,95 $\pm$ 0,43	3,11 $\pm$ 0,30
300	1,87 $\pm$ 0,31	1,01 $\pm$ 0,15	0,98 $\pm$ 0,23	1,22 $\pm$ 0,17
400	1,36 $\pm$ 0,17	0,76 $\pm$ 0,15	0,87 $\pm$ 0,22	1,08 $\pm$ 0,27

Estatisticamente significativa:  $\Theta$ ( $p < 0,05$ ) entre os grupos diabético e imobilizado;  $\times$ ( $p < 0,05$ ) entre os grupos diabético imobilizado e diabético.

## APÊNDICE IV

---

**Tabela 06.** Velocidade de condução da 1ª componente do potencial de ação composto, em diferentes frequências de estimulação no nervo ciático direito de ratos. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (ANOVA). O “n” indica a quantidade de nervos ciáticos direito de ratos.

Frequências (Hz)	Controle (n=15)	Imobilizado (n=15)	Diabético (n=8)	Diabético Imobilizado (n=14)
0,2	93,63 $\pm$ 7,48	79,14 $\pm$ 5,58 *	85,86 $\pm$ 5,67	73,39 $\pm$ 4,95 #
20	87,68 $\pm$ 4,88	73,20 $\pm$ 6,12 *	83,24 $\pm$ 5,06	71,81 $\pm$ 4,59 #
50	84,49 $\pm$ 4,90	70,04 $\pm$ 5,99 *	77,43 $\pm$ 4,69	68,61 $\pm$ 4,44 #
100	76,57 $\pm$ 4,75	60,92 $\pm$ 5,45 *	75,26 $\pm$ 1,58	61,17 $\pm$ 3,95 #
200	62,15 $\pm$ 4,09	52,39 $\pm$ 3,70	60,08 $\pm$ 4,20	50,13 $\pm$ 3,00
300	57,99 $\pm$ 3,48	50,08 $\pm$ 4,24	51,99 $\pm$ 6,42	51,14 $\pm$ 4,13
400	62,76 $\pm$ 4,88	60,35 $\pm$ 5,05	58,04 $\pm$ 5,35	59,40 $\pm$ 10,68

Estatisticamente significante: \*(p<0,05) entre os grupos controle e imobilizado; #(p<0,05) entre os grupos controle e diabético imobilizado.

## APÊNDICE V

---

**Tabela 07.** Velocidade de condução da 2ª componente do potencial de ação composto, em diferentes frequências de estimulação no nervo ciático direito de ratos. Os resultados expressos em valores absolutos estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (ANOVA). O “n” indica a quantidade de nervos ciáticos direito de ratos.

Frequências (Hz)	Controle (n=14)	Imobilizado (n=9)	Diabético (n=8)	Diabético Imobilizado (n=13)
0,2	32,46 $\pm$ 1,54	29,85 $\pm$ 2,67	32,16 $\pm$ 3,32	34,92 $\pm$ 2,10
20	31,27 $\pm$ 1,46	30,85 $\pm$ 3,08	30,74 $\pm$ 3,21	33,76 $\pm$ 2,04
50	29,72 $\pm$ 1,49	29,09 $\pm$ 2,94	28,47 $\pm$ 3,00	31,83 $\pm$ 1,77
100	26,90 $\pm$ 1,40	25,15 $\pm$ 2,63	25,42 $\pm$ 2,92	28,33 $\pm$ 1,83
200	21,51 $\pm$ 1,15	21,09 $\pm$ 2,17	21,37 $\pm$ 3,95	23,78 $\pm$ 1,40
300	25,16 $\pm$ 1,25	20,94 $\pm$ 3,73	15,08 $\pm$ 5,75	23,18 $\pm$ 0,66
400	11,87 $\pm$ 4,70	13,48 $\pm$ 8,41	15,73 $\pm$ 9,60	19,07 $\pm$ 7,01

## APÊNDICE VI

**Tabela 08.** Distribuição dos parâmetros eletrofisiológicos do registro intracelular dos neurônios sem inflexão. Os resultados, expressos em valores absolutos, estão representados com a média  $\pm$  erro padrão da média (ANOVA). O “n” indica o número de amostras.

Parâmetros Eletrofisiológicos	Neurônios sem inflexão			
	C <sub>si</sub>	I <sub>si</sub>	D <sub>si</sub>	DI <sub>si</sub>
Corrente Limiar (nA)	2,04 $\pm$ 0,17 (n=29)	1,32 $\pm$ 0,19* (n=14)	1,19 $\pm$ 0,13** (n=14)	1,11 $\pm$ 0,17# (n=19)
Resistência (M $\Omega$ )	6,60 $\pm$ 0,78 (n=28)	7,54 $\pm$ 1,88 (n=13)	13,00 $\pm$ 1,41** (n=13)	14,77 $\pm$ 2,12 $\Theta$ (n=19)
Potencial de Repouso (mV)	-64,83 $\pm$ 1,75 (n=29)	-65,69 $\pm$ 2,47 (n=13)	-67,33 $\pm$ 3,49 (n=12)	-57,26 $\pm$ 1,69 (n=19)
Amplitude PA (mV)	75,92 $\pm$ 1,75 (n=29)	64,22 $\pm$ 2,79* (n=14)	61,13 $\pm$ 3,53** (n=12)	63,86 $\pm$ 2,85# (n=18)
dV/dt <sub>asc</sub> (V/s)	192,60 $\pm$ 10,26 (n=27)	136,60 $\pm$ 14,44* (n=12)	127,40 $\pm$ 12,29** (n=14)	145,60 $\pm$ 12,44# (n=19)
dV/dt <sub>desc</sub> (V/s)	-122,90 $\pm$ 5,70 (n=28)	-93,00 $\pm$ 6,80* (n=13)	-88,46 $\pm$ 6,83** (n=14)	-100,20 $\pm$ 5,83# (n=19)
Duração PA (ms)	0,71 $\pm$ 0,02 (n=29)	0,84 $\pm$ 0,10 (n=14)	1,01 $\pm$ 0,06** (n=14)	0,96 $\pm$ 0,07# (n=19)

Estatisticamente significativa: \*(p<0,05) entre os grupos controle e imobilizado; \*\*(p<0,05) entre os grupos controle e diabético; #(p<0,05) entre os grupos controle e diabético imobilizado;  $\Theta$ (p<0,05) entre os grupos imobilizado e diabético imobilizado.



## APÊNDICE VII

**Tabela 09.** Distribuição dos parâmetros eletrofisiológicos do registro intracelular dos neurônios com inflexão. Os resultados, expressos em valores absolutos, estão representados com a média  $\pm$  erro padrão da média (ANOVA). O “n” indica o número de amostras.

Parâmetros Eletrofisiológicos	Neurônios com inflexão			
	C <sub>ci</sub>	I <sub>ci</sub>	D <sub>ci</sub>	DI <sub>ci</sub>
Corrente Limiar (nA)	1,38 $\pm$ 0,21 (n=25)	1,08 $\pm$ 0,13* (n=32)	0,97 $\pm$ 0,18** (n=19)	0,84 $\pm$ 0,10 <sup>#</sup> (n=30)
Resistência (M $\Omega$ )	13,75 $\pm$ 2,08 (n=25)	17,56 $\pm$ 2,32 (n=33)	24,28 $\pm$ 2,94** (n=18)	24,50 $\pm$ 3,37 <sup>#<math>\Theta</math></sup> (n=31)
Potencial de Repouso (mV)	-60,22 $\pm$ 2,22 (n=27)	-57,00 $\pm$ 2,01 (n=31)	-57,00 $\pm$ 2,85 (n=17)	-54,83 $\pm$ 2,05 (n=30)
Amplitude PA (mV)	82,70 $\pm$ 3,05 (n=27)	78,09 $\pm$ 2,24* (n=34)	71,76 $\pm$ 2,91** (n=21)	73,53 $\pm$ 3,04 <sup>#</sup> (n=30)
dV/dt <sub>asc</sub> (V/s)	121,10 $\pm$ 11,91 (n=26)	106,50 $\pm$ 7,28* (n=33)	58,35 $\pm$ 4,76** (n=20)	104,80 $\pm$ 11,01 <sup>#</sup> (n=31)
dV/dt <sub>desc</sub> (V/s)	-60,89 $\pm$ 6,02 (n=27)	-56,84 $\pm$ 3,55* (n=31)	-46,48 $\pm$ 3,97** (n=21)	-67,69 $\pm$ 6,47 <sup>#</sup> (n=29)
Duração PA (ms)	2,42 $\pm$ 0,23 (n=24)	2,48 $\pm$ 0,21 (n=32)	3,13 $\pm$ 0,30** (n=21)	3,42 $\pm$ 0,36 <sup>#</sup> (n=30)

Estatisticamente significativa: \*(p<0,05) entre os grupos controle e imobilizado; \*\*(p<0,05) entre os grupos controle e diabético; # (p<0,05) entre os grupos controle e diabético imobilizado;  $\Theta$  (p<0,05) entre os grupos imobilizado e diabético imobilizado.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)