

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E  
CIÊNCIA DO COMPORTAMENTO



AVALIAÇÃO DO USO DA FLUOXETINA NA REPARAÇÃO  
DO NERVO CIÁTICO EM RATOS WISTAR

MICHELLY CAUÁS DE QUEIROZ GATIS

RECIFE-PE

2006

MICHELLY CAUÁS DE QUEIROZ GATIS

AVALIAÇÃO DO USO DA FLUOXETINA NA REPARAÇÃO  
DO NERVO CIÁTICO EM RATOS WISTAR

Dissertação apresentada ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Departamento de Neuropsiquiatria do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte do requisito para obtenção do Título de Mestre.

MESTRANDO:

DRa. MICHELLY CAUÁS DE QUEIROZ GATIS

ORIENTADOR:

PROF. DR. MARCELO MORAES VALENÇA

RECIFE-PE

2006

**Gatis, Michelly Cauás de Queiroz**

**Avaliação do uso da fluoxetina na reparação do nervo ciático em ratos wistar / Michelly Cauás de Queiroz Gatis. \_ Recife : O Autor, 2006.**

**vi, 31 folhas : il., fig., tab.**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Neuropsiquiatria e Ciência do Comportamento, 2006.**

**Inclui bibliografia e anexos.**

**1. Peso 2. Regeneração nervosa. 3. Fluoxetina. 4. Nervo ciático. Título.**

**616.833.58**

**CDU**

**UFPE**

**616.87**

**CDD (20.ed.)**

**CCS/19-2006**



Universidade  
Federal  
de Pernambuco

*Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria  
e Ciências do Comportamento*

RECIFE, 30 DE AGOSTO DE 2006

*MENÇÃO DA MESTRANDA  
MICHELLY CAUÁS DE QUEIROZ GATIS*

*APROVADA*

*REPROVADA*

  
PROF. BELMIRO CAVALCANTI DO EGITO VASCONCELOS  
*Membro da Banca Examinadora*



Universidade  
Federal  
de Pernambuco

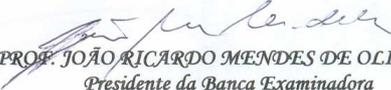
*Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria  
e Ciências do Comportamento*

*RECIFE, 30 DE AGOSTO DE 2006*

*MENÇÃO DA MESTRANDA  
MICHELLEY CAUÁS DE QUEIROZ GATIS*

*APROVADA*

*REPROVADA*

  
*PROF. JOÃO RICARDO MENDES DE OLIVEIRA  
Presidente da Banca Examinadora*



Universidade  
Federal  
de Pernambuco

*Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria  
e Ciências do Comportamento*

RECIFE, 30 DE AGOSTO DE 2006

*MENÇÃO DA MESTRANDA  
MICHELLY CAUÁS DE QUEIROZ GATIS*

*APROVADA*

*REPROVADA*

  
PROF. JOSÉ RODRIGUES LAUREANO FILHO  
Membro da Banca Examinadora



*"O meu olhar é nitido como um girassol/ Tenho o costume de andar pelas estradas/Olhando para a direita e para a esquerda, E de vez em quando olhando para trás.../E o que vejo a cada momento/É aquilo que nunca antes eu tinha visto, E eu sei dar por isso muito bem.../Sei ter o pasmo essencial/Que tem uma criança se, ao nascer,/Reparasse que nascera deveras.../Sinto-me nascido a cada momento/Para a eterna novidade do Mundo..."*

*(De O Guardador de Rebanhos)*

*Fernando Pessoa*

## *AGRADECIMENTOS*

*Sem a participação das pessoas queridas abaixo relacionadas este trabalho não teria a possibilidade de ser executado.*

*A DEUS, que sem ele nada é possível;*

*A minha mãe pela excelente formação pessoal e pedagógica;*

*Ao meu esposo pela paciência, de tantas ausências;*

*A Prof. Dr. Marcelo Valença por ter acreditado em mim;*

*A Prof(a). Adriana que mim ensinou a arte da cirurgia experimental;*

*A Aurelino que muito mim ajudou na arquitetura desta dissertação;*

*A minha querida acadêmica Camila, que esteve sempre presente e atuante nos procedimentos experimentais;*

# AVALIAÇÃO DO USO DA FLUOXETINA NA REPARAÇÃO DO NERVO CIÁTICO EM RATOS WISTAR

## RESUMO

**Objetivo:** O presente estudo avaliou a recuperação do nervo ciático em ratos após lesão por esmagamento e uso de fluoxetina.

**Metodologia:** A amostra foi constituída de 40 ratos *Wistar* machos, pesando entre 300 e 400g. Os animais foram mantidos em gaiolas separadas, em ciclo luminoso de 12h, fornecido alimento e água. Após indução anestésica, o nervo ciático foi lesado por esmagamento. Os animais foram distribuídos em grupos controle ou experimental; os grupos experimentais foram subdivididos em três outros grupos cada um deles com 10 animais e tratados por via subcutânea com fluoxetina 5mg/kg/dia, 10 mg/kg/dia ou 20 mg/kg/dia por 35 dias. O grupo controle recebeu solução salina, também por administração subcutânea, diariamente por 35 dias. A função motora foi avaliada com o índice de função ciática (SFI) e o índice estático ciático (SSI), calculados a partir das impressões podais. O tempo de retração (RT), obtido com a medida do tempo decorrido entre o momento de exposição a um estímulo nocivo e o ato de retração deste membro, foi realizado para avaliar a regeneração de fibras sensitivas envolvidas na dor. Os dados foram obtidos nos dias 7º, 14º, 21º, 28º e 35º dias de tratamento.

**Resultados:** Houve diferença significativa em relação ao tempo de latência, havendo uma maior latência na retirada da pata após 35 dias, foi com a dose de 5mg/kg/dia. No que diz respeito ao SFI observou-se que os grupos tratados com fluoxetina 10mg/kg/dia e com 20mg/kg/dia apresentaram um maior déficit funcional do que o grupo controle apenas na avaliação no 14º dia pós-lesão do nervo ciático. Com relação ao SSI o efeito de retardo na recuperação funcional apenas foi significativo no 14º dia com dose de 10mg/kg/dia.

**Conclusão:** O tratamento com fluoxetina provocou um atraso na recuperação funcional motora apenas no 14º dia após o início do tratamento com as doses de 10 e 20mg/kg/dia. Na dose menor (5mg/kg/dia) observou-se um déficit na percepção da dor no 35º dia do tratamento com fluoxetina.

**Palavras chaves:** Peso, regeneração nervosa, fluoxetina, nervo ciático, motor, dor

ESTIMATION OF THE FLUOXETINE APPLICATION WITH  
RECOVERY OF SCIATIC NERVE IN WISTAR RAT  
ABSTRACT

**Objectives:** the present study evaluated the sciatic nerve lesions recovery in rats after crush lesion and the use of fluoxetine.

**Methods:** the sample was performed with forty male Wistar rats, weighing 300-400 g. Animals were housed in a central animal care facility with 12-h light cycles and given chow and water ad libitum. Following anesthetic induction, the sciatic nerve was exposed and crushed with a Pean pincer. The animals were distributed in control and experimental groups. The experimental groups were divided in three other groups with 10 animals and treated with subcutaneous fluoxetine 5mg/kg/day, 10mg/kg/day or 20 mg/kg/day for 35 days. The control group received saline solution (0.9%), also subcutaneous administration for 35 days. The motor function was analyzed with sciatic functional index (SFI) and sciatic static index (SSI) were calculated from inked footprints. Retraction time (RT) was computed from the time of retraction of the leg from nociceptive reflex, in order to evaluate the sensitive pain fibers regeneration. These data were obtained in 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup>, 28<sup>th</sup> and 35<sup>th</sup> days.

**Results:** Significant difference were observed, retraction time was higher in 5mg/kg/day doses group after 35 days. In SFI calculations was observed that 10mg/kg/day and 20 mg/kg/day groups presented higher functional deficits than control groups only in 14<sup>th</sup> day after sciatic lesion. SSI calculations demonstrated deficit in motor functional recovery only in the 14<sup>th</sup> day in the 10mg/kg/day.

**Conclusions:** Fluoxetine promoted deficit in the motor functional recovery only in the 14<sup>th</sup> day of treatment with doses of 10 and 20mg/kg/day in wistar rats. In lower doses was observed deficit in nociceptive reflex of pain in the 35<sup>th</sup> day of treatment with fluoxetine.

**Key words:** weight, nerve regeneration, fluoxetine, sciatic nerve, pain, motor.

## LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	5-Hidroxitriptamina
AMPC	Adenosina monofosfato cíclico
IL-10	Interleucina 10
PKA	Proteína quinase A
VDCA	Canal iônico voltagem dependente eucariótico
BDNC	Fator neurotrófico derivado cerebral
RNAm	Acido ribonucléico mensageiro
SFI	Índice de recuperação do nervo ciático.
ETOF	Um terço da distancia entre duas pegadas normais;
NTOF	Dois terços entre duas pegadas normais;
PL	Distância do calcanhar ao terceiro dedo do lado
NPL	Distância do calcanhar ao terceiro dedo do lado normal;
EPL	Distância do calcanhar ao terceiro dedo do lado do experimento;
TS	Distância do primeiro ao quinto dedo
NTS	Distância do primeiro ao quinto dedo do lado normal;
ETS	Distância do primeiro ao quinto dedo do lado do experimento;
IT	Distância do segundo ao quarto dedo
NIT	Distância do segundo ao quarto dedo do lado normal;
EIT	Distância do segundo ao quarto dedo do lado do experimento.
SSI	Índice estático do ciático;
EPL	Distância do calcanhar ao terceiro dedo do lado do experimento
NPL	Distância do calcanhar ao terceiro dedo do lado normal
ETS	Distância do primeiro ao quinto dedo do lado do experimento
NTS	Distância do primeiro ao quinto dedo do lado normal
EIT	Distância do segundo ao quarto dedo do lado do experimento
NIT	Distância do segundo ao quarto dedo do lado do experimento

## LISTA DE TABELAS

	PÁGINAS
Tabela 1 – Média e desvio padrão do tempo de latência (s) segundo o grupo e o tempo de avaliação.	19
Tabela 2 – Média e desvio padrão do índice SFI segundo o grupo e o tempo de avaliação.	20
Tabela 3 – Média e desvio padrão do índice SSI segundo o grupo e o tempo de avaliação.	21

## LISTA DE FIGURAS

	PÁGINAS
Figura 1 – Injeção intra-peritoneal de Hidrato de Coral.	14
Figura 2 – Esmagamento do nervo ciático	15
Figura 3 – Impressão da pegada	17

## SUMÁRIO

	PÁGINAS
AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
LISTA DE ABREVIATURAS	iv
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	5
2.1 GERAL	5
2.2 ESPECÍFICOS	5
3 HIPÓTESE DO TRABALHO	6
4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	7
4.1 NERVO CIÁTICO	7
4.2 LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA	7
4.3 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL E NOCICEPTIVA	10
5 MATERIAIS E MÉTODOS	13
5.1 ANIMAIS	13
5.2 CIRURGIA PARA ESMAGAMENTO DO NERVO CIÁTICO	13
5.3 ADMINISTRAÇÃO DE FLUOXETINA E VEÍCULO	16
5.4 AVALIAÇÃO FUNCIONAL E NOCICEPTIVA	16
5.5 ANÁLISE DOS DADOS	18
6 RESULTADOS	19
7 DISCUSSÃO	22
8 CONCLUSÃO	25
9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
10 ANEXOS	31



## 1 INTRODUÇÃO

# 1 INTRODUÇÃO

A fluoxetina é uma droga amplamente usada como agente antidepressivo, e também prescrita para outras entidades nosológicas como nos distúrbios bipolares, ejaculação precoce distúrbios alimentares com ganho de peso e etc. Porém, apesar dos aparentes benefícios clínicos, ainda não se conhecem completamente os mecanismos de ação desta substância. Assim sendo diversos modelos de estudos animais foram desenvolvidos para simular estados estressantes conjuntamente com o uso da fluoxetina. Aonde esta, por sua vez, vem demonstrando efeitos benéficos inclusive em mamíferos não-humanos submetidos a este tipo de ambiente (Detke et al., 1997; Altemus et al., 1996; Keesor et al., 2005).

Relatos publicados descrevem que a fluoxetina age ao nível sináptico promovendo a depleção de neurotransmissores, especificamente da serotonina (5-Hidroxitriptamina - 5HT); que tem um efeito inibidor da conduta e modulador geral da atividade psíquica ou estimulador do sistema gabaérgico. Como também ativa a sinalização de vias metabólicas, responsáveis pela sobrevivência celular e plasticidade tecidual, como certos fatores de transcrição (proteína ligadora de AMPc e proteína FOS-símile) e proteínas reguladoras (proteína 14-3-3-zeta e triptófano hidrolase) (Baik et al., 2005). Onde estudos recentes demonstraram que inibidores seletivos da recaptação de serotonina, principalmente a fluoxetina possuem ainda efeitos imunorregulatórios. Atividade está diretamente relacionada ao estímulo da produção de AMPc, inibindo a síntese de IFN $\gamma$  e o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) (Maes, 2005).

Outra importante função da fluoxetina relaciona-se à apoptose, morte celular programada, a qual depende de diversos fatores, variando conforme o tipo celular. Entre os mecanismos envolvidos neste processo, as alterações de permeabilidade da membrana

celular ocupam posição de destaque. Onde o canal iônico voltagem-dependente eucariótico (VDAC) participa dos complexos mecanismos de alteração de permeabilidade da membrana envolvidos na apoptose. Assim, relata-se que a fluoxetina pode atuar como inibidor deste canal iônico, efeito que pode ser um importante mediador na inibição de morte celular, principalmente em células do sistema nervoso, como em acidente vascular cerebral e lesões de nervos periféricos, (Thinnes, 2005).

A fluoxetina está ainda relacionada com a neo-neurogênese, surgimento de novos neurônios, que ocorre durante todo o ciclo de vida de mamíferos. Porém, esta neo-neurogênese quando no hipocampo pode ser inibida por fatores estressantes em animais, contudo foi demonstrada que a administração de fluoxetina reverte a inibição provocada pelo estresse, preservando esta neo-neurogênese (Malberg et al., 2004-2003).

Segundo Guiraud-Chameil e colaboradores (2002) a potencialização da ação de neurotransmissores, como serotonina, noradrenalina e dopamina, parece melhorar a recuperação de pacientes vítimas de acidentes vasculares cerebrais; baseando-se nestes achados e nos relatos de ativação de sinalizadores de vias metabólicas de síntese, relacionadas à plasticidade tecidual do sistema nervoso central, postulou-se que o uso da fluoxetina poderia ser benéfico para pacientes com lesões teciduais do sistema nervoso central e também em lesões de nervos periféricos.

Assim a aplicação de serotonina em cultura de células provocou aumento no número das vesículas pré-sinápticas, em diversos experimentos animais, mostrando capacidade em modular respostas motoras mais eficientes. O uso de inibidores da recaptação de serotonina, como a fluoxetina, promove um aumento na concentração de 5-HT no sistema nervoso central em relação ao plasma, além de estimular a liberação de fator neurotrófico derivado cerebral (BDNF) (Yun-Feng et al., 2003). Esses achados

demonstraram que a fluoxetina como adjuvante à fisioterapia motora melhora a recuperação funcional em pacientes em tratamento de acidentes vasculares cerebrais (Dam et al., 1996; Guiraraud-Chameil et al., 2002; Pleger et al., 2004), efeito esse similar a administração de BDNF (Schabitz et al., 2004).

Apesar dos efeitos neurotróficos, Wiart et al., (2000) aventaram que a recuperação motora pode estar também correlacionada à depressão pós-acidente vascular cerebral, onde o uso da fluoxetina age como antidepressivo, melhorando a adesão dos pacientes à fisioterapia motora. Pois segundo Widle e Cobett (2005) estudos experimentais não conseguiram demonstrar efeitos benéficos sobre a arquitetura neuronal em animais com o uso da fluoxetina após a provocação de isquemia cerebral. Wilson e Hamm (2002), investigaram o efeito da administração crônica de fluoxetina após trauma cranioencefálico em ratos, com relação à recuperação motora e cognitiva. Mostraram que após 15 dias da administração diária de 2,5; 5,0; ou 10mg/Kg de fluoxetina não houve alteração na performance motora ou cognitiva nos ratos com trauma cerebral em comparação aos animais tratados com veículo.

Assim como as lesões nervosas centrais, as lesões de nervos periféricos também constituem um problema de saúde pública de grande importância, em virtude das deficiências funcionais secundárias a estas lesões. Por isso, investigações extensivas têm sido feitas com o objetivo de melhorar a regeneração após lesões de nervos periféricos. Estes estudos incluem o uso de várias substâncias neurotróficas e parâmetros funcionais, eletrofisiológicos e histológicos para quantificar a regeneração nervosa, (Toft, Fugleholm e Schmalbruch, 1988).

Sabendo-se que a medida experimental de recuperação após lesões de nervo ciático mais aceita atualmente é o índice de funcional do ciático (SFI), criado por De Medinaceli

em 1982 e modificado por Bain (Koka e Hadlock, 2001). Onde o cálculo de SFI envolve as medidas de pegadas impressas pela marcha de animais experimentais sob situações controladas. Onde o valor do SFI reflete o estado funcional do sistema locomotor (Yu et al., 2001).

Após o explicitado, procura-se com esta pesquisa avaliar a ação da fluoxetina na regeneração de nervos periféricos após serem submetidos a lesão.



**2 OBJETIVOS**

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Avaliar a influencia do uso da fluoxetina na função sensitivomotora do nervo ciático após lesão nervosa por esmagamento em ratos wistar.

### 2.2 ESPECÍFICOS

Avaliar a função motora após o tratamento com fluoxetina;

Verificar a ação da fluoxetina com relação às medidas de avaliação o SFI, SSI e TL.



**3 HIPÓTESE DO TRABALHO**

### 3 HIPÓTESE DO TRABALHO

O uso crônico da fluoxetina favorece a recuperação nervosa do nervo ciático no rato após lesão por esmagamento.



#### **4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

## 4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 4.1 NERVO CIÁTICO

Anatomicamente o nervo ciático do rato possui 0,8mm de largura (Hasegawa,1978), origina-se do seguimento espinhal L4-L6, e apesar de unifascicular no animal adulto, se divide em dois e depois em quatro fascículos. A porção tibial e sural, e a porção peroneal que origina o nervo peroneal e o ramo cutâneo que penetra lateralmente no músculo da perna para inervar a face proximolateral da panturrilha (Schmalbruch 1986). Sendo assim, o nervo ciático na sua porção média é composto por cerca de 27,000 axônios; destes 23% são mielinizados e 48% são amielínicos, sendo importante também na avaliação da função sensitiva periférica. (Varejão et al., 2004).

### 4.2 LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA

Seddon HJ (1943) divide a severidade das lesões nervosas em três principais categorias: neuropraxia, axonotimose e neurotimose. A neuropraxia é um tipo de injúria mais moderada. Não acarretando prejuízo a continuidade do nervo e causa perda funcional transitória. Na axonotimose ocorre na presença de completa interrupção do axônio do nervo e mielina circundante embora a estrutura mesenquimal circundante incluindo o perineuro e epineuro estão preservados. A degeneração do axônio e mielina ocorrem distalmente ao ponto da injúria causando completa denervação. Na neurotimose há a desconexão do nervo. A perda funcional é completa e a recuperação sem intervenção cirúrgica geralmente não

ocorre devido a formação de tecido cicatricial e a perda do guia mesenquimal, o qual favorece uma adequada direção no crescimento axonal.

Sanderland (1990) classifica o dano no nervo periférico em: Grau I: Corresponde ao bloqueio de condução, porém, sem alterações, um bom prognóstico. Grau II: Corresponde a degeneração walleriana onde apresenta endoneuro intacto e se mantém um bom prognóstico. Grau III: A estrutura do endoneuro está interrompida e o perineuro está intacto, prognóstico é satisfatório. Grau IV: Há uma interrupção dos fascículos e o epineuro está intacto formando uma ligação com o tecido conectivo; prognóstico é pobre. Grau V: Há perda da continuidade do nervo e o prognóstico é sombrio. Pois neste caso a falha na regeneração axonal, para a recuperação da formação da correção periférica ocorre devido não haver um completo contato com o coto distal ou devido à desorganização (Thomas, 1989).

Lorenzo, Krarup e Schmalbruch (2004) através da avaliação microscópica, confirmaram que o esmagamento do nervo ciático em ratos durante dois minutos causa completa degeneração walleriana (Chen et al., 1992). Contudo a velocidade de regeneração determinada pela microscopia eletrônica pode ser adequada para curva tempo/distância do experimento traçado. Porém, a depender da força empregada há uma demora na regeneração axonal e na paralisia funcional havendo uma recuperação gradual dependente da força de compressão, como também da característica individual do animal (Van Meeteren et al., 1997).

Sabendo também que, a faixa etária do animal envolvido no experimento é importante como relatado por Berlin e colaboradores (1996), onde após realizar o esmagamento do nervo ciático, de ratos, abaixo da trifurcação, com uma força de 5 joules durante um minuto em grupos de diferentes faixas etárias observaram, que é

significativamente mais lento a recuperação funcional em animais adultos do que em jovens. Podendo este fato ser explicado por alguns fatores como a plasticidade e adaptação do sistema nervoso central para um novo padrão de inervação periférica.

A regeneração do axônio e mielina começa muito cedo nos animais mais jovens. Ou seja, avaliando a recuperação do nervo lesado após quatro semanas o axônio do nervo repara e a regeneração da mielina já se apresenta avançada nos ratos com dois meses de vida enquanto a degeneração walleriana ainda progredia nos ratos com dez meses de vida (Choi et al., 1995).

Desta forma, sabe-se que a variação de carga e o limiar de duração da injúria por esmagamento do nervo periférico podem predizer o grau de dano axonal e déficit funcional motor do nervo, ocorrendo uma variação na recuperação. Então se sugere que em casos clínicos de injúrias no nervo periférico onde se mantem a continuidade, apesar da gravidade do esmagamento ou compressão, considera-se um fator importante na recuperação funcional. Assim se a continuidade nunca for rompida durante a injúria a lesão poderia não ser reparada ou ressecada, possibilitando a recuperação espontânea (Chen et al., 1993).

Segundo Wolthers e colaboradores (2005), para haver uma recuperação funcional do nervo se requerem uma adequada regeneração e sobrevivência do neurônio incluindo alongamento e adequado número de axônios regenerados, apropriada reinervação do órgão-alvo, subsequente maturação e regeneração nervosa das estruturas-alvo como também apropriada integração do sistema nervoso central.

Segundo Thomas (1989), para uma satisfatória regeneração nervosa há necessidade de uma cooperação entre diferentes tipos de células. Desta forma, incluem fibroblastos do endoneuro e perineuro os quais são provavelmente necessários para conduzir a produção de matriz extracelular para colonização e invasão das células de Schwann na regeneração.

### 4.3 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO FUNCIONAL E NOCICEPTIVA

Sabe-se que a marcha necessita de uma coordenação funcional envolvendo conexão sensorial, resposta motora e integração cortical. Desta forma, o índice de recuperação do ciático, pela análise da pegada de forma não-invasiva, pode ser melhor do que simplesmente usar avaliação eletrofisiológica e histomorfométrica do crescimento axonal e inervação do músculo, se o foco de pesquisa concerne no resultado funcional (Varejão, 2001).

De Medinaceli, Freed e Wyatt (1982) desenvolveram empiricamente uma equação, obtendo medidas da impressão da pata do rato ao caminhar, ou seja, a fórmula do índice de recuperação do nervo ciático (SFI). Onde se pode determinar a distância entre o primeiro e quinto dedo (TS), a distância entre o segundo e quarto dedos (IT) e a distância entre o calcanhar e o terceiro dedo (PL); tanto para o lado controle como para o lado lesionado. Onde sendo o resultado 0% ( $\pm 11\%$ ), representa função normal e -100% representa a perda funcional que resulta da transecção completa do tronco do nervo. Como também uma lesão do nervo leva a um aumento do PL e decréscimo do TS e IT no lado operado em relação ao lado controle; porém foi utilizada a fórmula proveniente de Bain et al.,(1989).

Segundo Dellon e Mackinnon (1989), a técnica da impressão pegada na marcha do rato em um papel, pode ser considerada uma forma abrangente de determinar a resposta funcional do animal. Pois para esta resposta se faz necessário uma unidade motora complexa de reinervação a qual é coordenada por uma integrada regeneração cortical. Desta forma obtêm-se que dados morfométricos (impressão de pegada), são fidedignos com a condição trófica do nervo regenerado (De Medinaceli, 1995).

Pois, sabe-se que a morfometria não pode prover informações gerais da função nervosa, onde na conformação do nervo pode haver erros na direção das fibras ou ainda caminhos errados nos brotos de regeneração nervosa causando grave interrupção da função. Como também nenhuma mensuração morfométrica ou eletrofisiológica pode avaliar o fator funcional (De Medinaceli e Rawlings, 1987), e a proporção de fibras regeneradas que alcança a região periférica (De Medinaceli e Seaber, 1989).

Apesar de defendido por muitos autores, o índice avaliação de recuperação do ciático (SFI), que quando comparado com outros índices como: potencial de ação do músculo, potencial de ação do nervo, velocidade de condução e diâmetro do nervo sugere ser um método bastante acurado (Shen e Zhu, 1995). Porém, possui alguns limites como o condicionamento animal, impressão da calda no papel, fibrose na musculatura da pata devido denervação e atrofia muscular, e a presença de automutilação (Varejão et al., 2004) que pode aparecer após duas semanas da lesão (Dykstra et al., 2000), sendo necessário, portanto a retirada destes ratos do experimento (Varejão et al., 2001).

Porém, segundo Bervar (2000), quando medimos a distância do primeiro ao quinto dedo (TS), depende da contribuição das divisões tibial e peroneal do nervo ciático, assim o espalmar entre o segundo e quarto dedo (IT), depende apenas da divisão tibial. Desta forma, em uma avaliação estática, as medidas entre o primeiro e quinto dedos e do segundo ao quarto dedos apresentam importância estatística, assim criou-se o índice estático do ciático.

Grasso e colaboradores (2004), observando a recuperação do ciático pela fórmula de Bervar (2000), avaliaram com o auxílio de um *scanner* digital o índice de recuperação estática do ciático (SSI) o qual, segundo os autores, fornece medidas estatisticamente

significativas de forma simples, rápida e barata, provendo precisão a extensão da perda funcional e recuperação depois de injúria no nervo ciático.

No que diz respeito à avaliação nociceptiva o nervo ciático no terço médio da coxa é composto por aproximadamente 27,000 axônios, destes 23% são mielinizados e 48% são amielínicos, sendo assim importante à avaliação da função sensitiva periférica. Sabendo que o estímulo doloroso causa duas sensações de dor discriminadas: as fibras tipo A $\delta$  que são responsáveis pela primeira fase da dor e as fibras C amielínicas que induz a longa latência ou dor abrasadora.

Assim sendo, a informação nociceptiva é conduzida através de um atalho pelo trato espinoreticular e espinotalâmico, projetando para várias regiões do sistema nervoso central. Onde o reflexo de retirada é devido a um estímulo nocivo e para evocar este reflexo polissináptico as pesquisas têm sido feitas com uma grande variedade de sensações de dor, como o estímulo com temperatura elevada. Porém, vários estudos demonstram discrepância no retorno nociceptivo e motor, sendo sugerido que o reflexo cutâneo é importante para a regulação da postura e locomoção (Varejão, 2004).



## **5 MATERIAIS E MÉTODOS**

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 ANIMAIS

Foram utilizados 40 ratos Wistar machos com uma média de três meses de vida, pesando entre 300 a 400 gramas, adquiridos no Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram submetidos ao esmagamento do nervo ciático esquerdo e divididos em grupo controle e experimental o qual este foi subdividido em três subgrupos segundo a administração de diferentes concentrações de fluoxetina. Cada grupo era composto por dez animais; no grupo controle foi administrado soro fisiológico 0,9% 1ml/kg/dia e demais subgrupos foram administradas concentrações de fluoxetina variando respectivamente de 5mg/kg/dia, 10mg/kg/dia e 20mg/kg/dia. Os procedimentos experimentais foram realizados no Departamento de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e o qual projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal desta entidade (Protocolo nº004896/2004). (Anexo 1)

### 5.2 CIRURGIA PARA ESMAGAMENTO DO NERVO CIÁTICO

Os animais mantidos em gaiolas metálicas individuais, em ciclo luminoso de 12 horas, com fornecimento de água e alimentação livre. Previamente ao procedimento cirúrgico foram pesados. Hidrato de coral (0,04 ml/100 g, intraperitonealmente)(Bervar,2000) foi usado como anestésico (Figura 1). Para a preparação do campo cirúrgico realizou-se a tricotomia da face interna da coxa esquerda do animal, com a utilização de solução degermante de polivinilpirrolidona-iodo (Povidine

Degermante<sup>®</sup>, Darrow), região esta de possível acesso ao nervo ciático; em seguida posicionou-se o animal em decúbito dorsal sobre a mesa cirúrgica.



Figura 1: Infiltração intra-peritoneal de Hidrato de coral.

Foi realizada anti-sepsia com tintura de polivinilpirrolidona-iodo (Povidine Tintura<sup>®</sup>, Darrow), e feita incisão na face interna da coxa de aproximadamente 3 cm na pele paralelo ao eixo longitudinal com lamina de bisturi nº 15 com cabo nº 3, após procedeu-se dissecação romba por planos e exposição do nervo ciático. Em seguida foi realizado esmagamento do nervo ciático com a utilização de pinça hemostática tipo mosquito na terceira crilha, compressão máxima, por um período de um minuto (Figura 2), (Montovani JC, 1988).

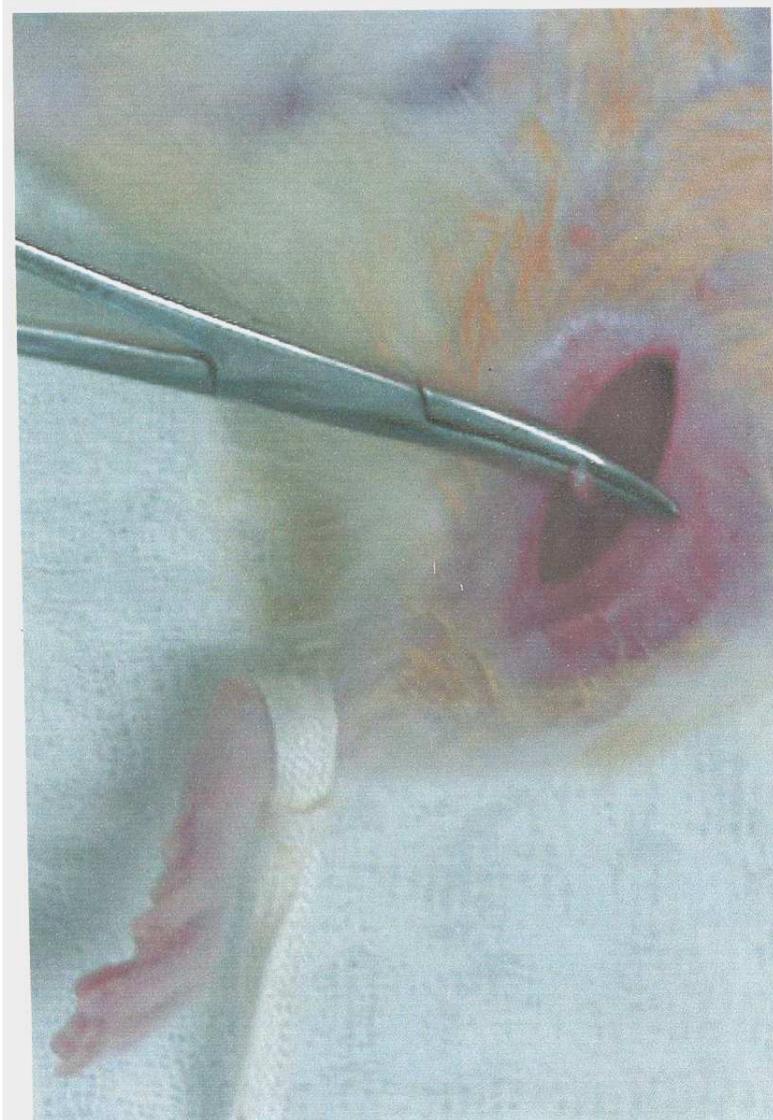


Figura 2: Esmagamento do nervo ciático.

Após o procedimento a ferida cirúrgica foi fechada em plano único, havendo uma acomodação dos planos musculares e pele, separadamente, sendo realizados pontos de sutura separados na pele (fio de mononylon 4-0; Ethicon-Johnson & Johnson Comercio e Distribuição LTDA, São Paulo-SP, Brasil). Em seguida os animais foram colocados em sua

respectiva gaiola e levados ao biotério onde permaneceram sob temperatura e umidade controladas, em um ciclo dia/noite de 12 horas, sendo ofertado água e ração livremente, e sem a utilização de analgésicos, antiinflamatórios ou antibióticos.

### 5.3 ADMINISTRAÇÃO DE FLUOXETINA E VEÍCULO

A partir do tratamento cirúrgico e prosseguindo pelos trinta e cinco dias subsequentes, foi realizada administração subcutânea na região dorsal, com a utilização de seringa de insulina Nipro<sup>®</sup> nos respectivos subgrupos: controle (SF 0,9%, 1ml/kg/dia) e nos experimentais fluoxetina Novaquímica<sup>®</sup> nos subgrupos 2, 3 e 4 com dosagem de 5mg/kg/dia, 10mg/kg/dia e 20mg/kg/dia, respectivamente.

### 5.4 AVALIAÇÃO FUNCIONAL E NOCICEPTIVA

Para a aquisição dos dados os animais foram submetidos semanalmente, representando 7, 15, 21, 28 e 35 dias subsequentes à lesão do nervo ciático, a avaliação funcional com o índice de recuperação do nervo ciático (SFI) e o índice estático do nervo ciático (SSI) como também a avaliação nociceptiva com a utilização do reflexo de retirada.

Para avaliação do índice de recuperação funcional e estático do ciático os animais foram submetidos de forma individualizada, a caminhar em uma pista com comprimento de 8,2 cm de largura com 42 cm de comprimento e 10 cm de altura, apresentando ao fundo um abrigo escuro. Anteriormente molhando-se as patas com tinta hidrossolúvel para permitir a impressão das pegadas no papel em branco durante a caminhada.

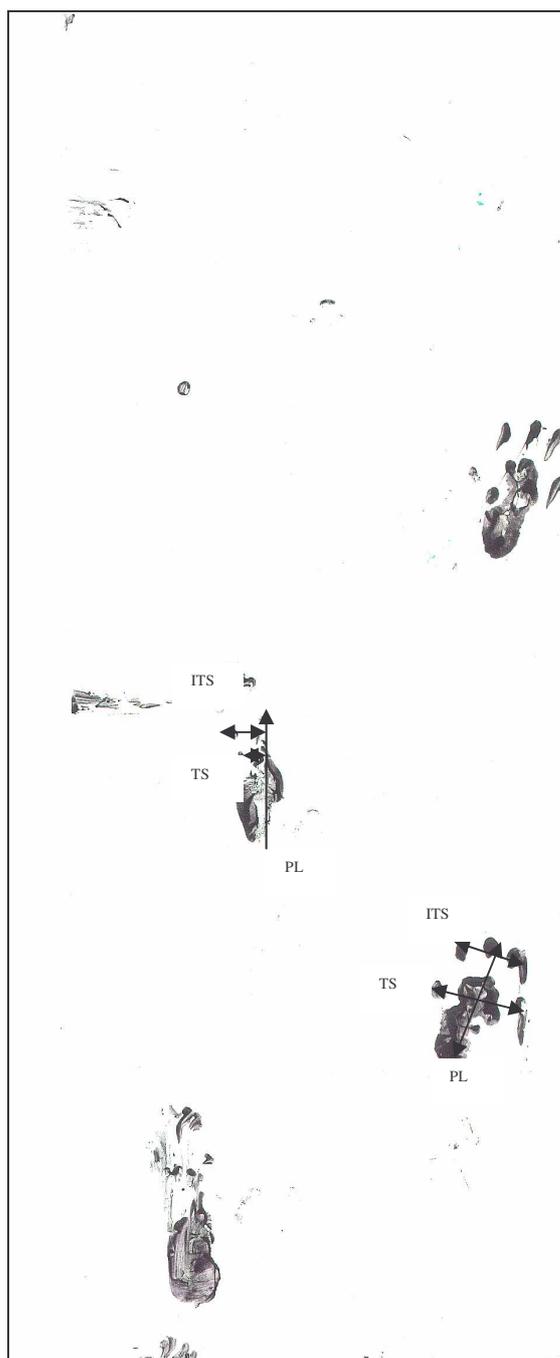


Figura 3: Impressão da pegada.

Desta forma, pela impressão da pegada no papel em branco foram adquiridas as medidas da distância entre o calcanhar e o terceiro dedo (PL), sendo para o lado experimental (PLE) e o lado normal (PLN); a distância do primeiro ao quinto dedos (TS)

para o lado experimental (TSE) e o lado normal (TSN); a distância do segundo ao quarto dedos (ITS) para o lado experimental (ITSE) e para o lado normal (ITSN) (Figura 3).

E então lançadas nas equações:

$$\mathbf{SFI} = -38,3\left(\frac{\mathbf{EPL} - \mathbf{NPL}}{\mathbf{NPL}}\right) + 109,5\left(\frac{\mathbf{ETS} - \mathbf{NTS}}{\mathbf{NTS}}\right) + 13,3\left(\frac{\mathbf{EIT} - \mathbf{NIT}}{\mathbf{NIT}}\right) - 8,8$$

$$\mathbf{SSI} = 108,44 \times \mathbf{TSF} + 31,85 \times \mathbf{ITF} - 5,49$$

Para a avaliação nociceptiva foi utilizado o reflexo de retirada, onde os animais foram submetidos à colocação da pata, a qual o nervo ciático foi lesionado, em termoestimulação, com 7, 15, 21, 28 e 35 dias pós cirurgia com a utilização de banho-maria.

## 5.5 ANÁLISE DOS DADOS

A análise dos dados foi realizada pela obtenção das medidas estatísticas médias e desvio padrão (técnicas de estatística descritiva) e utilizado o teste F (Anova) e no caso de diferença significativa entre os grupos foram utilizadas os testes de comparações pareadas de Tukey ou de Duncan no caso de incoerência entre os resultados do valor de F e dos testes de comparações pareadas.

Destaca-se que verificação da hipótese de igualdade de variâncias foi verificada através do teste F para a finalidade específica.

A margem de erro dos testes foi de 5,0% e o programa estatístico utilizado para obtenção dos cálculos estatísticos foi o SAS (Statistical Analysis System) na versão 8.



**6 RESULTADOS**

## 6. RESULTADOS

Nas Tabelas 1 a 3 apresentam-se: média, desvio padrão e número de animais segundo o grupo e o tempo de avaliação e os resultados dos testes comparativos entre os grupos para cada tempo de avaliação para as variáveis: peso dos animais, tempo de latência (ou de resposta), índices SFI e SSI.

Da Tabela 1 observa-se que se comprova diferença significativa em relação ao tempo de latência na prova da estimulação térmica entre o grupo 3 com cada um dos grupos 2 e 4 e com 35 dias entre o grupo 2 com cada um dos grupos 1 e 3.

Ou seja, apenas aos trinta e cinco dias houve diferença significativa entre o grupo tratado com fluoxetina a 5mg/kg/dia e o grupo controle havendo maior latência na retirada da pata ao estímulo doloroso, neste grupo.

Tabela 1 – Média e desvio padrão do tempo de latência (s) segundo o grupo e o tempo de tratamento.

Grupo	Tempo de tratamento (dias)				
	7	14	21	28	35
<b>Controle</b>	2,90 ± 0,72 (n=10)	3,22 ± 2,34 (n=9)	2,16 ± 0,59 (n=7)	2,78 ± 1,21 (n=7)	2,06 ± 0,67 (n=7)
<b>(2) Fluoxetina 5mg/kg/dia</b>	3,71 ± 2,12 (n=6)	2,46 ± 1,06 (n=6)	3,70 ± 1,96 (n=6)	3,59 ± 1,34 (n=6)	3,80 ± 1,20 <sup>*</sup> (n=6)
<b>(3) Fluoxetina 10mg/kg/dia</b>	3,20 ± 1,59 (n=7)	2,22 ± 0,42 (n=6)	3,62 ± 1,26 (n=6)	2,89 ± 1,41 (n=6)	1,99 ± 0,82 (n=6)
<b>(4) Fluoxetina 20mg/kg/dia</b>	2,16 ± 0,59 (n=7)	3,04 ± 1,22 (n=7)	3,02 ± 1,73 (n=6)	2,83 ± 0,71 (n=6)	2,30 ± 1,03 (n=6)
<b>Valor p</b>	$p^{(1)} = 0,2072$	$p^{(1)} = 0,6018$	$p^{(1)} = 0,2252$	$p^{(1)} = 0,6135$	$p^{(1)} = 0,0090$

(\*) –  $p < 0,05$  versus controle; (1) – Pelo teste F (ANOVA) e pós teste Tuk

Na Tabela 2 avaliando o SFI observou-se que os grupos tratados com fluoxetina a 10mg/kg/dia e com 20mg/kg/dia apresentaram um déficit funcional maior do que o grupo controle apenas na avaliação do dia 14º pós a lesão do nervo ciático.

Tabela 2 – Média e desvio padrão do índice SFI segundo o grupo e o tempo de avaliação.

Grupo	Tempo de avaliação (dias)				
	7	14	21	28	35
<b>Controle</b>	-67,02 ± 28,18 (n=10)	-47,78 ± 11,10 (n=9)	-20,51 ± 14,68 (n=7)	- 18,09 ± 11,78 (n=7)	-6,63 ± 3,72 (n=7)
<b>(2) Fluoxetina 5mg/kg/dia</b>	-31,40 ± 38,36 (n=6)	-44,83 ± 24,34 (n=6)	-26,90 ± 16,53 (n=6)	-14,73 ± 17,64 (n=6)	-10,77 ± 16,91 (n=6)
<b>(3) Fluoxetina 10mg/kg/dia</b>	-71,77 ± 38,74 (n=7)	-65,67 ± 7,20* (n=6)	-24,77 ± 14,40 (n=6)	-5,67 ± 7,68 (n=6)	-5,98 ± 3,12 (n=6)
<b>(4) Fluoxetina 20mg/kg/dia</b>	-49,17 ± 26,88 (n=7)	-63,57 ± 11,59* (n=7)	-22,30 ± 15,92 (n=6)	-11,70 ± 21,82 (n=6)	-9,17 ± 2,65 (n=6)
<b>Valor p</b>	$p^{(1)} = 0,2523$	$p^{(1)} = 0,0268^*$	$p^{(1)} = 0,9112$	$p^{(1)} = 0,6935$	$p^{(1)} = 0,4098$

(\*) –  $p < 0,05$  versus controle

(1) – Pelo teste F (ANOVA) com pós test de Duncam

No SSI exposto na tabela 3 o efeito de retardo na recuperação funcional apenas foi significativo no 14º dia com a dose de 10mg/kg/dia.

Tabela 3 – Média e desvio padrão do índice SSI segundo o grupo e o tempo de avaliação.

Grupo	Tempo de avaliação (dias)				
	7	14	21	28	35
<b>Controle</b>	-63,30 ± 22,63 (n=10)	-43,44 ± 10,22 <sup>(A)</sup> (n=9)	-10,21 ± 8,08 (n=7)	-11,64 ± 12,27 (n=7)	-3,95 ± 4,08 (n=7)
<b>(2)</b> <b>Fluoxetina</b> <b>5mg/kg/dia</b>	-26,00 ± 42,45 (n=6)	-43,50 ± 23,32 (n=6)	-22,57 ± 18,04 (n=6)	-4,84 ± 20,71 (n=6)	-6,11 ± 17,51 (n=6)
<b>(3)</b> <b>Fluoxetina</b> <b>10mg/kg/dia</b>	-84,34 ± 31,68 (n=7)	-62,50 ± 6,72 <sup>*</sup> (n=6)	-21,25 ± 14,28 (n=6)	-4,21 ± 3,14 (n=6)	-4,43 ± 2,61 (n=6)
<b>(4)</b> <b>Fluoxetina</b> <b>20mg/kg/dia</b>	-48,79 ± 28,74 (n=7)	-56,29 ± 12,98 (n=7)	-14,58 ± 11,35 (n=6)	-9,25 ± 22,88 (n=6)	-3,69 ± 4,40 (n=6)

(\*) –  $p < 0,05$  versus controle

(1) – Pelo teste F (ANOVA) .



## 7 DISCUSSÃO

## 7. DISCUSSÃO

As seqüelas de lesões sobre o sistema nervoso, tanto sobre as áreas centrais como sobre os nervos periféricos constituem-se em um problema médico de grande magnitude e de grande impacto sócio-econômico. Há evidências de que a fluoxetina promovia melhorias funcionais motoras em pacientes vitima de isquemia cerebral (Dam et al., 1996; Guiraraud-Chameil, 2006; Schabitz et al., 2004; Wiart et al., 2000; Windle et al., 2005) deram início à formulação de teorias e estudos sobre o mecanismo de ação (Pleger et al., 2004; Baik et al., 2005).

A identificação de um bloqueio seletivo de canais iônicos envolvidos na apoptose, ou morte celular, principalmente de células nervosas, parece demonstrar que o uso da fluoxetina poderia inibir a morte celular de neurônios, (Thinnes, 2005). Além disto, estudos demonstraram que a fluoxetina estimula a produção de mediadores do crescimento celular (Schabitz et al., 2003), principalmente de neurônios (Maes et al., 2004), podendo estimular a regeneração a nível celular, permitindo uma recuperação mais rápida de segmentos celulares danificados, como ocorre em lesões de nervos periféricos, onde os adendos celulares são danificados e sua recuperação ocorre à custa de regeneração a nível celular.

A demonstração de que o tecido nervoso central pode desenvolver-se mesmo em indivíduos adultos, como demonstrado nos estudos que avaliaram a neurogênese hipocampal, mostrou que este crescimento depende de variáveis desconhecidas e sendo regulados por fatores múltiplos e ainda não compreendidos claramente. Foi demonstrado que estados depressivos e fatores estressantes, principalmente pós-traumáticos inibem esta neurogênese (Malberg, 2003). Nestes casos, o uso da fluoxetina promove a neurogênese (Malberg, 2004), fato demonstrado a nível celular, por estudos morfológicos e a nível

funcional por estudos clínicos, baseando-se nestes achados foram postuladas hipóteses que a fluoxetina agiria como estimulador da neurogênese e/ou regulador funcional das redes neuronais não afetadas (Wiart, 2000; Malberg, 2004).

As teorias de que a fluoxetina age como regulador funcional, estimulando as redes neuronais não afetadas, ganharam impulso em estudos que demonstraram melhorias funcionais motoras em estudos clínicos e em modelos animais. Foi ainda demonstrado que apesar da melhoria funcional motora, o uso de fluoxetina e/ou fatores de crescimento neuronal por ela induzidos, não demonstrou efeitos sobre as áreas isquemiadas, cuja magnitude das lesões era comparável às dos grupos controle não tratados com fluoxetina e que não tiveram o mesmo grau de melhora funcional (Windle et al., 2005; Schabitz et al., 2004).

Em nosso estudo foram realizadas lesões por esmagamento em nervo ciático de ratos. Após estas lesões, os animais foram reavaliados semanalmente por um período de cinco semanas, perfazendo um período total de trinta e cinco dias. Toft, em 1988, demonstra que os axônios de nervos periféricos, em ratos, lesionados se encontram regenerados em nível III em torno de 30 dias. Apesar de diferenças sutis no grau de mielinização das fibras axonais, parece perfeitamente suficiente para a regeneração distal proximal (5-6 mm) em um período de cinco semanas (35 dias).

A observação direta morfológica por microscopia óptica e eletrônica serve como parâmetro direto da regeneração neuronal, porém houve a necessidade de avaliar-se funcionalmente a recuperação após lesões de nervos periféricos. Entre outras medidas, o índice de funcional do ciático (SFI), criado por De Medinaceli em 1982 e modificado por Bain e colaboradores (1989), é considerado o método padrão para avaliações experimentais de nervos (Koka e Hadlock, 2001). O cálculo do índice de recuperação do ciático (SFI)

envolve as medidas de pegadas impressas pela marcha de animais experimentais sob situações controladas refletindo o estado funcional do sistema locomotor (Yu, 2001).

Porém, segundo Bervar (2000) em uma avaliação estática, as medidas entre o primeiro e quinto dedo e do segundo ao quarto dedo apresentam importância estatística, assim foi criado o índice estático do ciático (SSI) que para Grasso e colaboradores (2004) fornece medidas estatisticamente significativas de forma simples, rápida e barata, provendo precisão a extensão da perda funcional e recuperação depois de injúria no nervo ciático.

Em nosso estudo observamos para a dose de 10mg/kg/dia um retardo funcional significativo no 14º dia tanto para avaliação do SSI e do SFI que por sua vez manteve este padrão com dosagem de 20mg/kg/dia.

Deiró e colaboradores (2004) utilizando citalopram com doses de 5,10 e 20mg/kg e grupo controle (0,9% NaCl) com injeção subcutânea durante 21 dias pós natal observaram que a maior dose causou redução do peso e crescimento da calda. Desta forma concluíram que o mecanismo de crescimento é extremamente susceptível a manipulação do sistema serotoninérgico durante o período neonatal.

Segundo Van Meeteren e colaboradores (1997) estudando ratos submetidos à compressão do nervo ciático associado a o estresse durante 27 dias, observaram que os submetidos a estresse ganham menos peso em comparação ao grupo controle, como também tiveram uma recuperação funcional menor que o grupo controle. Porém em nosso estudo todos foram submetidos a estresse diário não sendo possível fazer este tipo de distinção.

Contudo estes autores sugerem também diferenças individuais na recuperação funcional após lesão do nervo por compressão estando assim dependente de traços pré-existentes que constitui características individuais de cada animal.



**8 CONCLUSÃO**

## 8.CONCLUSÃO

Nossos resultados mostraram que o tratamento crônico diário com fluoxetina não modificou a recuperação funcional motora do nervo ciático no rato no 35º dia pós-lesão por esmagamento. Com doses de 10mg/kg/dia e 20mg/kg/dia ocorreu um atraso na recuperação funcional na segunda semana do tratamento apenas. Quanto à recuperação das fibras responsáveis pela sensação de dor, apenas a dose de fluoxetina de 5mg/kg/dia levou ao retardo na recuperação funcional sensitiva a partir do 35º dia do tratamento.



**9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Altemus, M; Glowa, JR; Galliven, E; Leong, YM; Murphy, DL. Effects of serotonergic agents on food-restriction-induced hyperactivity. **Pharmacol Biochem Behav.** 1996 jan;53(1):123-31.
2. Baik, SY; Jung, KJ; Choi, MR; Yang, BH; Kim, SH; Lee, JS; Oh DY, Choi, IG; Chung, H; Chai, YG, Fluoxetine-induced up-regulation of 14-3-3zeta and tryptophan hydroxylase levels in RBL-2h3 cells. **Neurosci Lett.** 2005 Feb 1;374(1):53-7.
3. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA, Functional evaluation of complete sciatic, peroneal and posterior tibial nerve lesions in rat, *Plast Reconstr Surg* 1989;83:129-36.
4. Berlin BM, Ball DJ, Langer JC, Bridge PM, Hagberg PK, Mackinnon SE. The effect of age on peripheral motor nerve function after crush injury in the rat. **J trauma** 1996;40(5):775-7.
5. Bervar M. Video analysis of standing - an alternative footprint analysis to assess functional loss following injury to the rat sciatic nerve. **J Neurosci Methods.** 2000 Oct 30;102(2):109-16.
6. Chen L-E, Seaber AV, Glisson RR, Davis H, Murrell GAC, Anthony DC, Urbaniak JR. The functional recovery of peripheral nerves following defined crush injuries. **J Orthop Reserch.** 1992;10(5):657-64.
7. Chen L-E, Seaber AV, Urbaniak JR. The influence of magnitude and duration of crush load on functional recovery of the peripheral nerve. **J Reconstr Microsurg.** 1993;9(4):299-306.
8. Choi S-J, Harii K, Lee M-J, Furuya F, Ueda K. Electrophysiological, morphological and morphometric effects of aging on nerve regeneration in rats. **Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.** 1995 Jun;29(2):133-40.
9. Dam, M; Tonin, P; De Boni, A; Pizzolato, G; Casson, S; Ermani, M; Freo, U; Piron, L; Battistin, L. Effects of Luoxetine and maprotiline on functional recovery in poststroke hemiplegic patients undergoing rehabilitation therapy. **Stroke.** 1996 Jul;27(7):1211-4.

10. Deiró TCBJ, Manhães-de-Castro R, Cabral-Filho JE, Souza SL, Freitas-silva SR, Ferreira LMP, Guedes RCA, Câmara CRV, Barros KMFT. Neonatal administration of citalopram delays somatic maturation in rats. **Braz J Méd Biol Res.**2004, 37(10)1503-9.
11. Dellon AL, Mackinnon SE. Selection of the appropriate parameter to measure neural regeneration. **Ann Plast Surg.** 1989;23:197-202.
12. De Medinaceli L. Interpreting nerve morphometry data after experimental traumatic lesions. **J Neurosci Methods.** 1995 May;58(1-2):29-37.
13. De Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. **Exp Neurol.** 1982 Sep;77(3):634-43.
14. De Medinaceli L, Rawlings RR. Is it possible to predict the outcome of peripheral nerve injuries? A probability model based on prospects for regenerating neurites. **Biosystems,** 1987;20(3):243-58.
15. De Medinaceli L e Seaber AV. Experimental nerve reconnection:importance of initial repair. **Microsurgery.** 1989;10(1):56-70.
16. Detke, MJ; Johnson, J; Lucki, I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. **Exp Clin Psychopharmacol.** 1997 May;5(2):107-12.
17. Dykstra JR, Meek MF, Robinson PH, Gramsbergen. Methods to evaluate functional nerve in adult rats: walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex, **J Neurosc Methods.** 2000;96:89-96.
18. Grasso G, Sfacteria A, Brines M, Tomasello F. A new computed-assisted technique for experimental sciatic nerve function analysis. **Med Sci Monit.**2004;10(1):BR1-3.
19. Guirraud-Chameil, B.; Pariente, J.; Albucher, J. F.; Loubinoux, I.; Chollet, F. Recuperation neurologique post-ischemic. **Bull Acad Natle Med.**2002;6:186.
20. Hasegawa K. A new method of measuring functional recovery after crushing the peripheral nerves in unanesthetized and unrestrained rats. **Experientia.** 1978;34(2):272-3.

21. Keesor, CH, Weiss, JM. A selective test for antidepressant treatments using rats bred for stress-induced reduction of motor activity in the swing test. **Psychopharmacol.** 2005;182:9-23.
22. Koka, R, Hadlock, T. Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transection. **Exp Neurol.** 2001;168:192-5.
23. Lozeron P, Krarup C, Schmalbruch H. Regeneration of unmyelinated and myelinated sensory nerve fibres studied by a retrograde tracer method. **J Neurosci Methods.** 2004;Sep 30;138(1-2):225-32.
24. Maes, M; Kenis, G; Kubera, M; De Baets, M; Steibusch, H; Bosmans, E. The negative immunoregulatory effects of fluoxetine in relation to the cAMP-dependent PKA pathway. **Int Immunopharmacol.** 2005 Mar;5(3):609-18.
25. Malberg, JE. Implications of adult hippocampal neurogenesis in antidepressant action. **J Psychiatry Neurosci.** 2004 May;29(3):196-205.
26. Malberg, JE; Durman, RS. Cell proliferation in adult hippocampus is decreased by inescapable stress: reversal by fluoxetine treatment. **Neuropsychopharmacology.** 2003 Sep;28(9):1562-71.
27. Montovani JC, Estudo experimental da regeneração nervosa nos nervos ciático e facial em ratos. Ação do ácido n'acetil – neuramínico. Tese de Doutorado. Fac.Méd,Botucatu, Pós-graduação em Medicina,1988,191p,ilust.
28. Pleger B, Schwernkres P, Grunberg C, Malin JP, Tegenthoff M. Fluoxetine facilitates use- dependent excitability of human primary motor cortex. **Clin Neurophysiol.** 2004;115:2157-63.
29. Schabitz, WR; Berger, C; Kollmar, R; Seitz, M; Tanay, E; Kiessling, M; Schwab, S; Sommer, C. Effect of Brain-derived neurotrophic factor treatment and forced arm use on functional motor recovery after small cortical ischemia. **Stroke.** 2004;35:992-7.
30. Schmalbruch H. Fiber composition of the rat sciatic nerve. **Anat Rec.** 1986 May;215(1):71-81.
31. Seddon HJ. Three types of nerve injury. **Brain.** 1943; 237-8.

32. Shen N, Zhu J. Application of sciatic functional index in nerve functional assessment. **Microsurgery**. 1995;16(8):552-5.
33. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss function, *Brain* 74:491,1951, In Millesi H. Progress in peripheral nerve reconstruction. **World J Surg**. 1990;14:733-47.
34. Thinnes, FP. Does fluoxetine block mitochondrial permeability transition by blockin VDAC as part of permeability transition pores ? **Mol Genet Metab**. 2005 Apr;84(4):378.
35. Thomas PK. Invited review: Focal nerve injury: Guidance factors during axonal regeneration. **Muscle & Nerve**. 1989;12:796-802.
36. Toft, PB; Fugleholm, K; Schmalbruch, H. Axonal branching following crush lesions of peripheral nerves of rat. **Muscle Nerve**. 1988 Aug;11(8):880-9.
37. Van Meeteren NLU, Brakkee JH, Helders PJM, Croiset G, Gispen WH, Wiegant VM. Recovery of function after sciatic nerve crush lesion in rats selected for diverging locomotor activity in the open field. **Neurosci Letters**. 1997;238:131-4.
38. Varejão ASP, Meek MF, Ferreira AJA, Patricio JAB, Cabrita MAS. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat walking track analysis, **J Neurosci Methods**. 2001 Jul 15;108(1):1-9..
39. Varejão AS, Melo-Pinto P, Meek MF, Filipe VM, Bulas-Cruz J. Methods for the experimental functional assessment of rat sciatic nerve regeneration. **Neurol Res**. 2004 Mar;26(2):186-94.
40. Wolthers M, Moldovan M, Binderup T, Schmalbruchs H, Krarup C. Comparative eletrophysiological, functional and histological studies of nerve lesions in rats. **Microsurgery**. 2005;25(6):508-19.
41. Wiart L, Petit H, Joseph PA, Hazawx JM, Barat M. Fluoxetine in early poststroke depression a double blind placebo- controlled study. **Stroke**. 2000; Aug;31(8):1829-32.

42. Wilson MS, Hamm RJ. Effects of fluoxetine on the 5-HT<sub>1A</sub> receptor and recovery of cognitive function after traumatic brain injury in rats. **Am J Phys Med Rehabil.** 2002 May;81(5):364-72.
43. Windle, V; Corbett, D. Fluoxetine and recovery of motor function after focal ischemia in rats. **Brain Res.** 2005 May 17;1044(1):25-32.
44. Yu, P; Matloub, HS; Sanger, JR; Narini, P. Gait analyses in rats with peripheral nerve injury. **Muscle Nerve.**2001;24: 231-9.
45. Yun-Feng L, Yan-Qin LIU, Wen-Chao HUANG, Zhi-Pu LUO. Cytoprotective effect is one common action pathways for antidepressants. **Acta Pharmacol Sin,** 2003;24(10):996-1000.



**10 ANEXOS**

## 10. ANEXOS

### ANEXO 1

566 RC

**Universidade Federal de Pernambuco**  
**Centro de Ciências Biológicas**

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
50670-420 / Recife - PE - Brasil  
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351  
fax: (55 81) 2126 8350  
www.ccb.ufpe.br



Ofício nº 150/2004/CÉEA

Recife, 26 de julho de 2004

Da: Comissão de Ética em Experimentação Animal /UFPE  
Para: Dra. Michelly Cauás  
Departamento de Cirurgia CCS/UFPE

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram a resposta de V. Sa. referente ao parecer da CEEA sobre o projeto de pesquisa intitulado **“Uso da Fluoxetina na Regeneração do Nervo Periférico (Nervo Ciático do Rato)”**, processo 004896/2004-50.

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

De acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos, ressaltamos ainda que o sacrifício dos animais experimentais, realizado no presente trabalho, justifica-se pelo fato de não existirem recursos alternativos para a realização do procedimento científico. Diante do exposto, emitimos um parecer favorável aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,

Profa. Silene Carneiro do Nascimento  
Presidente da CEEA/UFPE