

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**EFEITO NEUROPROTETOR DO EXTRATO
HIDROETANÓLICO DE PRÓPOLIS VERMELHA APÓS
LESÃO DE NERVO CIÁTICO EM RATOS**

ROBERTA ALMEIDA BARBOSA

ARACAJU
FEVEREIRO – 2014

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**O EXTRATO HIDROETANÓLICO DE PRÓPOLIS
VERMELHA PROMOVE RECUPERAÇÃO FUNCIONAL
APÓS LESÃO DO NERVO CIÁTICO POR
ESMAGAMENTO EM RATOS**

Dissertação de Mestrado submetida à banca examinadora como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente, na Área de concentração em Saúde e Ambiente.

ROBERTA ALMEIDA BARBOSA

Orientadoras

Juliana Cordeiro Cardoso, Ph.D.

Margarete Zanardo Gomes, Ph. D.

ARACAJU
FEVEREIRO – 2014

O AUTOR PERMITE A REPRODUÇÃO DE CÓPIAS OU PARTES DESTA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SOMENTE PARA PROPÓSITOS ACADÊMICOS E CIENTÍFICOS DESDE QUE A FONTE SEJA CITADA.

B223e Barbosa, Roberta Almeida
Efeitos neuroprotetor do extrato hidroetanólico de própolis vermelha após lesão de nervo ciático em ratos / Roberta Almeida Barbosa ; orientação [de] Dr^a Juliana Cordeiro Cardoso, Dr^a Margarete Zanardo Gomes. – Aracaju : UNIT, 2014.

78f. il.: 23cm

Inclui bibliografia.

1. Regeneração nervosa. 2. Nervo ciático. 3. Própolis. 4. Lesão. I. Cardoso, Juliana Cordeiro. II. Gomes, Margarete Zanardo. III. Universidade Tiradentes. IV. Título.

CDU:

616.833.58-001

EFEITO NEUROPROTETOR DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE PRÓPOLIS VERMELHA APÓS LESÃO DE NERVO CIÁTICO EM RATOS

Roberta Almeida Barbosa

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE DA UNIVERSIDADE TIRADENTES COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM SAÚDE E AMBIENTE.

Aprovada por:

Juliana Cordeiro Cardoso, Ph.D.

Orientadora

Margarete Zanardo Gomes, Ph.D.

Orientadora

Ricardo Luis C. Albuquerque Junior, Ph.D.

1º Examinador

Lucindo José Quintans Junior, Ph.D.

2º Examinador

Paula Santos Nunes, Ph.D.

1º Suplente

Edna Aragão Farias Cândido, Ph.D.

2º Suplente

ARACAJU

FEVEREIRO – 2014

DEDICATÓRIA

Dedico este estudo aos meus pais **Acácia Maria Almeida Barbosa e Roberto Rodrigues Barbosa**, que acompanharam toda esta luta, me apoiando, me incentivando e sempre torcendo pelo meu sucesso. Dedico a vocês todo o meu amor e gratidão!

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”

Chico Xavier

AGRADECIMENTOS

A Deus, por se fazer presente em todos os momentos difíceis e me mostrar que posso chegar onde quero, por mais tortuoso que seja o caminho. Eu vos agradeço por renovar a minha fé, por não me desamparar, por sempre me mostrar os melhores caminhos, mesmo quando não os consegui enxergar. Eu vos louvarei e amarei sempre!

À minha mãe, **Acácia Maria Almeida Barbosa**, minha melhor amiga, minha grande incentivadora, sempre atenta, incansável, guerreira, me dando o suporte de que precisei para traçar mais esse caminho. “Amicã”, você é um grande presente que Deus me deu! Tudo que eu lhe agradecer ainda será pouco!

Ao meu pai, **Roberto Rodrigues Barbosa** pelas palavras de incentivo e consolo nas horas difíceis, por vibrar comigo nas minhas conquistas, pela incansável determinação de ver seus filhos formados e moralmente íntegros. O senhor é um exemplo de homem digno que eu seguirei sempre!

Aos meus avós **Ana Maria de Santana Almeida**, pelo seu carinho e orações, **Alvacyr Almeida** (in memorian), pelos exemplos de vida e **João Barbosa dos Santos** (in memorian), pelo orgulho de ver uma neta galgar espaços maiores. Serei sempre a “doutorinha” de vocês! Sei que onde estiverem, sempre estarão me mandando luz e inspiração.

Aos meus irmãos **Rafael Almeida Barbosa** e **Raquel Almeida Barbosa**, e ao meu cunhado **Hermes Pires do Nascimento**, que mesmo quando estive ausente sempre soube da torcida de vocês pelo meu sucesso! Amo vocês!

Ao meu sobrinho **Roberto Rodrigues Barbosa Neto**, pelos momentos de descontração e relaxamento que você me proporcionou. Quando você crescer, a “Titia doida” vai te contar uma história de luta e superação que você ajudou a construir. Titia o ama!

À minha irmã **Renata Barbosa** e ao meu novo irmão **Mário Augusto Moraes**, por segurar a barra, nesses momentos de sufoco. Deus me deu dois presentes, duas molas propulsoras em nosso lar. Muito obrigada! Amo vocês!

À minha amiga **Drª Paula Santos Nunes**, minha primeira incentivadora a realizar esse sonho e me fazer crer que era possível. Paulinha, seu carinho, seu apoio, seu desprendimento em ajudar o próximo ficarão marcados em minha memória para sempre! Você foi meu anjo! Terá a minha admiração, minha amizade e meu respeito sempre!

Aos meus amigos **Beatriz Allan**, **Anna Patrícia**, **Samuel Barbosa**, **Ronaldo Pereira** e **Marta Anjos**, que viveram junto comigo as minhas alegrias e minhas

angústias, que sempre entenderam minha ausência e vibraram comigo minhas conquistas. Amo vocês!

À **Profª. Drª. Juliana Cordeiro Cardoso**, por aceitar meu pedido de orientação, acreditar e confiar que eu agiria com responsabilidade e “daria conta do recado”, mesmo em sua ausência. Nos momentos finais desse nosso encontro eu pude perceber o seu carinho e a sua vibração com nosso trabalho. Minha admiração, meu respeito, meu carinho e meus sinceros agradecimentos por esse período de aprendizado!

À **Profª. Drª. Margarete Zanardo Gomes**, por me acolher, pela paciência e disponibilidade em ensinar, pelo carinho e consideração com que conduziu o nosso trabalho de mestrado. Eu a admiro não “apenas” por ser uma grande cientista de currículo admirável, mas por ser humana, mestre por excelência, por dar o melhor de si em prol da realização do sonho de uma aluna. Todo o meu carinho e respeito! Muito obrigada!

Queridas **Margarete e Juliana**, quando Dr. **Têmisson José** havia dito que buscou os melhores doutores para esse programa, ele acertou, mas ele observou apenas currículos. Ele não fazia ideia da capacidade de vocês de ajudar, do desprendimento, das horas a mais investidas para proporcionar a concretização do sonho de um aluno. Eu vivenciei a luta, a garra e a determinação de vocês, o carinho com que conduziram nosso trabalho. Levo comigo uma grande bagagem de experiências. Agradeço e reconhecerei sempre cada minuto que investiram em mim. Deus me deu um grande presente em poder tê-las como minhas orientadoras. Muito Obrigada!

À **Profª. Drª. Edna Aragão Farias Cândido**, por sua sempre admirável dedicação ao ensino, “Tia Edna”, minha admiração por você, vem dos tempos da graduação, quando aprendi a verdadeira essência de ser fisioterapeuta. Sempre na torcida, acompanhei suas conquistas. Você é um exemplo!

Ao **Prof. Dr. Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque Júnior**, que em suas aulas me fez aprender a essência de ser professor. Um verdadeiro mestre!

Aos meus parceiros de trabalho, os alunos **Reinaldo Viana, Ailma Paixão, Rafael Valois, Tássia Nunes e Tâmara Nunes**. Aprendi muito com vocês! Obrigada pelo suporte e pela dedicação para que este trabalho ficasse bonito!

À **Universidade Tiradentes**, pela qual tenho profundo carinho e admiração. Tenho orgulho de fazer parte da história desta instituição.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS E QUADROS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE ABREVIACÕES.....	xiii
INTRUDUÇÃO.....	16
OBJETIVOS.....	19
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
1- SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO.....	21
1.1 O nervo ciático.....	23
1.2 Lesão nervosa periférica.....	23
1.3 Degeneração dos nervos periféricos.....	25
1.3.1 Regeneração após a LNP.....	26
1.4 Métodos de avaliação (testes comportamentais).....	28
1.4.1 Escala BBB.....	29
1.4.2 O Índice Funcional do Ciático (SFI).....	30
1.4.3 Capacidade Motora (CM).....	32
1.4.4 Sensibilidade Dolorosa (SD).....	32
1.4.5 Posicionamento Proprioceptivo.....	33
2- POSSIBILIDADES TERAPÊUTICAS PARA LESÕES DO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO.....	34
2.1 Reabilitação.....	34
2.2 Medicamentos.....	34
2.3 Produtos naturais.....	35
2.4 Própolis vermelha.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
ARTIGO.....	55
ANEXOS.....	78

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

- AIH: Anti-inflamatório Hormonal
AINH: Anti-inflamatório Não Hormonal
BBB: Basso Beattie e Bresnahan
BDNF: *Brain Derived Neurotrophic Factor* – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CEUA: Comitê de Ética em Uso Animal
CM: Capacidade Motora
COX: Ciclooxygenase
CTNF: *Ciliary Neurotrophic Factor* – Fator Neurotrófico Ciliar
DPPH: 1,1Difenil-2-picrilhidrazil
EGCG: Epigalocatequina - Galato
EHPV: Extrato Hidroetanólico de Própolis Vermelha
FO: Falso-Operado
GGF: *Glial Growth Factor* – Fator de Crescimento da Glia
µg: Micrograma
h: hora
HERP: Hydroethanolic Extract of Red Propolis
IBP: Ibuprofeno
IL: Interleucina
IT: Intermediary Toes – Distância dos Dedos Intermediários
Kg: quilo
LNP: Lesão Nervosa Periférica
mg: miligrama
mL: Mililitro
mm: milímetro
NGF: *Neuronal Growth Factor* – Fator de Crescimento Neuronal
NO: Nitric Oxide - Óxido Nítrico
NOS: *Sintase Oxide Nitric* – Óxido Nítrico Sintase
NT-3 Neurotrofina 3
NT-4 Neurotrofina 4
OMS: Organização Mundial de Saúde
PL: *Print Length* – Comprimento da Impressão
PP: Posicionamento Proprioceptivo

PNI: *Peripheral Nervous System*

PT: Posicionamento Tátil

SD: Sensibilidade Dolorosa

SFI : *Sciatic Functional Index* – Índice Funcional do Ciático

SNC: Sistema Nervoso Central

SNP: Sistema Nervoso Periférico

TGF β : *Transformation Growth Factor* – Fator de Crescimento Transformador Beta

Th1: Células T helper 1

TNF α : *Tumor Necrosis Factor* – Fator de Necrose Tumoral alfa

TOF: *Distance to Oposite Foot* – Distância do Pé Oposto

Trk: Tirosina Quinase

TS: *Total Spreading* – Distância total de Espalhamento

EFEITO NEUROPROTETOR DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE PRÓPOLIS VERMELHA APÓS LESÃO DE NERVO CIÁTICO EM RATOS

Roberta Almeida Barbosa

As lesões nervosas periféricas (LNP) causam perda das funções neurais que podem levar a incapacidades funcionais do indivíduo acometido, com consequente impacto socioeconômico. O Extrato Hidroetanólico de Própolis Vermelha (EHPV) tem chamado a atenção para a vasta gama de efeitos benéficos à saúde. Diversos estudos com a própolis vermelha sergipana foram publicados na última década apresentando seus efeitos, tais como o anti-inflamatório e o antioxidante, além de a formononetina, um dos principais componentes da própolis terem sido descritos na literatura como agente neuroprotetor. Este estudo teve como objetivo analisar o efeito do EHPV sobre a recuperação funcional após lesão por esmagamento do nervo ciático, através da utilização de testes comportamentais de avaliação neurológica e análise quantitativa da regeneração do tecido nervoso lesionado. Os resultados dos grupos tratados com o EHPV foram comparados aos encontrados no grupo tratado com Ibuprofeno, o qual é um anti-inflamatório não esteroide que apresenta efeitos regenerativos sobre o nervo periférico lesionado. Ratos Wistar machos (250-300g) foram tratados com EHPV de 1 e 10 mg/kg, Ibuprofeno 60 mg/kg e solução de tween a 80% durante 28 dias após a lesão. No presente estudo, os efeitos do EHPV foram avaliados com a utilização de testes comportamentais e avaliação histológica quantitativa. Os grupos EHPV 1 e 10 mg/kg apresentaram melhoras significativas nos testes BBB, Índice funcional do Ciático (SFI), Capacidade Motora (CM), Posicionamento tátil (PT) e Posicionamento Proprioceptivo (PP), quando comparados com os animais não operados ($p < 0.05$). Os resultados dos grupos EHPV foram similares aos do grupo Ibuprofeno e em relação à Capacidade Motora, foram similares ao grupo controle, alcançando a recuperação total nos escores dos testes comportamentais. Os resultados do grupo EHPV 10 mg/kg recebem destaque, não apenas por ser utilizada uma quantidade menor de substância, mas por terem apresentado um aumento no número de fibras mielinizadas e um maior escore no SFI do que o grupo com Ibuprofeno 60 mg/kg. Esses resultados apontam para um efeito de plasticidade, provavelmente devido ao efeito da formononetina quantificada através da cromatografia. Assim, pode ser concluído que o EHPV apresenta um efeito neuroprotetor, induzindo à recuperação do nervo ciático, mostrando efeitos melhores que as drogas anti-inflamatórias convencionais utilizadas no tratamento de lesão do nervo ciático.

Palavras-chave: Regeneração Nervosa; Nervo Ciático; Própolis.

NEUROPROTECTIVE EFFECT OF HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF RED PROPOLIS AFTER SCIATIC NERVE INJURY

Roberta Almeida Barbosa

Peripheral Nerve Injury (PNI) results in neuronal dysfunction that can lead to impaired functional ability and subsequent socioeconomic impacts. Hydroalcoholic Extract of Red Propolis (HERP) has recently attracted a great attention to present wide beneficial health effects. The main components of propolis have been described in literature as a neuroprotective agent. Several studies with red propolis of Sergipe state on the last decade showed its anti-inflammatory and antioxidant effects. Besides, formononetin, the main component of propolis had showed its neuroprotective effects. The aim of the present study was evaluate the functional recovery after sciatic nerve crush through neurological and behavioral tests and quantitative analysis of injured nervous tissue. The results of HERP treated groups, which is an anti-inflammatory drug that shows regenerative effects on injured peripheral nerves. Male Wistar rats (250-300g) were treated with HERP 1 and 10 mg/kg, ibuprofen 60 mg/kg and tween 80% for 28 days after sciatic nerve surgery. In the present study, the effect of HERP on recovery of sciatic nerve crush was studied using behavioral tests and quantitative histological analyses. Animals treated with HERP 1 and 10 mg/kg presented significantly improvement in BBB scores, sciatic functional index (SFI), beam walk performance (BWP) and withdrawal reflex (WR) after injury when compared to untreated animals ($p < 0.05$). The results of HERPs groups were similar to ibuprofen group for Beam Walk test, and in BBB and WR they were also similar to sham group, reaching to total recovery in these behavior scores. Relevant results were achieved using HERP 10 mg/kg that the results showed that the animals presented increased number of myelinated fibers and higher SFI than ibuprofen group. These results pointed to a plasticity effect of HERP, probably due to presence of formononetin, quantified using HPLC. Thus it can be concluded that HERP promotes a neuroprotective effect inducing a recovery of sciatic nerve, showing better effects compared to conventional anti-inflammatory drug used in sciatic nerve injury.

Keywords: nerve regeneration; sciatic nerve; propolis.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

As lesões de nervos periféricos ocorrem com frequência e resultam em perda de funções neurais com prejuízo da capacidade funcional e da qualidade de vida para os indivíduos. Após a lesão do nervo ciático, ocorre o desenvolvimento de um padrão de marcha patológica, além de um quadro de hiperalgesia e parestesia no membro afetado (FERREIRA, 1999; PORTO, 2005; O'SULLIVAN e SCHMITZ, 2004), que implica a dificuldade de realização de atividades da vida diária (AVD's). Dessa forma, tais lesões representam um grande problema para a sociedade devido aos impactos socioeconômicos associados à alta incidência (BOZKURT et al., 2008).

Nas lesões nervosas em que há perda da continuidade axonal, ocorrem modificações celulares e moleculares que se desenvolvem imediatamente após a lesão com a finalidade de remover o segmento danificado e de promover a regeneração axonal favorecendo a recuperação do nervo. O reparo pode ser alcançado através da regeneração dos axônios lesionados e da reinervação dos órgãos alvo (BURNNET e ZAGER, 2004; ROTSHENKER, 2011), mas a recuperação funcional bem sucedida depende de um conjunto de eventos que se desenvolvem distalmente ao sítio da lesão por todo o caminho em direção aos órgãos alvo desnervados, processo conhecido por degeneração Walleriana (ROTSHENKER, 2011).

Dentre as modificações citadas, vale destacar que a modulação da resposta inflamatória e da formação de espécies reativas de oxigênio são aspectos que podem interferir na dinâmica da lesão, como a formação da fibrose glial e do edema. Assim, substâncias com atividade neuroprotetora frente à lesão do nervo ciático tiveram sua ação relacionada a propriedades antioxidante e anti-inflamatória (TUFEK et al., 2013; GONG et al., 2012; MUTHURAMAN & SINGH, 2011, CHU et al., 2012).

A própolis vermelha é produzida na região Nordeste do Brasil e possui propriedades biológicas e químicas diferentes das demais própolis produzidas no restante do país (NUNES et al., 2009). A própolis vermelha sergipana tem sido estudada na última década e várias propriedades têm sido descritas, tais como as atividades anti-inflamatória, imunomodulatória e antioxidante (ALBUQUERQUE-JÚNIOR et al., 2009; BARRETO, 2008; CORRÊA, 2011), quimiopreventivo (CAVALCANTE, 2011) e de gastroproteção (PINHEIRO, 2009; MENDONÇA, 2010). Dentre as propriedades estudadas, destaca-se o efeito neuroprotetor do extrato hidroetanólico de própolis vermelha sergipana sobre a lesão medular em ratos Wistar (BARROSO, 2011; MORAES, 2013), demonstrando que a lesão de nervos periféricos é um promissor campo de estudo.

Muitos dos efeitos citados em própolis são atribuídos à Formononetina, um flavonoide encontrado na própolis vermelha (DAUGSCH et al., 2008) com atividades

biológicas comprovadas no sistema nervoso, tais como atividade antioxidante (OCCHIUTO et al., 2009) e neuroprotetora (SUN et al., 2012).

Atualmente, observa-se um interesse governamental e profissional mundiais em associar o progresso tecnológico ao conhecimento popular e ao desenvolvimento sustentável, visando a uma política de assistência a saúde eficaz e humanizada (SCHMITT et al., 2011). Neste panorama, os produtos apícolas, tais como a própolis, a geleia real, o veneno e o mel de abelhas, têm se destacado por apresentarem importantes propriedades terapêuticas (RATCLIFFE et al., 2011) e suscitado interesse do setor farmacêutico para extração e identificação de novos princípios bioativos a serem utilizados na fabricação de medicamentos (CHERNIACK, 2010).

Partindo do pressuposto que o extrato hidroetanólico de própolis vermelha possa apresentar ação neuroprotetora após lesão do nervo ciático por esmagamento, o presente trabalho, de caráter inédito, pode contribuir para o desenvolvimento econômico regional, inserindo-se no arranjo produtivo local da área de apicultura, e do ponto de vista tecnológico e científico, no tocante ao desenvolvimento de novas opções terapêuticas para lesões de nervos periféricos, além de melhor compreensão do funcionamento do Sistema Nervoso Periférico.

O presente trabalho foi dividido em duas partes, sendo a primeira composta pela introdução e revisão de literatura e a segunda pelo artigo científico.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL:

Avaliar os efeitos da administração oral do extrato hidroetanólico da própolis vermelha sobre a recuperação funcional, após lesão do nervo ciático por axonotmese em ratos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Caracterizar quimicamente o extrato hidroetanólico de própolis vermelha (EHPV);
- Avaliar a atividade antioxidante do EHPV;
- Analisar a progressão do retorno da função motora após a lesão por meio da avaliação funcional comportamental em função dos tratamentos com EHPV, veículo e Ibuprofeno;
- Avaliar a função sensorial quanto à sensibilidade dolorosa após a lesão e as modificações promovidas pelos tratamentos;
- Avaliar quantitativamente o grau regeneração do tecido nervoso

REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O sistema nervoso (SN) é responsável por promover a integração de informações provenientes do ambiente externo ou interno ao organismo e orquestrar uma resposta adequada à situação acionando comandos motores, autonômicos, endócrinos e/ou afetivos com base na experiência prévia. Anatomicamente, o SN pode ser dividido em partes central (SNC) e periférica (SNP). O SNC realiza o processamento das informações e é composto pela medula espinhal e pelo encéfalo, onde estão alojados o tronco encefálico, o diencéfalo, o telencéfalo e o cerebelo. No SNP são encontrados os nervos, gânglios (sensoriais ou autonômicos) e as terminações nervosas. Assim, com relação aos comandos motores necessários para a execução das atividades da vida diária, é o SNP que transmite as informações sensoriais e aciona as respostas motoras geradoras de movimentos (KANDEL, 2008).

1 – Sistema Nervoso Periférico

O Sistema Nervoso Periférico (SNP) é composto por axônios de neurônios motores, e corpos de neurônios sensoriais e autonômicos fora do Sistema Nervoso Central (SNC) e neurônios autonômicos. Especificamente, é composto por raízes espinhais ventrais e dorsais, nervos espinhais e cranianos, gânglios da raiz dorsal e outros gânglios sensoriais, terminações sensitivas e motoras (UMPHRED, 1994). Esta organização estrutural do SNP permite aos axônios conduzir impulsos nervosos que facilitam a interação do indivíduo com o ambiente (TOPP e BOYD, 2006).

O nervo periférico tem como unidade funcional o neurônio, o qual é constituído por um corpo celular que se continua como fibra nervosa. Esta fibra nervosa é formada pelos axônios circundados por células de suporte, as células de Schwann (equivalente aos oligodendrócitos do Sistema Nervoso Central) (LEE e WOLF, 2000). As células de Schwann associadas a fibras mielinizadas ou amielinizadas têm núcleo oval claro com uma distribuição de cromatina e um corpo celular bipolar alongado. Os axônios do SNP são mielinizados em segmentos (internódulos) separados pelos nódulos de Ranvier (KUMAR, ABBAS E FAUSTO, 2004).

Estes axônios possuem organelas e estruturas citoesqueléticas incluindo microfilamentos, neurofilamentos, microtúbulos, mitocôndrias, vesículas, retículo endoplasmático liso e lisossomas. Os grânulos com seu centro denso e as vesículas revestidas estão localizadas nas terminações nervosas (KUMAR, ABBAS E FAUSTO, 2004). O fluxo axoplasmático (citoplasma) de componentes celulares fornece a demanda

metabólica do nervo e do tecido do órgão terminal através do transporte axoplasmático anterógrado (do neurônio para o axônio) e retrógrado (do axônio para o neurônio). As substâncias envolvidas nesse processo são chamadas de fatores tróficos (UMPHRED, 1994).

Os axônios apresentam um delgado envoltório lipoprotéico (axônios amielínicos) (COELHO, FORTUNATO e MOREIRA, 2001) ou apresentam diversas camadas mielínicas (axônios mielínicos) (FLORES, LAVERNIA e OWENS, 2000). A fibra nervosa mielínica é constituída por um único axônio envolto por uma célula de Schwann, cuja membrana envolve a fibra nervosa e forma a bainha de mielina (GRANT, GOODKIN e KLIOT, 1999). A bainha de mielina é interrompida por intervalos regulares ao longo do eixo do axônio que medem de 1 a 3 mm, denominados de nodos de Ranvier, onde ocorre despolarização durante a transmissão do impulso nervoso (FLORES, LAVERNIA e OWENS, 2000; GUYTON e HALL, 1997).

Anatomicamente, o nervo é envolto por três camadas distintas de tecido conjuntivo: epineuro, perineuro e endoneuro (DAGUM, 1998; TOPP e BOYD, 2006). O endoneuro envolve a fibra nervosa e é constituído por tecido conjuntivo frouxo e fibras colágenas tipo I em maior quantidade que do tipo III. O perineuro é formado por tecido conjuntivo denso modelado e fibras colágenas tipo I (camada externa) e tipo III (camada interna) e envolve os fascículos nervosos individualmente (GUIMARÃES, 2006). Ele protege as fibras das compressões externas, mantém a pressão intra-fascicular, auxilia na manutenção do fluxo axoplasmático e forma uma barreira de difusão entre as fibras nervosas e outros tecidos vizinhos (LEE e WOLFE, 2000). O epineuro reveste externamente o nervo e possui uma camada externa e outra interna. A camada externa é composta de tecido conjuntivo denso modelado ou não modelado, enquanto a camada interna apresenta tecido conjuntivo denso. O predomínio nessas camadas é de fibras colágenas tipo I, grande quantidade de fibrócitos e fibroblastos, além de vasos sanguíneos de maior calibre (GUIMARÃES et al., 2006).

O SNP apresenta um sistema vascular intrínseco, bem desenvolvido ao nível das bainhas conjuntivas, sendo os grandes vasos encontrados no epineuro e perineuro e os capilares encontrados apenas no endoneuro, enquanto o sistema extrínseco compreende todos os vasos da região anatômica próxima ao tronco nervoso (FLORES, LAVERNIA e OWENS, 2000; PACHIONI et al., 2006). A comunicação entre o corpo celular e o órgão alvo se dá por meio de um sistema de transporte axonal anterógrado e retrógrado. O transporte anterógrado pode ser rápido, transportando neurotransmissores, ou lento, transportando proteínas. O sistema retrógrado recicla neurotransmissores e transporta fatores neurotróficos para o corpo celular (DAGUM, 1998).

1.1 - O Nervo Ciático

O nervo ciático é o maior nervo do corpo humano, originado do plexo lombossacro, sendo formado pela união dos ramos primários anteriores dos segmentos L4, L5, S1, S2 e S3. É responsável pela maioria das funções motoras dos membros inferiores. É formado por duas divisões: os nervos fibular comum (oriunda da divisão primária posterior) e tibial (oriunda da divisão primária anterior), que estão unidas por tecido conjuntivo, formando um único nervo até a porção inferior da coxa, onde se dividem e percorrem trajetos diferentes na perna e no pé. O nervo ciático, assim como outros grandes nervos é composto, em sua maior parte por fibras mielínicas (DISTAD e WEISS, 2013).

Este nervo apresenta ramos para a inervação dos músculos quadrado femoral, gêmeos superior e inferior, obturador interno e piriforme, na sua porção intrapélvica; na região da coxa, seus ramos inervam os músculos adutor magno, semimembranoso, semitendíneo e a cabeça longa do bíceps femoral (divisão tibial) e a cabeça curta do bíceps femoral (divisão fibular comum). Já na região posterior do joelho, acima da fossa poplíteia, o nervo ciático se divide em nervos tibial e fibular comum. O nervo tibial fornece um ramo cutâneo, dando origem ao nervo sural, que na região plantar divide-se em nervos plantares medial e lateral e inerva os músculos poplíteo, plantar, gastrocnêmio, sóleo, tibial posterior, flexor longo dos dedos e flexor longo do hálux. Já o nervo fibular comum, cruza a borda medial da região poplíteia, contorna posteriormente a cabeça da fíbula e se divide em nervos fibulares superficial e profundo e inerva os seguintes músculos: cabeça curta do bíceps femoral, musculocutâneo, tibial anterior, fibular longo, extensores longos dos dedos e do hálux, extensor curto dos dedos e 1º interósseo dorsal (FERREIRA, 1999).

1.2 – Lesão Nervosa Periférica

Clinicamente, as lesões de nervos periféricos podem ser diagnosticadas desde apenas uma desmielinização axonal a um nervo completamente seccionado (SEDDON, 1943). As lesões dos nervos periféricos são classificadas em neuropraxia, axonotmese e neurotmese, classificação estabelecida por Herbert Seddon (1943), a qual é utilizada na prática clínica atual. A neuropraxia é caracterizada por um bloqueio temporário da condução nervosa. É uma lesão leve e não altera a estrutura do nervo, havendo pouca perda das funções motora e sensitiva. A neurotmese ocorre quando o bloqueio da condução nervosa é dado por uma perda da continuidade do nervo, sendo esta a forma mais grave de lesão. Ocorre a transecção total do nervo, com desordenação do axônio, gerada por fibrose do tecido e cessão do crescimento axonal. A recuperação espontânea, sem reparo cirúrgico é

pobre. O axônio perde sua integridade em consequência de uma lesão brusca. (GRANT, GOODKIN & KLIOT, 1999; ROBINSON, 2000).

A lesão denominada axonotmese é caracterizada por um bloqueio da condução nervosa devido à perda de continuidade do axônio, com preservação da membrana epineural. A porção distal do axônio é separada do corpo da célula neuronal. É intermediária e decorre de traumatismo mais intenso que a neuropraxia. É típica de esmagamentos, estiramentos ou contusões, característica de axônios lesionados dentro dos tubos de Schwann ainda intactos, sem alternar a contigüidade do tronco nervoso (STOLL e MÜLLER, 1999).

Uma lesão completa do nervo ciático em sua região proximal pode promover a paralisia dos músculos isquiotibiais e dos situados abaixo do joelho. Essa paralisia gera incapacidade de realizar a flexão do joelho, flexão dorsal do pé, extensão dos dedos, flexão plantar, flexão dos dedos, eversão e inversão do pé (FERREIRA, 1999). Diante dessas lesões, o quadro clínico pode apresentar marcha com dificuldade em elevar o joelho e pé caído, a chamada marcha escarvante, na qual o indivíduo levanta acentuadamente o membro inferior para evitar tropeçar (PORTO, 2005). Essa marcha patológica dificulta a progressão do corpo para frente (O'SULLIVAN e SCHIMITZ, 2004). Nas lesões em suas porções sensitivas, o quadro clínico apresenta-se com dor e parestesia na perna e no pé (FERREIRA, 1999).

A resposta do sistema neuromuscular depende do tipo de lesão. A lesão por esmagamento do nervo que afeta somente as células de Schwann pode causar bloqueio temporário de condução no local da desmielinização. Por outro lado, uma lesão do nervo que desliga o axônio do corpo da célula dos neurônios, referido aqui como a axotomia, como no caso de uma lesão por esmagamento ou uma lesão que rompe os axônios, exige que o neurônio regenere o axônio e refaça o contato perdido com os alvos desnervados. Se a lesão ocorrer longe do alvo, a regeneração do nervo requer semanas e até anos, sendo a taxa de regeneração de 1-3 mm / dia. Após a lesão do nervo, as células de Schwann desnervadas perdem sua mielina, multiplicam-se e formam os tubos endoneuriais dentro do coto do nervo distal para orientar e apoiar os axônios em regeneração (FU e GORDON, 1997). Se os cotos distais não são reinervados e as células de Schwann permanecem desnervadas, eles progressivamente atrofiam e sua capacidade de apoiar a regeneração axonal diminui drasticamente (GORDON, 2010).

1.3 - Degeneração de nervos periféricos

Nas lesões nervosas em que há perda da continuidade axonal, ocorrem modificações celulares e moleculares que se desenvolvem imediatamente após a lesão com

a finalidade de remover o segmento danificado, de promover a regeneração axonal favorecendo a recuperação do nervo (BURNNET e ZAGER, 2004).

A recuperação funcional bem sucedida depende de um conjunto de eventos celulares e moleculares que se desenvolvem distalmente ao sítio da lesão por todo o caminho em direção aos órgãos alvo desnervados, processo conhecido por Degeneração Walleriana (ROTSHENKER, 2011),

A degeneração Walleriana ocorre no coto distal e tem início nas primeiras 48-96 horas após a lesão (LEE; WOLFE, 2000). Primariamente, o axônio atrofia, se fragmenta e adquire formato irregular. Secundariamente, a mielina, se presente, degenera-se e se retrai (UMPHRED, 1994). O acúmulo de macrófagos ocorre na região do coto distal onde chegam através da vasculatura íntegra, guiados pelas quimiocinas e citocinas até o sítio da lesão (SHAMASH et al., 2002). Em seguida, ocorre a proliferação das células de Schwann para a realização da fagocitose dos restos mielínicos em degeneração (ROTSHENKER, 2011), as quais se alinham no tubo da lâmina basal formando as bandas de Büngner que proverão o caminho para as fibras nervosas em regeneração (STOLL; MÜLLER, 1999). As bandas de Büngner atuam como um canal por onde o crescimento axonal é guiado e as moléculas de adesão celular (CAMs) juntamente com os fatores neurotróficos são essenciais para o crescimento axonal no interior deste canal. As CAMs promovem orientação e adesão dos axônios e das células de Schwann (FU; GORDON, 1997; WEBBER; ZOCHODNE, 2010).

No coto proximal ocorre a degeneração axonal retrógrada até o nódulo de Ranvier próximo da lesão (LEE e WOLFE, 2000). O processo envolve muitas interações entre os elementos celulares e entre eles e a matriz extracelular (TERENGI, 1999). Essa degeneração é responsável pela remoção e reciclagem axonais e do material mielínico e prepara o ambiente para o crescimento dos axônios em regeneração. Os axônios produzem uma série de brotos colaterais e terminais, para realizar a ligação com o coto distal, o qual apresenta fatores de crescimento fornecidos pelos órgãos alvo. Esses brotamentos no coto distal formam o cone de crescimento. Nas 2ª e 3ª semanas após a lesão, acontece uma série de alterações funcionais e estruturais do corpo celular, iniciando pela cromatólise, caracterizada pelo aumento do corpo celular, migração do núcleo para a periferia e dissipação dos corpúsculos de Nissl (STOLL e MÜLLER, 1999).

Durante o primeiro mês, as células de Schwann entram no sítio de lesão dos cotos proximal e distal e, progressivamente, tornam-se alinhadas em paralelo com os axônios e a matriz extracelular para dar suporte à regeneração dos brotos axônicos; inicialmente, há notável desorganização com gradual ordenação das proteínas e células de acordo com os brotos axonais emitidos (REDETT et al., 2005). Em cada broto axonal do coto distal, há a

formação de um cone de crescimento, que tem a função de explorar o ambiente através de movimentos constantes a fim de promover o direcionamento e a acurácia da regeneração axonal em direção aos órgãos-alvo (LUNDBORG, 2000). Então, cada axônio do coto proximal passa a produzir uma grande quantidade de brotos que avançam distalmente em direção aos órgãos-alvo. Aqueles que formam uma conexão com o órgão terminal sobrevivem, enquanto aqueles que não estabeleceram nenhuma conexão desaparecem (BURNNET e ZAGER, 2004).

Devido à Degeneração Walleriana, ainda na primeira semana, ocorre a atrofia muscular, caracterizada pela diminuição progressiva do volume das fibras e substituição por tecido conjuntivo (LEE e WOLFE, 2000). A cicatriz fibrótica formada atrasa a regeneração, podendo impedir que os órgãos alvo corretos sejam inervados (ROBINSON, 2000).

1.3.1 Regeneração após a LNP

Os fatores de crescimento, em especial as neurotrofinas, promovem a sobrevivência e a regeneração de neurônios periféricos. Fatores de crescimento e citocinas são polipeptídeos produzidos por diferentes tipos de células, inclusive as células de Schwann, e com múltiplas ações. (BOYD e GORDON, 2003; HOPKINS e ROTHWELL, 1995).

O Fator de Crescimento Neuronal (NGF) foi o primeiro fator de crescimento a ser descoberto; é produzido nos órgãos alvo e enviado aos corpos neuronais por transporte axonal retrógrado. Tem como funções a proliferação e diferenciação de neurônios, promovendo o reparo e a recuperação funcional de nervos lesionados (PETRUSKA e MENDELL, 2004). Outros membros da família das neurotrofinas incluem o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), a neurotrofina-3 (NT-3) e a neurotrofina-4/5. Elas têm afinidades variadas pelos receptores p75 e tirosina quinase (trk), cuja interação promove a interiorização das neurotrofinas nos terminais neuronais (TERENGI, 1999). Estudos sugerem que o BDNF presente em células de Schwann e neurônios sensitivos apresenta uma importante atuação na regeneração de nervos periféricos (ZHOU et al., 1999). O NT-3 apresenta-se em grande quantidade nos músculos esqueléticos, exercendo um papel trófico para neurônios sensoriais na inervação dos fusos musculares e para motoneurônios (TESSAROLO et al., 1994).

O Fator de Crescimento Derivado da Glia (GDNF) é um membro da superfamília do Fator de Crescimento Transformador Beta (TGF- β) e tem efeito trófico sobre as células dos gânglios das raízes dorsais, bem como sobre motoneurônios e neurônios autonômicos (TERENGI, 1999). Sua expressão pelo RNAm ocorre nos músculos esqueléticos (HENDERSON, 1994) e ele é transportado retrogradamente para os motoneurônios (YAN et al., 1995).

O Fator Neurotrófico Ciliar (CTNF) é uma citocina neuroativa produzida pelas células de Schwann e presente em nervos periféricos normais nas células de Schwann mielinizadas responsáveis pela preservação da massa muscular, pela reinervação desta após uma lesão nervosa (NEWMAN et al., 1996), além de mielinização de axônios em regeneração (SHAENK et al., 1994). O Fator de Crescimento da Glia (GGF) é um fator específico para as células de Schwann e originalmente caracterizado como um mitógeno destas (TERENGI, 1999).

As citocinas são glicoproteínas envolvidas nas respostas inata e adaptativa, bem como no crescimento e diferenciação celular, angiogênese, e processos de reparação em relação a homeostase (OPPENHEIM, 2001). Elas desempenham um importante papel na reação do sistema nervoso à lesão, funcionando como sinalizadores e mensageiros intercelulares na resposta imune à lesão no sistema nervoso (STOLL, JANDER e SCHROETER, 2002). As células efectoras T são divididos em T-helper de tipo 1 e tipo 2 (células Th1 e Th2), de acordo com o seu padrão de citocinas: Th1 células secreta predominantemente interferon-gama (IFN- γ) e interleucina-2 (IL-2), enquanto que as células Th2 secretam IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13 (ROMAGNANI, 2006; WAN e FLAVELL, 2006). As células Th1 são cruciais para imunidade mediada por células, ao passo que as Th2 estão envolvidas em respostas humorais. IFN- γ é um ativador potente de fagócitos mononucleares, induzindo a explosão respiratória e aumentando a fagocitose microbiana (SCHINKEL, 2003; ROMAGNANI, 2006).

A Interleucina-1 (IL-1) é uma família de citocina pró-inflamatórias potentes, produzidas na periferia principalmente por monócitos (HILDEBRAND, PAPE, KRETTEK, 2005). A Interleucina-1Beta (IL-1 β) é uma citocina pró-inflamatória cuja expressão está aumentada no sistema nervoso mediante lesões ou doenças degenerativas (ALLAN, TYRRELL e ROTHWELL, 2005). A IL-2 é responsável pela expansão clonal de células T após o reconhecimento de antígeno, e a presença de IL-4 inibe o desenvolvimento de células Th1 células (SKAPENKO et al., 2004). A IL-10 é uma citocina antiinflamatória com efeitos sobre a regulação de macrófagos (SCUMPIA e MOLDAWER, 2005). É uma das citocinas antiinflamatórias mais importantes e pode inibir a ação de outras citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF α , etc.), evitando ou revertendo muitos quadros de hiperalgisia patológica (LEDEBOER et al., 2007).

O Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF α) é uma citocina pró-inflamatória, também conhecida como catequina, produzida principalmente por monócitos, macrófagos e linfócitos T, que são abundantes no peritônio e no tecido esplênico. Também está presente nos neurônios e células da glia, desempenhando funções importantes tanto na hiperalgisia inflamatória quanto na neuropática (OLIVEIRA et al., 2011). É produzido pelas células de Schwann e por células sanguíneas envolvidas na degeneração walleriana (STOLL, JANDER

e SCHROETER, 2002) e participa da modulação das mudanças degenerativas iniciais na lesão nervosa periférica, apresentando níveis mais elevados no coto distal (HOPKINS e ROTHWELL, 1995).

Outro indicador da ativação dos macrófagos é a produção do óxido nítrico (NO) a partir da L-arginina pela enzima óxido nítrico sintase (NOS) (NOVELLI, 2005). O óxido nítrico é um importante mecanismo antimicrobiano dos macrófagos para inibir a síntese de DNA, a respiração mitocondrial, e o transporte ativo nas membranas de fungos e bactérias, além de ser um importante vasodilatador e mediador celular na reparação tecidual (CHAKRABORTY et al., 2006). Entretanto, a produção excessiva de NO pode ser patogênica para os tecidos, pois atua como um radical reativo lesionando as células saudáveis (BÚFALO et al, 2013).

Após a lesão axonal, as células de Schwann do coto distal regulam a síntese dos fatores de crescimento NGF, BDNF, NT-4 e p75, exceto o NT-3. Acredita-se que o aumento combinado de NGF e p75 responde pela proliferação e migração das células de Schwann aos órgãos alvo (ANAND et al., 1997). O BDNF reduz a morte de motoneurônios após axotomia em adultos após a avulsão de raízes ventrais (NOVIKOVA et al., 1997) e após axotomia do nervo ciático (FRIEDMAN et al., 1995). Após a lesão nervosa, o CTNF encontra-se diminuído nas células de Schwann do coto distal, redução esta que se estende até a junção neuromuscular (NEWMAN et al. 1996).

Após uma lesão do nervo ciático, ocorre uma rápida regulação da síntese do GDNF no coto distal do nervo com um aumento demorado deste no músculo (NAVEILHAM et al., 1997).

1.4 – Métodos de avaliação (Testes comportamentais)

A avaliação da funcionalidade da regeneração do axônio é realizada utilizando testes que detectem a sua recuperação funcional (BOZKURT et al., 2008). A demonstração de benefícios sobre o funcionamento do órgão-alvo dos axônios pode ser crucial para atrair o interesse clínico, e pode ser conseguido usando testes comportamentais. As análises de marcha têm recebido maior atenção na pesquisa de lesão de nervo periférico no nervo ciático de roedores (DE MEDINACELLI, 1982). Dentre os testes utilizados para observar o processo de regeneração destacam-se os testes comportamentais: Escala de Basso, Beattie e Bresnahan (BBB), o Índice Funcional do Ciático (SFI), Capacidade Motora (CM); e os testes sensoriais: Posicionamento Tátil (PT), Posicionamento Proprioceptivo (PP) e Snesibilidade Dolorosa (SD).

1.4.1 – Escala BBB

A escala de locomoção BBB (BASSO, BEATTIE E BRESNAHAM, 1995) foi desenvolvida para avaliar os padrões de recuperação funcional em ratos que sofreram lesão medular moderada. Ela é um método avaliativo discriminativo de funções como a marcha, exploração, movimentos articulares, passos plantares com descarga de peso, coordenação de membros anteriores e posteriores, abertura dos dedos, estabilidade do tronco e posição da pata e da cauda (anexo 1). É uma mensuração válida da recuperação motora apta a distinguir resultados comportamentais de acordo com os graus de lesão medular (HADI et al., 2000; LEE et al., 2002; METZ et al., 2000).

Esta escala tem por objetivo avaliar a evolução da recuperação funcional motora dos animais. Para isso, os animais são colocados um a um em uma arena de testes idêntica a arena do teste de Campo Aberto e observados durante 4 minutos, enquanto se locomovem livremente. Os parâmetros colhidos em cada teste são anotados em tabelas individuais e posteriormente classificados por meio de uma escala que varia de 0 a 21 pontos. Os pontos refletem a condição motora dos animais, onde zero representa paralisia total do membro e 21 pontos representa função motora normal do membro (BASSO; BEATTIE & BRESNAHAN, 1995).

Pontuações entre 0 e 7 indicam o retorno de movimentos isolados de até três articulações (quadril, joelho e tornozelo). Pontuações entre 8 e 13 indicam o retorno dos passos plantares e coordenação dos movimentos entre patas posteriores e anteriores. Por fim, pontuações entre 14 e 21 mostram o retorno da abertura dos dedos durante a passada, posição predominante da pata em paralelo ao tronco, estabilidade de tronco e levantamento da cauda (BASSO; BEATTIE & BRESNAHAN, 1995).

Num estudo realizado por Schiaveto de Souza e colaboradores (2004), foram utilizados a escala BBB e o Índice Funcional do Ciático (SFI), em caráter comparativo, para avaliar a recuperação funcional de ratos submetidos à lesão do nervo ciático por esmagamento, demonstrando a escala BBB é tão eficaz quanto o SFI, superando o SFI na sensibilidade em distinguir sutis déficits não mensurados pelo SFI, mostrando-se eficaz na mensuração da recuperação de lesões nervosas periféricas.

1.4.2 - O Índice Funcional do Ciático (SFI)

Medinaceli *et al.* (1982) publicaram um estudo sobre a confecção de um índice que poderia avaliar a condição funcional do nervo ciático de ratos baseado em medidas feitas a partir da análise impressa da marcha do animal. Segundo eles, até então, não havia um

relato científico amplamente aceito sobre um método quantitativo que avaliasse os efeitos de lesões em nervos periféricos.

O Índice Funcional do Ciático (SFI) foi desenvolvido a partir das medidas das impressões das patas traseiras conservadas em filmes de raios X. Os animais foram confinados em uma passarela de 43 x 8,7 cm com um abrigo escuro no final desta. Após duas ou três tentativas de condicionamento, durante as quais os animais paravam para explorar o corredor, um pedaço de filme virgem de raios X era cortado nas dimensões do corredor e colocado sobre este. As patas traseiras dos animais foram embebidas em solução reveladora e então, os animais realizavam a caminhada até o abrigo escuro.

A partir da impressão das pegadas, quatro variáveis foram analisadas: a) Distance To Opposite Foot (TOF): distância do topo do pé experimental ao topo do pé seguinte contralateral normal, chamada de ETOF. O contrário, ou seja, a distância do topo do pé normal ao topo do pé seguinte contralateral experimental foi denominada NTOF; b) Print Length (PL): comprimento de uma pegada, ou seja, distância longitudinal entre os dois pontos mais extremos da pegada, medido para o lado normal e para o experimental; c) Total Spreading (TS): distância linear do centro do primeiro dedo ao centro do quinto dedo da mesma pata; d) Intermediary Toes (IT): distância linear entre os centros do segundo e quarto dedos da mesma pata. Outros parâmetros tais como ângulo dos pés, largura entre os pés foram rejeitados, pois eram muito variáveis.

Em 1978, Hasegawa afirmou que o uso das distâncias entre o primeiro e o quinto dedos e entre o segundo e o quarto dedos da pata traseira do rato forneciam um método útil para avaliar a recuperação funcional após esmagamento do nervo ciático (ANEXO 2).

Estudos subsequentes foram realizados substituindo-se o filme de raio X por papel comum e o revelador por tinta atóxica, os quais foram adotados neste estudo.

Algumas desvantagens deste método foram relatadas, tais como o fato de o cálculo do SFI ser bastante difícil no período inicial após a lesão do nervo ciático, pois a identificação de características do SFI é dificultada pela paralisia da pata afetada (MONTE-RASO et al., 2008). Outra desvantagem refere-se ao tratamento dos dados do SFI não ser automatizado, o que torna a análise de dados bastante laboriosa e demorada, limitando assim a análise de conjuntos de dados relativamente grandes (BERVAR, 2000).

1.4.3 – Capacidade Motora (CM)

O teste de capacidade motora foi inicialmente desenvolvido para avaliar o comprometimento motor em lesões medulares. É baseado na observação da atividade espontânea do animal, colocando-o primeiro em um campo aberto e, quando apresentar apenas déficit discreto na deambulação, deve ser colocado para caminhar em barras de

madeira cada vez mais estreitas de acordo com a capacidade neurológica do animal (VON EULER *et al.*, 1996). Ma *et al.* (2001) ressaltaram que apesar da observação cuidadosa da locomoção em campo aberto fornecer informações importantes sobre a existência de alterações, algumas vezes as anormalidades visualizadas podem ser sutis e subjetivas e a aplicação de outros testes neurológicos ajudam a percebê-las. Portanto, o teste de locomoção quando realizado sobre barras estreitas, suspensas do solo, possibilita a detecção de déficits mínimos que poderiam passar despercebidos no andar em campo aberto (FAROOQUE, 2000; METZ, *et al.*, 2000).

Este teste detecta com maior facilidade o comprometimento dos tratos sensitivos dos funículos dorsais que geram informações para movimentos refinados dos membros e dígitos. Portanto, mesmo para pequenas lesões é possível avaliar a eficácia de diferentes estratégias terapêuticas, pois além de sua alta sensibilidade, e por ter uma escala gradual objetiva, apresentam resultados altamente correlacionados com as alterações histológicas (VON EULER *et al.*, 1996; VON EULER *et al.*, 1997; FAROOQUE, 2000; METZ *et al.*, 2000) (ANEXO 3).

1.4.4 – Sensibilidade Dolorosa (SD)

A sensibilidade dolorosa mensura o grau de integridade da comunicação aferente entre medula espinhal e encéfalo, podendo ser realizada através de pressão aplicada na prega interdigital do animal, que normalmente induz nocicepção visualizada pela retirada do membro e vocalização. A sensibilidade dolorosa (SD) dos animais foi avaliada através da compressão do espaço interdigital do animal das patas traseiras; o grau de vocalização e o desconforto foram obtidos como parâmetros e classificados nos escores ausente (escore 0), reduzido (escore 1) e normal (escore 2) (SILVA *et al.*, 2008; TORRES *et al.*, 2010). Quanto maior o escore atingido pelo animal, melhor é a sua recuperação sensorial (ANEXO 3).

1.4.5 – Posicionamento Proprioceptivo (PP)

O posicionamento proprioceptivo (PP) é um teste sensorial e motor realizado através da flexão da articulação tíbio-társica induzindo apoio dorsal dos metatarsos em uma superfície plana. Foram observadas velocidade e precisão com que o animal retornou a pata para posição normal, denotando os escores ausente (escore 0), reduzido (escore 1) ou normal (escore 2) (TORRES *et al.* 2010). (ANEXO 3)

2 – Possibilidades terapêuticas para lesões do sistema nervoso periférico

2.1 - Reabilitação

Os tratamentos para lesões de nervos periféricos têm sido amplamente estudados com o principal objetivo de reduzir o tempo de reparo e de recuperação funcional. Em 2011, foram estudados o efeito dos exercícios aeróbicos de baixa intensidade (BOBINSKI et al., 2011) e a natação (TEODORI et al., 2011) em ratos submetidos a lesões do nervo ciático por esmagamento e foi observada a melhora na recuperação funcional (BOBINSKI et al., 2011) e a aceleração do processo de regeneração do nervo (TEODORI et al., 2011).

Contrariando os efeitos benéficos alcançados com a atividade física, um trabalho utilizando a estimulação elétrica nas fases aguda e tardia da lesão nervosa periférica não apresentou resultados satisfatórios, promovendo o aumento da atrofia muscular e a diminuição da recuperação funcional após lesão do nervo ciático por esmagamento (GIGO-BENATO et al., 2010).

2.2 – Medicamentos

Estudos com drogas sintéticas também têm apresentado resultados satisfatórios. Dentre elas, destaca-se a classe dos anti-inflamatórios esteroidais (AIE) e dos não esteroidais (AINE). O uso de uma associação do hormônio Calcitonina, da Nifedipina e solução salina isotônica, medicamento para aumentar a absorção de cálcio após a lesão, promoveu um grau de regeneração do nervo lesionado proporcional à absorção do excedente de cálcio depositado após a lesão (YAN et al., 2013).

Dentre os AINE, o Ibuprofeno é o fármaco eleito, sendo demonstrados efeitos positivos sobre a LNP. Num trabalho realizado por MADURA, TOMITA e TERENGI (2011) sobre o efeito do Ibuprofeno em lesão nervosa periférica de ratos, eles demonstraram que o grupo que recebeu Ibuprofeno apresentou axônios com bainhas de mielina mais espessas e melhor desenvolvidas, além de reduzir o tempo de regeneração axonal e reinervação muscular em relação ao grupo controle, por diminuírem os danos secundários da inflamação. Em outro estudo utilizando Ibuprofeno na contusão da medula espinhal, foi demonstrado que o Ibuprofeno favoreceu o brotamento axonal, a neuroproteção e a regeneração (WANG et al., 2009).

O Ibuprofeno é um composto não esteroide utilizado nos casos de dor, inflamação e febre, caracterizado pelo seu rápido início de ação, 30 minutos após a ingestão, sendo prolongado por 4 a 6 horas. Seu metabolismo é feito pelo fígado e sua eliminação completa se dá em 24 horas após a última dose. É utilizado em processos reumáticos, perturbações

músculo-esqueléticas, quadros consecutivos a afecções degenerativas da raqui e em processos inflamatórios ginecológicos. É um agente anti-inflamatório derivado do ácido propiônico, que age provavelmente inibindo a síntese de prostaglandinas. Seu efeito tem sido comparado em vários estudos com os do ácido acetilssalicílico e obteve vantagem sobre este devido ao baixo índice de reações adversas (MEDLEY, 2010).

Um mecanismo de ação comum dos anti-inflamatórios não esteroidais é inibir as enzimas ciclo-oxigenases 1 e 2 (COX-1, COX-2) e a conversão e síntese do ácido araquidônico em efetores neuroinflamatórios, tais como as prostaglandinas e citocinas pró-inflamatórias (CARTY, 2011).

Apesar do uso de drogas e exercícios de reabilitação ser a principal escolha clínica no tratamento de lesões de nervos periféricos, é crescente a publicação de estudos demonstrando a eficácia de produtos naturais como alternativa para o tratamento.

2.3- Produtos naturais

Os produtos naturais são compostos orgânicos provenientes de plantas, de organismos marinhos e terrestres, vertebrados e invertebrados e foram utilizados extensivamente no passado e ainda no presente tornaram-se imprescindíveis para o tratamento de diversas doenças, pois constituem novas entidades químicas de larga diversidade estrutural que funcionam como compostos de interesse tanto na sua forma natural, como modificados para modelos semi ou totalmente sintéticos (RATCLIFFE et al., 2011; BUTLER; NEWMAN, 2008; CHIN et al., 2006). Atualmente, observa-se um interesse governamental e profissional mundiais em associar o progresso tecnológico ao conhecimento popular e ao desenvolvimento sustentável, visando a uma política de assistência a saúde eficaz e humanizada (SCHMITT et al., 2011; THOMAS; JOHANNES, 2011; CHIN et al., 2006).

A introdução de produtos naturais de diferentes culturas no mercado mundial, a exemplo dos utilizados na medicina oriental tem contribuído para o tratamento de diversas doenças, indicando novas possibilidades de comercialização e maior diversificação de estudos do produto natural. Diante da diversidade abundante de estruturas químicas complexas e pouco estudadas, presentes em produtos naturais, diversos trabalhos têm sido publicados, visando a comprovar suas propriedades farmacológicas e toxicológicas, bem como definir as substâncias químicas presentes responsáveis pela ação biológica desses produtos (CARVALHO et al., 2008; BARREIRO; BOLZANI, 2009; ARAYA; KINDSCHER; TIMMERMANN, 2012).

Os produtos naturais têm sido amplamente explorados pela população e pela área científica por apresentarem composição rica em substâncias importantes para a

manutenção da saúde, dentre os quais destacam-se os flavonóides (ZHAO et al., 2011). Os flavonóides oferecem potenciais terapêuticos antioxidante e anti-inflamatório significantes para o organismo e estão sendo utilizados na tentativa de cura de várias patologias, inclusive aquelas que envolvem doenças neurológicas (GENOVESE et al., 2010; ZHAO et al., 2011).

Em 2013, Renno e colaboradores extraíram a substância –Epigallocatequina-3-galato (EGCG), principal componente polifenólico do chá verde, cujas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias são conhecidas, e observaram seu efeito sobre ratos submetidos à lesão por esmagamento do nervo ciático. O estudo demonstrou aceleração no processo regenerativo do nervo após a lesão.

Em 2011, Noorafshana e colaboradores extraíram a cúrcuma, pigmento que confere a cor amarela ao Açafrão-da-Índia e observaram seus efeitos neuroprotetores sobre o nervo ciático após a lesão por esmagamento em ratos, através do aumento da área, do número e do diâmetro de fibras mielinizadas. Outro composto derivado de açafrão, a Crocina (composto químico carotenóide de ação antioxidante) foi estudado por Tammadonfard e colaboradores em 2013 e foram observados o efeito antioxidante pela redução dos efeitos tóxicos dos radicais livres, o aumento dos escores do SFI e a redução do grau da degeneração Walleriana no mesmo tipo de lesão do nervo ciático.

Ma e colaboradores (2010) utilizaram o Ginsenoside Rg1 (GRg1), composto bioativo extraído do Ginseng, para o tratamento de ratos submetidos à mesma lesão por esmagamento e observaram o aumento do brotamento axonal, do número e do diâmetro de axônios mielinizados e o aumento da recuperação funcional pelo SFI.

Neste panorama, os produtos apícolas, tais como a própolis, a geléia real, o veneno e o mel de abelhas, têm se destacado por apresentarem importantes propriedades terapêuticas (RATCLIFFE et al., 2011; CHERNIACK, 2010) e suscitado interesse da indústria farmacêutica para extração e identificação de novos princípios bioativos a serem utilizados na fabricação de medicamentos.

2.4 – Própolis Vermelha

Própolis é um termo genérico utilizado para descrever uma mistura complexa de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas colhidas por abelhas melíferas de brotos, flores e exsudatos de plantas, às quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e

pólen para a elaboração do produto final. A própolis vermelha é encontrada na região Nordeste do Brasil e tem forte potencial de utilização pela indústria farmacêutica, despertando o interesse do mercado internacional. Ela é um dos poucos "remédios naturais" que vêm sendo utilizados por um longo período de tempo por diferentes civilizações (MENESES, 2005).

Em geral a própolis contém cera de abelha, resinas (contendo geralmente compostos voláteis e fenólicos), e outros constituintes minoritários, tais como açúcares, aminoácidos e pólen. A resina é derivada de material vegetal que as abelhas colhem e que lhe conferem as atividades biológicas (SALATINO, TEIXEIRA, NEGRI et al., 2005), demonstrando que a composição química da própolis varia conforme a vegetação ao redor das colmeias (RIGHI et al., 2011).

A palavra própolis é derivada das palavras gregas "Pro" (que significa "em frente"), e 'polis' (que significa 'cidade'). Desta maneira, a própolis pode servir como um meio para as colônias para melhor manter a homeostase do ninho através da redução do crescimento microbiano nas paredes da colméia, a prevenção do fluxo de ar descontrolado para o ninho, a impermeabilização de paredes contra a umidade externa, e a proteção contra os invasores. Portanto, a própolis pode significar simplesmente a defesa da colméia. No entanto, mais recentemente, alguns estudos têm revelado que a própolis em colônias de abelhas melíferas pode desempenhar um papel mais sutil na imunidade da colônia, na defesa direta contra parasitas e patógenos (MIGUEL e ANTUNES, 2011).

A própolis vermelha é encontrada na região nordeste do Brasil e não há evidências deste tipo de própolis em outras regiões brasileiras. Sua possível origem botânica é a espécie *Dalbergia ecastophyllum* (L) Taud. (Leguminosae), a qual responde pela coloração vermelha deste tipo (DAUGSCH et al., 2008; FRANCHI et al., 2012; SILVA et al., 2008), devido à presença dos pigmentos retusapurpurin A e retusapurpurin B (PICCINELLI et al., 2011). É um novo tipo de própolis que difere dos 12 tipos classificados por Park e colaboradores (2000). Segundo Alencar e colaboradores (2007), a própolis vermelha possui compostos bioativos (flavonóides, polifenóis) nunca antes encontrados em outros tipos de própolis, os quais servem como marcadores químicos desta.

Estudo sobre a composição de uma amostra de própolis vermelha da região de Alagoas, região Nordeste do Brasil, demonstrou a presença da chalcona isoliquiritigenina, as isoflavonas 3s-vestitol, 3s-7-O-metilvestitol, o pterocarpano medicarpina, os fenilpropenos trans-anetol, metil eugenol, elimicina, metoxieugenol e cis-asarone e os alcoóis triterpenos lupeol alfa e beta amirinas. A amostra exibiu uma potente atividade antioxidante contra o radical DPPH (RIGHI et al., 2011).

Mesmo havendo relatos atribuindo à própolis as mais variadas aplicações em medicina popular e em veterinária, os estudos científicos confirmam que a própolis vermelha

possui um grande potencial terapêutico, principalmente, em relação às atividades antiinflamatória, antimicrobiana, antineoplásica e antioxidante. O melhor conhecimento de suas propriedades visa, além da pesquisa e desenvolvimento de novas drogas, à agregação de valor econômico à própolis bruta, a fim de gerar uma fonte econômica de exploração agrícola e extrativismo auto-sustentável. (MENESES, 2005).

Em relação à atividade biológica da própolis, Franchi e colaboradores (2012) realizaram uma comparação entre a citotoxicidade das variedades verde e vermelha de própolis brasileira em linhagens de células leucêmicas e os resultados mostraram que a própolis vermelha foi mais citotóxica. Em um estudo realizado para avaliação da toxicidade aguda e atividade gastroprotetora do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha dissolvido em propilenoglicol, a toxicidade aguda do extrato foi verificada em ratos utilizando doses entre 100 e 400 mg/kg e pôde-se evidenciar que a própolis vermelha em doses menores que 400 mg/kg não apresentou sinais de toxicidade com uma importante atividade gastroprotetora. Os dados laboratoriais sugerem a inexistência de hepatotoxicidade e nefrotoxicidade para o uso da própolis vermelha na referida dose (LEITE, 2009).

Dados mais recentes publicados em 2013 por Da Silva Frozza e colaboradores demonstraram os efeitos citotóxicos *in vitro* da própolis vermelha (10-150 µg/mL) em linhagens diferentes de células tumorais, indicando uma clara atividade anticâncer pela inibição da proliferação do crescimento celular em diferentes níveis.

Embora a composição química da própolis seja um dado extremamente importante, suas distintas atividades farmacológicas podem também decorrer do sinergismo entre seus diversos compostos químicos. Os principais compostos químicos isolados da própolis até o momento podem ser organizados em alguns grupos principais como: ácidos e ésteres alifáticos, ácidos e ésteres aromáticos, açúcares, alcoóis, aldeídos, ácidos graxos, aminoácidos, esteróides, cetonas, charconas e di-hidrocharconas, flavonóides (flavonas, flavonóis e flavononas), terpenóides, proteínas, vitaminas B1, B2, B6, C, E, bem como diversos minerais (BANKOVA, CASTRO E MARCUCCI, 2000). Os flavonóides apresentam atividade antimicrobiana, antioxidante e moduladora do sistema imune (ADELMAN, 2005; ALENCAR et al., 2007; KROL et al., 2004).

Assim como os outros tipos de própolis, um estudo confirmou as atividades antimicrobiana, antibacteriana, antineoplásica e antioxidante da própolis vermelha. Estudos *in vivo* e *in vitro* realizados por Daleprane e colaboradores em 2011 e 2012 mostraram que os polifenóis da própolis vermelha possuem ação anti-inflamatória e, segundo Kumazawa e colaboradores (2004), os componentes fenólicos apresentam-se em concentração maior na própolis vermelha do que nos outros tipos já estudados.

Mani e colaboradores (2006) relataram que, apesar de serem mais comuns os estudos realizados com extratos etanólicos de própolis, o extrato aquoso apresenta boa

atividade antioxidante, associada ao alto teor de compostos fenólicos. Cabral et al. (2009), demonstraram que a própolis vermelha possui alta atividade antioxidante e antibacteriana e as sub-frações obtidas são mais ativas biologicamente que o extrato bruto.

Os efeitos de flavonóides presentes em diferentes amostras de própolis têm sido descritos no sistema nervoso central, em estudos utilizando modelos animais. Por exemplo, foi descrito, em uma amostra de própolis verde, que o ácido fenil-caféico (CAPE) atua na peroxidação lipídica induzida por alumínio (NEWAIRY et al., 2009), na neurotoxicidade causada por glutamato (WEI et al., 2009; KWON et al., 2004), no infarto cerebral produzido por isquemia focal (TSAI et al., 2006), no estresse oxidativo induzido por encefalomielite alérgica (ILHAN et al., 2004). Este flavonóide apresentou atividade anti-inflamatória em culturas de células hipocâmpais (MONTPIED et al., 2003) e na proteção ante a ação da toxina 6-OHDA em cultura de neurônios cerebelares (NOELKER et al., 2005).

A pinocembrina, um dos flavonóides encontrados em alta concentração na própolis, inclusive na própolis vermelha, pode proteger da oxidação e apoptose decorrentes da isquemia (LIU et al., 2008; GUANG e DU, 2006).

Resultados recentes mostraram que a própolis vermelha proveniente da cidade de Brejo Grande/ Sergipe/ Brasil, mesmo local de coleta do material deste estudo, apresenta grandes concentrações de formononetina, isoliquiritigenina, liquiritigenina, madicarpina e biochanina A (DA SILVA FROZZA et al., 2013). Estudos *in vitro* mostraram que o flavonóide formononetina teve ação protetora contra hipóxia neuronal induzida por citotoxicidade (SUN et al., 2012) e em neurônios dopaminérgicos submetidos à toxicidade induzida por glutamato (YU et al, 2005; CHEN et al, 2008), isoladamente, ou associado a outros flavonóides, no estresse oxidativo em modelo para estudo da doença de Alzheimer (OCCHIUTO et al., 2009).

3- Considerações finais

O extrato hidroetanólico de própolis vermelha melhorou a recuperação funcional sensorio-motora, reduziu o grau de inflamação e promoveu uma conservação da área, desde a primeira semana pós cirurgia.

Os resultados sugerem que o extrato acelerou o processo de crescimento axonal. Esta pode ser então uma nova abordagem terapêutica a ser considerada no tratamento de lesões de nervos periféricos.

O presente trabalho sugere a continuidade dos estudos, na intenção de elucidar os fatores que levam à recuperação deste tipo de lesão pelo extrato hidroetanólico de própolis vermelha.

REFERÊNCIAS

- ADELMAN, J. Própolis variabilidade composicional correlação com a flora e a bioatividade antimicrobiana/antioxidante. **Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas** - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Paraná, Brasil, 2005.
- ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C.; BARRETO, A. L. S.; PIRES, J. A.; REIS, F. P.; LIMA, S. O.; RIBEIRO, M. A. G. Effect of bovine type-I collagen-based films containing red própolis on dermal healing in rodent model. **Int. J. Morphol.**, v. 27, n. 4, p. 1105-1110, 2009.
- ALLAN, S. M.; TYRRELL, P. J.; ROTHWELL, N. J. Interleukin-1 and neuronal injury. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 5, p. 629-640, 2005.
- ALENCAR, S. M.; OLDINI, T. L. C.; CASTRO, M. L. et al. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian Propolis: Red Propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, p.278-283, 2007.
- ANAND, P.; TERENCE, G.; BIRCH, R.; WELMER, A.; CEDARBAUM, J. M. Endogenous NGF and CTNF levels in human peripheral nerve injury. **Neuroreport**, v. 8, p. 1935-1938, 1997.
- ARAYA, J., KINDSCHER, K., TIMMERMANN, B. N.. Cytotoxic cardiac glycosides and other compounds from *Asclepias syriaca*. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 400-407, 2012.
- BAIN, J. R.; MACKINON, S. E.; HUNTER, D. A. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. **Journal of Plastic Reconstructive Surgery**, v. 83, p.129–138, 1989.
- BANKOVA, V. B.; DE CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Própolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, p. 3–15, 2000.
- BAREYRE, F. M.; KERSCHENSTEINER, M.; RAINETEAU, O., et al. The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rat. **Journal of Nature Neuroscience**, v. 7, p. 269-277, 2004.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova Brasil**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.
- BARRETO, A. L. S. Estudo histomorfológico do efeito de membranas de colágeno contendo própolis vermelha sobre o processo de reparo cicatricial por segunda intenção em ratos. **Dissertação de mestrado**. (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes, 2008.
- BARROSO, S.S. Efeitos comportamentais do exercício físico e do extrato de própolis vermelha sobre a degeneração de neurônios dopaminérgicos em ratos. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Tiradentes, 2012.
- BASSO, D. M.; BEATTIE, M. S.; BRESNAHAN, J. C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. **Journal Neurotrauma**, v. 12, n. 1, p. 1-21, 1995.
- BATCHELOR, P. E.; TAN, S.; WILLIS, T. E., et al. Comparison of inflammation in the brain and spinal cord follow mechanical injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 25, p. 1217-1225, 2008.

- BERVAR, M. Video analysis of standing—an alternative footprint analysis to assess functional loss following injury to the rat sciatic nerve. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 102, p. 109–116, 2000.
- BOBINSKI, F.; MARTINS, D. F.; BRATTI, T. et al. Neuroprotective and neurodegenerative effects of low-intensity aerobic exercise on sciatic nerve crush injury in mice. **Neuroscience**, v. 194, p. 337-348, 2010.
- BOYD, J. G.; GORDON, T. Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. **Journal of Molecular Neurobiology**, v. 27, p. 277-324, 2003.
- BOZKURT, A.; DEUMENS, R.; SCHEFFEL, J. et al. Catwalk gait analysis in assessment of functional recovery after sciatic nerve injury. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 173, p. 91-98, 2008.
- **BRASIL**. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Instrução Normativa nº 3 – ANEXO VI – Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 19 jan. 2001.
- BÚFALO, M. C.; FERREIRA, I.; COSTA, G. et al. Propolis and its constituent caffeic acid suppress LPS-stimulated pro-inflammatory response by blocking NF- κ B and MAPK activation in macrophages. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149, p. 84-92, 2013.
- BURNETT, M.G.; ZAGER, E.L. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. **Neurosurgical Focus**, v. 16, n. 5, p. 1-7. 2004.
- BUTLER, M. S.; NEWMAN, D. J. Mother Nature's gifts to diseases of man: the impact of natural products on anti-infective, anticholesteremics and anticancer drug discovery. **Progress in Drug Research**, v. 65, n. 1, p. 3-44, 2008.
- CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1523-1527, 2009.
- CABRAL, L. S.; VALADARES FILHO, S. C.; MALAFAIA, P. A. M. *et al.* Frações de carboidratos de alimentos volumosos e suas taxas de degradação estimadas pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 2087-2098, 2009.
- CARTY, M. L.; WIXEY, J. A.; REINEBRANT, H. E. et al. Ibuprofen inhibits neuroinflammation and attenuates white matter damage following hypoxia–ischemia in the immature rodent brain. **Brain Research**, v. 1402, p. 9-19, 2011.
- CARVALHO, A. C. B.; BALBINO, E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 314-319, 2008.
- CAZAROLLI, L. H.; ZANATTA, L.; ALBERTON, E. H. et al. Flavonoids: prospective drug candidates. **Mini Reviews in Medical Chemistry**, v. 8, n. 13, p. 1429-1440, 2008.
- CHEN, H. Q.; WANG, X. J.; JIN, Z. Y. et al. Protective effect of isoflavones from *Trifolium pratense* on dopaminergic neurons. **Neuroscience Research**, v. 62; p.123-30, 2008.

- CHEN, X.; TANG, T.; TU, H.; et al. Deranged calcium signaling and neurodegeneration in spinocerebellar ataxia type 3. **The Journal of Neuroscience**, v. 28, p. 12713-12724, 2008.
- CHERNIACK, E. P. Bugs as drugs, Part 1: insects. The "new" alternative medicine for the 21st century? **Alternative Medicine Review**, v. 15, n. 2, p. 124-135, 2010.
- CHIN, Y-W.; BALUNAS, M. J.; CHAI, H. B.; KINGHORN, A. D. Drug Discovery From Natural Sources. **The AAPS Journal**, v. 8, n. 2, p. 239-253, 2006.
- CHOI, P.; REISER, H. IL-4: role in disease and regulation of production. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 113, p. 317-319, 1998.
- CHU, L. W.; CHEN, J. Y.; YU, K. L. et al. Neuroprotective and anti-inflammatory activities of atorvastatin in a rat chronic constriction injury model. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 25, n. 1, p. 219-230, 2012.
- COELHO, T. H.; FORTUNATO, J. M. S.; MOREIRA, A. F. L. Sinaptogênese: do cone de crescimento à sinapse neuromuscular. **Revista Portuguesa de Psicossomática**, v. 3, nº 1, p. 95-121, 2001.
- CORRÊA, S. J. P. Utilização de filmes à base de pectina contendo extrato de própolis vermelha para o recobrimento de sementes de girassol. **Dissertação de mestrado** (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes, 2011.
- DAGUM, A. B. Peripheral nerve regeneration, repair and grafting. **Journal of Hand Therapy**, v. 11, p. 111-117, 1998.
- DALEPRANE, J. B.; DA SILVA, V. F.; PACHECO, A. et al. Anti-atherogenic and anti-angiogenic activities of polyphenols from propolis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, p. 557- 566, 2011.
- DALEPRANE J. B.; SCHMID, T.; DEHNE, N. et al. Suppression of hypoxia-inducible factor-1 α contributes to the antiangiogenic activity of red propolis polyphenols in human endothelial cells. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.142, p. 441-447, 2012.
- DAUGSH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PARK, Y. K. Brazilian red propolis - chemical composition and botanical origin. **Evidence Based Complementary Alternative Medicine**, v. 5, p. 435-441, 2008.
- DELAVIZ, H.; FAGHIHI, A.; MOHAMADI, J.; et al. Ultrastructural changes in spinal motoneurons and locomotor functional study after sciatic nerve repairs in conduit tube. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 15, nº 4, p. 990-996, 2012.
- DELGADO-ZAMARREÑO, M. M.; PÉREZ-MARTÍN, L. BUSTAMANTE-RANGEL, M. *et al.* A modified QuEChERS method as sample treatment before the determination of isoflavones in foods by ultra-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. **Biomed Experts**, v. 100, p. 320-328, 2012.
- DE MEDINACELI, L.D.; FREED, W. J.; WYATT, R.J. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. **Rev. Experimental Neurology**, v. 77; p. 634-643; 1982.
- DE MEDINACELI, L. Interpreting nerve morphometry data after experimental traumatic lesions. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 58, p. 29-37, 1995.

- DINH, P.; HAZEL, A.; PALISPIS, W. et al. Functional assessment after sciatic nerve injury in a rat model. **Journal of Microsurgery**, v. 29, p. 644-649, 2009.
- DISTAD, J.; WEISS, M. D. Clinical and electrodiagnostic features of sciatic neuropathies. **Physical Medicine & Rehabilitation Clinics of North America**, v. 24, p. 107-120, 2013.
- FAROOQUE, M. Spinal cord compression injury in the mouse: presentation of a model including assessment of motor dysfunction. **Acta Neuropathol.**, v. 100, n. 1, p 13-22, 2000.
- FERREIRA, A. S. **Lesões Nervosas Periféricas: Diagnóstico e Tratamento**. Ed. Santos, 1ª ed., São Paulo, 253 p., 1999.
- FLORES, A. J.; LAVERNIA, C. J.; OWENS, P. W. Anatomy and physiology of peripheral nerve injury and repair. **American Journal of Orthopedics**, v. 29, n. 3, p. 167-173, 2000.
- FRANCHI, G. C. JR.; MORAES, C. S.; TORETI, V. C.; DAUGSCH, A.; NOWILL, A. E.; PARK, Y. K. Comparison of effects of the ethanolic extracts of brazilian propolis on human leukemic cells as assessed with the MTT assay. **Evidence Based Complementary Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1-6, 2012.
- FRIEDMAN, B.; KLEINFELD, D.; IP, N. I.; VERGE, V. M. K.; MOULTON, R.; BOLAND, P. et al. BDNF and NT-4/5 exert neurotrophic influences on injured adult spinal motor neurons. **Journal of Neuroscience**, v. 15, p. 1044-1056, 1995.
- FROZZA, C. O. S.; GARCIA, C. S. C.; GAMBATO, G.; et al. Chemical characterization, antioxidant and citotoxic activities of Brazilian red propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 52, p. 137-142, 2013.
- FU S.Y.; GORDON, T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. **Molecular Neurobiology**, v. 14, p. 67–116. 1997.
- FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p.171-178, 2006.
- GARCÍA-ALÍAS, G.; BARKHUYSEN, S.; BUCKLE M., et al. Chondroitinase ABC treatment opens a window of opportunity for task-specific rehabilitation. **Journal of Nature Neuroscience**, v. 2377, p.1-8, 2009.
- GENOVESE, T.; PATERNITI, I.; MAZZON, M.; et al. Efficacy of treatment with verbascoside, biotechnologically produced by *Syringa vulgaris* plant cell cultures in an experimental mice model of spinal cord trauma. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 382, p. 331–345, 2010.
- GIGO-BENATO, D.; RUSSO, T. L.; GEUNA, S. Electrical stimulation impairs early functional recovery and accentuates skeletal muscle atrophy after sciatic nerve crush injury rats. **Muscle & Nerve**, v. 41, n. 5, p. 685-693, 2010.
- GONG, D.; GENG, C.; JIANG, L.; et al. Effect of pyrroloquinoline quinine on neuropathic pain following chronic constriction injury of the sciatic nerve in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 697, n. 1-3, p. 53-58, 2012.
- GORDON, T. The physiology of neural injury and regeneration: The role of neurotrophic factors. **Journal of Communication Disorders**, v. 43, p. 265-273, 2010.

- GRANT, G.A; GOODIKIN, R; KLIOT, M. Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. **Neurosurgery**, v.44, n. 4, p.825-839, 1999.
- GUANG, H. M.; DU, G. H. Protections of pinocembrin on brain mitochondria contribute to cognitive improvement in chronic cerebral hypoperfused rats. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 542, p. 77-83, 2006.
- GUIMARÃES, G.C.; MACHADO, M. R. F.; CRUZ, C., SANTOS, A. L. Q.; MIGLINO, M. A.; CATTELAN, J. W. Morfologia microscópica do nervo radial do gato doméstico. **Bioscience Journal**, v. 22, n. 3, p.121-137, 2006.
- GUPTA, R.; STEWARD, O. Chronic nerve compression induces concurrent apoptosis and proliferation of Schwann cells. **Journal of Comparative Neurology**, v. 461, p. 174-186, 2003.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. Ed. Guanabara koogan, 9ª ed., 1014 p, 1997.
- GRANT, G. A.; GOODKIN, R.; KLIOT, M. Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. **Neurosurgery**, v. 44, n. 4, p. 825-839, 1999.
- HADI, B.; Zhang, Y. P.; BURKE, D. A. et al. Lasting paraplegia caused by loss of lumbar spinal cord interneurons in rats: no direct correlation with motor neuron loss. **Journal of Neurosurgery**, v. 93, p. 266-275, 2000.
- HASEGAWA, K. A new method of measuring functional recovery after crushing the peripheral nerves in unanesthetized and unrestrained rats. **Experientia**, v. 34, p. 272-273, 1978.
- HENDERSON, C. E.; PHILIPS, H. S.; POLOK, R. A.; DAVIES, A. M.; LEMEULE, C.; ARMANINI, M. P. et al. GDNF: a potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle. **Science**, v. 266, p. 1062-1064, 1994.
- HILDEBRAND, F.; PAPE, H. C.; KRETTEK, C. The importance of cytokines in the posttraumatic inflammatory reaction. **Unfallchirurg**, v.108, n. 10, p. 793-794, 796-803, 2005.
- HOPKINS, S. J.; ROTHWELL, N. J. Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. **Trends Neuroscience**, v.18, p. 83-88, 1995.
- HUH, J. E.; NAM, D. W.; BAEK, Y. H. et al. . Formononetin accelerates wound repair by the regulation of early growth response factor-1 transcription factor through the phosphorylation of the ERK and p38 MAPK pathways. **Journal of International Immunopharmacology**, v. 11. nº 1, p. 46-54, 2011.
- ILHAN, A.; AKYOL, O.; GUREL, A. A.; et al. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester against experimental allergic encephalomyelitis-induced oxidative stress in rats. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 37, p. 386-394, 2004.
- IZUTA, H.; NARAHARA, Y.; SHIMAZAWA, M. et al. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity of bee products and their constituents determined by ESR. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 32, nº 12, p. 1947–1951, 2009.

- JANG, C. H.; CHO, Y. B.; CHOI, C. H. Effect of ginkgo biloba extract on recovery after facial nerve crush injury in the rat. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 76, p. 1823-1826, 2012.
- JIANG, M.; ZHUGE, X.; YANG, Y. et al. The promotion of peripheral nerve regeneration by chitooligosaccharides in the rat nerve crush injury model. **Neuroscience Letters**, v. 454, p. 239-243, 2009.
- KANDEL, E. R., SCHWARTZ, J. H., JESSEL, T. M. A formação e regeneração das sinapses. Em: **Princípios da Neurociência**. 4ª ed. São Paulo. Ed. Manole; p. 1087, 2003.
- KHAYYAL, M. T.; EL-GHAZALY, M. A.; EL-KHATIB, A. S. Mechanism involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. **Journal of Drugs under Experimental and Clinical Research**, v. 19, p. 197-203, 1993.
- KIM, T. H.; YOON, S. J.; LEE, W. C. et al. Protective effect of GCSB-5, an herbal preparation, against peripheral nerve injury in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 297-304, 2011.
- KROL, W.; BLONSKA, M.; BRONIKOWSKA, J. et al. Effects of ethanol extract of propolis (EEP) and its flavones on inducible gene expression in J774A.1 macrophages. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91; p. 25-30, 2004.
- KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Robins e Conran Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. Ed. Elsevier, 7ª Ed., 2004.
- KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry**, v. 84; p. 329-339, 2004.
- KWON, Y. S.; PARK, D. H.; SHIN, E. J. et al. Antioxidant propolis attenuates kainate-induced neurotoxicity via adenosine A1 receptor modulation in the rat. **Journal of Neuroscience Letters**, v. 355, p. 231-235, 2004.
- LEDEBOER, A.; JEKICH, B. M.; SLOANE, E. M.; MAHONEY, J.H.; LANGER, S. J. et al. Intrathecal interleukin-10 gene therapy attenuates paclitaxel-induced mechanical allodynia and proinflammatory cytokine expression in dorsal root ganglia in rats. **Brain Behavior and Immunity**, v. 21, p. 686-698, 2007.
- LEE, K. W.; KIM, Y. J.; LEE, H. J. et al. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v. 51, p.7292-7295, 2003.
- LEE, S. K.; WOLFE, S. W.; Peripheral nerve injury and repair. **American Academy For Orthopaedic Surgeons**, v. 8, n. 4, p.243-252, 2000.
- LEE, Y. S.; HSIAO, I.; LIN, V. W. Peripheral nerve grafts and aFGF restore partial hindlimb function in adult paraplegic rats. **Journal of Neurotrauma**, v. 19, p. 1203-1216, 2002.
- LEITE, J. O. et al. Avaliação da toxicidade aguda e atividade gastroprotetora do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Trabalho de conclusão do curso de Farmacologia da Universidade Tiradentes**. 2009.
- LIU, R.; GAO, M.; YANG, Z. H. et al. Pinocembrin protects rat brain against oxidation and apoptosis induced by ischemia-reperfusion both in vivo and in vitro. **Journal of Brain Res.**, v. 1216, p. 104-115, 2008.

- LIU, R.; WU, C. X.; ZHOU, D. et al. Pinocembrin protects against β -amyloid-induced toxicity in neurons through inhibiting receptor for advanced glycation end products (RAGE)-independent signaling pathways and regulating mitochondrion-mediated apoptosis. **BMC Medicine**, v. 10, p. 105, 2012.
- LÓPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 763, p. 1-10, 2013.
- LORENZ, M. D.; KORNEGAY, J. N. **Neurologia Veterinária**, 4ªed. São Paulo. Editora Manole, p.3-65, 2006.
- LUIS, A. L.; AMADO, S.; GEUNA, S. et al. Longterm functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 163, p. 92–104, 2007.
- LUNDBORG, G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. **Journal of Hand Surgery**, v. 25, n. 3, p. 391-414, 2000.
- MA, J.; LI, W.; TIAN, R. et al. Ginsenoside Rg1 promotes peripheral nerve regeneration in rat model of nerve crush injury. **Neuroscience Letters**, v. 478, p. 66-71, 2010.
- MA, M.; BASSO, D. M.; WALTERS, P. et al. Behavioral and histological outcomes following graded spinal cord contusion injury in the C57Bl/6 mouse. **Journal of Experimental Neurology**, v. 169, p. 239-254, 2001.
- MACHADO, A. B. M. **Neuroanatomia Funcional**. Ed. Atheneu, 2ª ed., 363 p., 1999.
- MADURA, T.; TOMITA, K; TERENCEHI, G. Ibuprofen improves functional outcome after axotomy and immediate repair in peripheral nervous system. **Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery**, v.64, n. 12, p. 1641-1646, 2011.
- MACMICKING, J.; XIE, Q. W.; NATHAN, C. Nitric oxide and macrophage function. **Annual Review of Immunology**, v. 15, p. 323-350, 1997.
- MANI, F.; DAMASCENO, H. C. R; NOVELLI, E. L. B. et al. Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables. **Journal of Ethnopharmacology**. v.105, p. 95-98, 2006.
- MEDLEY. Bulário Ibuprofeno gotas. Disponível em http://www.medicinanet.com.br/bula/8203/ibuprofeno_gotas.htm , 2010.
- MENDONÇA, M. Estudo de gastroproteção: potencial do extrato hidroalcoólico da própolis vermelha e discussão de modelos biológicos. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Tiradentes, 2010.
- MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Aquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 405-411, jul/set. 2005.
- METZ, G. A.; MERKLER, D.; DIETZ, V. et al. Efficient testing of motor function in spinal cord injured rats. **Brain Res.**, v. 883, p. 165-177, 2000.

- MIDDLETON, E. JR.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacological Reviews**, v. 52, n. 4, p. 673-751, 2000.

- MIGUEL, M. G.; ANTUNES, M. D. Is própolis safe as an alternative medicine? **Journal of Pharmacy and Bioallied Science**, v. 3, n. 4, p. 479-495, 2011.

- MONTE-RASO, V. V.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N. Is the sciatic functional index always reliable and reproducible? **Journal of Neuroscience Methods**, v.170, n. 2, p. 255–261, 2008.

- MONTPIED, P.; DE BOCK, F.; RONDOUIN, G. et al. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. **Journal of Molecular Brain Research**, v. 115, p. 111-120, 2003.

- MORAIS, F. S. S.; Efeitos do tratamento oral com própolis vermelha e exercícios de natação sobre a lesão medular em ratos. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Tiradentes, 2013.

- MOURA, L. P. P. Longevidade, produção de própolis e áreas de desenvolvimento de colméias de *Apis mellifera* africanizada, submetida a quatro técnicas de coleta, em quatro períodos do ano. **Tese de Doutorado**, em Zootecnia. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Brasil. 111p., 2001

- MUTHURAMAN, A.; DIWAN, V.; JAGGI, A. S. et al. Ameliorative effects of *Ocimum sanctum* in sciatic nerve transaction-induced neuropathy in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 56-62, 2008.

- MUTHURAMAN, A.; SINGH, N. Attenuating effect of *Acorus calamus* extract in chronic constriction injury induced neuropathic pain in rats: an evidence of anti-oxidative, anti-inflammatory, neuroprotective and calcium inhibitory effects. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 22, p. 11-24, 2011.

- NAKAJIMA, Y.; SHIMAZAWA, M. MISHIMA, S. et al. Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions. **Life Sciences**, v. 80, nº 4, p. 370-377, 2007.

- NAVEILHAM, P.; ELSHAMY, V. M.; ENFORS, P. Differential regulation of mRNAs for GDNF and its receptors Ret and GDNF α after sciatic nerve lesion in the mouse. **European Journal of Neuroscience**, v. 9, p. 1450-1460, 1997.

- NEWAIRY, A.S.; SALAMA, A.F.; HUSSIEN, H.M.; YOUSEF, M.I. Propolis alleviates aluminium-induced lipid peroxidation and biochemical parameters in male rats. **Journal of Food Chem. Toxicology**, v. 47, p.1093-1098, 2009.

- NEWMAN, L.; VERITY, A. N.; HAWATMEH, S.; FEE, W. E. Jr.; TERRIS, D. J. Ciliary neurotrophic factor enhances peripheral nerve regeneration. **Journal of Head and Neck Surgery**, v. 122, p. 399-403, 1996.

- NOVIKOVA, L.; NONIKOV, L.; KELERTH, J. O. Effects of neurotransplants and BDNF on the survival and regeneration of injured adult spinal motoneurons. **European Journal of Neuroscience**, v. 9, p. 2774-2777, 1997.

- NOORAFSHAN, A.; OMIDI, A.; KARBALAY-DOUST, S. Curcumin protects the dorsal root ganglion and sciatic nerve after crush in rat. **Pathology – Reserch and Practice**, v. 207, p. 577-582, 2011.
- NUNES, L. C. C.; GALINDO, A. B.; DEUS, A. S. O.; RUFINO, D. A.; RANDAU, K. P.; XAVIER, H. S.; CITÓ, A. M. G. L.; ROLIM-NETO, P. J. Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artermia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, v. 2B, p. 524-529, 2009.
- OCCHIUTO, F.; PALUMBO, D.R.; SAMPERI, S. et al. The isoflavones mixture from *Trifolium pratense* L. protects HCN 1-A neurons from oxidative stress. *Phytotherapy Research*, v. 23, p.192-196, 2009.
- OLDONI, T. L. C., CABRAL, I. S. R.; D'ARCE, M. A. B. R. et al. Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. **Journal of Separation and Purification Technology**, v. 77, p. 208-213, 2011.
- OLIVEIRA, M. E.; PODEROSO, J. C. M.; FERREIRA, A. F.; RIBEIRO, G. T.; ARAÚJO, E. D. Apicultores do Estado de Sergipe. **Scientia Plena**, v. 6, n. 1, 2011.
- OLIVEIRA, S. G. D.; MOURA, F. R. R.; DEMARCO, F. F.; NASCENTE, P. S.; PINO, F. A. B.; LUND, R. G. An ethnomedicinal survey on phytotherapy with professionals and patients from Basic Care Units in the Brazilian Unified Health System. **Journal of Ethnopharmacology**, v.140, p. 428– 437, 2012.
- OPPENHEIM, J. J. Cytokines: past, present, and future. **International Journal of Hematology**, v. 74, p. 3–8, 2001.
- O'SULLIVAN, S. B.; SCHIMITZ, T. J. **Fisioterapia: Avaliação e Tratamento**. Ed. Manole, 4ª ed. São Paulo, p.257, 2004.
- PACHIONI, C. A. S.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; FAZAN, V. P. S.; PADOVANI, C. R.; MORO, C. A. et al. Lesão por esmagamento do nervo isquiático de ratos: estudo da vascularização. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 203-207, 2006.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M. et al. Evaluation of Brazilian Propolis by both physicochemical methods and biological activity. **Honeybee Science**, v. 21; p. 85-90, 2000.
- PETRUSKA, J. C.; MENDELL, L. M. The many functions of nerve growth factor: multiple actions on nociceptors. **Journal of Neuroscience Letters**, v.361, p. 168-171, 2004.
- PICCINELLI, A. L.; LOTTI, C.; CAMPONE, L. et al. Cuban and Brazilian red propolis: Botanical origin and comparative analysis by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 59, nº 12, p. 6484 –6491, 2011.
- PINHEIRO, M. S. Avaliação da atividade antimicrobiana e citoprotetora gástrica dos extratos de mangaba, caju e própolis vermelha. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Tiradentes, Aracaju, 2009.
- PORTO, C. C. **Semiologia médica**. Editora Guanabara Koogan, 5ª ed. Rio de Janeiro, 2005.

- RATCLIFFE, N. A.; MELLO, C. B.; GARCIA, E. S.; BUTT, T. M.; AZAMBUJA, P. Insect natural products and processes: New treatments for human disease. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, n. 10, p. 747-769, 2011.
- REDETT, R.; JARI, R.; CRAWFORD, T.; CHEN, Y. G.; ROHDE, C.; BRUSHART, T. M. Peripheral pathways regulate motoneuron collateral dynamics. **Journal of Neuroscience**, 25, 9406–9412, 2005.
- RENNO, W.; AL-MAGHREBI, M.; ALSHAMMARI, A. et al. (–)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) attenuates peripheral nerve degeneration in rat sciatic nerve crush injury. **Neurochemistry International**, v. 62, p. 221-231, 2013.
- RIGHI, A. A., ALVES, T. R.; NEGRI, G.; MARQUES, L. M.; BREYER, H. SALATINO, A. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 2, p. 363-370, 2011.
- ROBINSON, L. R. Traumatic injury to peripheral nerves. **Muscle Nerve**, v. 23, p. 863-873, 2000.
- ROTSHENKER, S. Wallerian degeneration: the innate-immune response to traumatic nerve injury. **Journal of Neuroinflammation**, v. 8, p. 109, 2011.
- ROMAGNANI, S. Regulation of the T cell response. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 36, p. 1357–1366, 2006.
- SALATINO, A.; TEIXEIRA, E. W.; NEGRI, G.; et al. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, p. 33–38, 2005.
- SCHIAVETO, A. S.; DA SILVA, C. A.; DEL BEL, E. A. Methodological Evaluation to Analyze Functional Recovery after Sciatic Nerve Injury. **Journal of Neurotrauma**, v. 21, n. 5 p. 627-635, 2004.
- SCHMITT, E. K.; MOORE, C. M.; KRASTEL, P.; PETERSEN, F. Natural products as catalysts for innovation: a pharmaceutical industry perspective. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 15, n. 4, p. 497-504, 2011.
- SEDDON H. J. Three types of nerve injury. **Brain**, v. 66, p. 237, 1943.
- SENOGLU, M.; NACITARHAN, V.; KURUTAS, E. B. et al. Intraperitoneal alfa-lipoic acid to prevent neural damage after crush injury to the rat sciatic nerve. **Journal of Brachial Plexus and Peripheral Nerve**, v. 4, p. 22, 2009.
- SHAENK, Z.; SEHARASEYON, J. MENDELL, J. R. CTNF potentiates peripheral nerve regeneration. **Brain Research**, v. 655, p. 246-250, 1994.
- SCHINKEL, C. The role of IFN-gamma in surgical patients. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 23, p. 341–349, 2003.
- SCUMPIA, P. O.; MOLDAWER, L. L. Biology of interleukin-10 and its regulatory roles in sepsis syndromes. **Critical Care Medicine**, v. 33, p. 468–471, 2005.
- SFORCIN, J. M. Propolis and the immune system: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, p. 1–14, 2007.

- SHAMASH, S.; REICHERT, F.; ROTSHENKER, S. The Cytokine Network of Wallerian Degeneration: Tumor Necrosis Factor- α , Interleukin-1 α , and Interleukin-1 β . **Journal of Neuroscience**, v. 22, p. 3052-3060, 2002.
- SILVA, B. B.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; IKEGAKI, M.; SOUZA, C.; ESTEVES, A.; ALENCAR, S. M.; Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian Própolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, p. 313-316, 2008.
- SILVA, C. M. O; MELO, E. G.; ALMEIDA, A.E.R.F.; GOMES, M.G.; SILVA, et al. Efeito da prednisona em lesão medular aguda experimental em ratos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v. 60, p.641-650, 2008.
- SKAPENKO, A.; NIEDOBITEK, G. U.; KADEN, J. R.; LIPSKY, P. E.; SCHULZE-KOOPS, H. Generation and regulation of human Th1-based immune responses in vivo: a critical role for IL-4 and IL-10. **Journal of Immunology**, v. 172, p. 6427–6434, 2004.
- STOLL, G.; JANDER, S.; SCHROETER, M. Detrimental and beneficial effects of injury-induced inflammation and cytokine expression in the nervous system. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 513, p.87-113, 2002.
- STOLL, G.; MULLER, H. W. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. **Brain Pathology**, v. 9, p. 313-325, 1999.
- SUN, M.; ZHOU, T.; ZHOU, L. et al. Formononetin protects neurons against hypoxia-induced cytotoxicity through upregulation of ADAM10 and sA β PP α . **Journal of Alzheimers Diseases**, v. 28, p.795-808, 2012.
- TAMADDONFARD, E.; FARSHID, A. A.; AHMADIAN, E.; et al. Crocin enhanced functional recovery after sciatic nerve crush injury in rats. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**. V. 16, p. 83-90, 2013.
- TEODORI, R.; BETINI, J.; OLIVEIRA, L. S. et al. Swimming exercise in the acute or late phase after sciatic nerve crush accelerates nerve regeneration. **Journal of Neural Plasticity**. v. 8; p. 1155-1162, 2011.
- TERENCEGHI, G. Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. **Journal of Anatomy and Neuroscience**, v.194, p.1-14, 1999.
- TESSAROLO, L.; VOGEL, K. S.; PALKO, M. E.; REID, S. W.; PARADA, L. F. Targeted mutation in the neurotrophin-3 gene results in loss of muscle sensory neurons. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 91, p. 11844-11848, 1994.
- THOMAS, G. L.; JOHANNES, C. W. Natural product-like synthetic libraries. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 15, n. 4, p. 516-522, 2011.
- TOPP, K. S.; BOYD, B. S. Structure and biomechanics of peripheral nerves: nerve responses to physical stresses and implications for physical therapist practice. **Journal of Physical Therapy**, v. 86, n. 1, p. 92-109, 2006.
- TORRES, B. B. J.; SILVA, C. M. O.; ALMEIDA, A. E. R. F.; et al. Modelo experimental de trauma medular agudo produzido por aparelho estereotáxico modificado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 6, 2010.

- TORRES, R. N. S.; LOPES, J. A. D.; MOITA NETO, J. M. CIPO, A. M. G. L. Constituintes voláteis de própolis piauiense. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 479-485, 2008.
- TRUSHEVA, B; POPOVA, M.; BANKOVA, V.; et al. Bioactive constituents of Brazilian red propolis. **e-CAM**, v. 3, p. 249- 254, 2006.
- TSAI, S. K.; LIN, M. J.; LIAO, P. H.; YANG, C. Y. et al. Caffeic acid phenethyl ester ameliorates cerebral infarction in rats subjected to focal cerebral ischemia. **Journal Life Science**, v. 78, p. 2758-62, 2006.
- TUFEK, A.; KAYA, S.; TOKGÖZ, O. et al. The Protective effect of dexmedetomidine on bupivacaine-induced sciatic nerve inflammation is mediated by mast cells. **Journal of Clinical and Investigative Medicine**, v. 36, n. 2, p. 95-102, 2013.
- UMPHERED, D. A. **Fisioterapia Neurológica**. Ed. Manole, 1ª ed., p. 331-343, 1994.
- VAREJÃO, A. S.; CABRITA, A. M.; MEEK, M. F. et al. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. **Journal of Neurotrauma**, v .21, p. 1652–1670, 2004.
- VEITCH, N. C.; GRAYER, R. J. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. **Natural Product Reports**, v. 25, n. 3, p. 555-611, 2008.
- VON EULER, M.; AKESSON, E.; SAMUELSSON, E. B. et al. Motor performance score: a new algorithm for accurate behavioral testing of spinal cord injury in rats. **Journal of Experimental Neurology**, v. 137, n. 2, p. 242-254, 1996.
- VON EULER, M.; SEIGER, A.; SUNDSTRÖM, E. Clip compression injury in the spinal cord: a correlative study of neurological and morphological alterations. **Journal of Experimental Neurology**, v. 145, n. 2, p. 502- 510, 1997.
- WAN, Y. Y.; FLAVELL, R. A. The roles for cytokines in the generation and maintenance of regulatory T cells. **Immunological Reviews**, v. 212, p. 114–130, 2006.
- WANG, X.; BUDEL, S.; BAUGHMAN, K. et al. Ibuprofen enhances recovery from spinal cord injury by limiting tissue loss and stimulating axonal growth. **Journal of Neurotrauma**, v. 26, p. 81-85, 2009.
- WEBBER, C.; ZOCHODNE, D. The nerve regenerative microenvironment: early behavior and partnership of axons and Schwann cells. **Experimental Neurology**, v. 223, n. 1, p. 51–59, 2010.
- WEI, S.; YIN, X.; KOU, Y. et al. Lumbricus extract promotes the regeneration of injured peripheral nerve in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, p. 51-54, 2009.
- WOOD, M.D.; KEMP, W.P.; WEBER, C. et al. Outcome measures of peripheral nerve regeneration. **Annals of Anatomy**, v. 193, p. 321-333, 2011.
- YAN, J. G.; ZHANG, L. L.; AGRETI, M. et al. The effect of calcium modulating agents on peripheral nerve recovery after crush. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 217, p. 54-62, 2013.

- YAN, Q.; MATHESON, C.; LOPEZ, O. T. In vivo neurotrophic effects of GDNF on neonatal and adult facial motor neurons. **Nature**, v. 373, p. 341-344, 1995.
- YANG, S.; GAO, Q.; XING, S. et al. Neuroprotective effects of *Buyang huanwu* decoction against hydrogen peroxide induced oxidative injury in Schwann cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 1095-1101, 2011.
- YU, D.; DUAN, Y.; BAO, Y. et al. Isoflavonoids from *Astragalus mongholicus* protect PC12 cells from toxicity induced by L-glutamate. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98; p. 89-94, 2005.
- YUAN, Y.; SHEN, H.; YAO, J. et al. The protective effects of *Achyranthes bidentata* polypeptides in an experimental model of mouse sciatic nerve crush injury. **Brain Research Bulletin**, v. 81, p. 25-32, 2010.
- ZHANG, L.; MAO, X.; XIA, Z. Effects of sodium metavanadate and germination on the sprouting of chickpeas and its content of vanadium, formononetin and biochanin A in the sprouts. **Journal of Dietary Supplements**, v. 9, n^o 1, p. 34-44, 2012.
- ZHAO, Z.; LIU, N.; HUANG, J.; LU, P.; XU, X. Inhibition of cPLA2 activation by *Ginkgo biloba* extract protects spinal cord neurons from glutamate excitotoxicity and oxidative stress-induced cell death. **Journal of Neurochemistry**, v. 116, n. 6, p. 1057-1065, 2011.
- ZHOU, X. F.; CHIE, E. T.; DENG, Y. S. et al. Injured primary sensory neurons switch phenotype for brain-derived neurotrophic factor in the rat. **Journal of Neuroscience**, v. 92, p. 841-853, 1999.