



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FISIOTERAPIA**

ALEXA ALVES DE MORAES

**EFICÁCIA DA NATAÇÃO PARA A REGENERAÇÃO DO NERVO
ISQUIÁTICO APÓS LESÃO PARCIAL COMPRESSIVA**

**CAMPINA GRANDE - PB
2018**

ALEXA ALVES DE MORAES

**EFICÁCIA DA NATAÇÃO PARA A REGENERAÇÃO DO NERVO
ISQUIÁTICO APÓS LESÃO PARCIAL COMPRESSIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Fisioterapia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Fisioterapia.

Área de concentração: Morfologia / Neurociências.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Aline dos Santos de Maman.

**CAMPINA GRANDE - PB
2018**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

M827e Moraes, Alexa Alves de.
Eficácia da natação para regeneração do nervo isquiático após lesão parcial compreensiva [manuscrito] / Alexa Alves de Moraes. - 2018.
35 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018.
"Orientação : Profa. Dra. Aline dos Santos de Maman, Coordenação do Curso de Fisioterapia - CCBS."
1. Natação. 2. Esporte aquático. 3. Fisioterapia muscular.
4. Regeneração nervosa. I. Título

21. ed. CDD 797.21

ALEXA ALVES DE MORAES

**EFICÁCIA DA NATAÇÃO PARA A REGENERAÇÃO DO NERVO
ISQUIÁTICO APÓS LESÃO PARCIAL COMPRESSIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso
(TCC) apresentado, na modalidade de
artigo científico, ao departamento de
Fisioterapia da Universidade Estadual
da Paraíba como requisito para
obtenção do título de Bacharel em
Fisioterapia.

Aprovado em 22/11/2018.

Banca Examinadora



Profª. Drª. Aline dos Santos de Maman
Orientador(a) UEPB



Profª. Drª. Carlúcia Ithamar Fernandes Franco
Examinador(a) UEPB



Prof. Dr. Danilo de Almeida Vasconcelos
Examinador(a) UEPB

Aos meus pais, José Guedes e Ana Maria, meus
primeiros educadores e maiores exemplos de
vida, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Por acreditar em propósito de vida, tenho convicção de que Deus, enquanto lei divina de amor, juntamente aos meus guias espirituais, estiveram sempre à frente nesta jornada de evolução constante, manifestando seus cuidados sobre minha vida em diversos momentos, especialmente durante a escolha pela Fisioterapia. A estas forças imateriais – porém, genuínas –, meu eterno e primeiro agradecimento.

Aos meus pais, José Guedes de Moraes e Ana Maria Alves de Moraes, por serem a materialização dos cuidados de Deus em meu caminho; por me ensinarem, diariamente, o real significado de amor incondicional; pelas vitórias compartilhadas e pelos aprendizados obtidos; por terem aceitado – e exercido com maestria – a missão mais sublime da humanidade: a de serem pai e mãe.

Aos meus amados irmãos, Aline Alves de Moraes e Antonni Guedes Alves de Moraes, por serem verdadeiros parceiros de vida, pelo amor fraternal e por todo o apoio.

Ao meu namorado, Victor Ferreira Muniz, por fazer, do amor, a bússola capaz de reger nossos caminhos, a âncora que traz paz em mares turbulentos, e por materializar “The Luck of the Irish” em nossas vidas.

À minha grande dupla, Mariana Cavalcante de Menezes, pelo auxílio na finalização deste projeto, pela amizade e companheirismo genuínos, construídos desde o dia em que me fora concedido, pelas suas mãos, um simbólico anel de plástico.

À minha primeira professora da graduação e orientadora, Aline dos Santos de Maman, por tanto aprendizado ao longo de seis anos, e por ser um dos maiores exemplos profissionais que já tive.

Ao Laboratório de Neurobiologia da Dor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, especialmente ao professor Guilherme Lucas e a Cayo Almeida, por, juntamente com a professora Aline de Maman, iniciarem este projeto de pesquisa.

Ao Laboratório de Ecologia Aquática (LEAq-UEPB), que gentilmente cedeu espaço para a continuidade das análises do presente estudo.

A todos os professores que passaram em minha jornada acadêmica e, de forma muito especial, aos mestres do Colégio Diocesano Seridoense, da Escola SESC de Ensino Médio, da Universidade Estadual da Paraíba e da Trinity College Dublin.

A todos os meus queridos amigos, por serem luz e alegria neste caminho.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	06
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	07
2.1	Animais	07
2.2	Grupos.....	07
2.3	Modelo experimental da neuropatia periférica.....	07
2.4	Protocolo de natação.....	09
2.5	Coleta do material e processamento histológico.....	09
2.6	Avaliação do nervo isquiático em microscopia de luz.....	10
2.6.1	Análise morfológica.....	10
2.6.2	Análise morfométrica.....	10
2.7	Análise estatística.....	11
2.8	Considerações éticas.....	11
3	RESULTADOS.....	11
3.1	Análise morfológica.....	11
3.2	Análise morfométrica.....	14
4	DISCUSSÃO.....	15
4.1	Alterações morfológicas do nervo isquiático após lesão parcial compressiva.....	16
4.2	Alterações morfométricas do nervo isquiático após lesão parcial compressiva.....	17
4.3	Exercício físico na regeneração nervosa.....	18
5	CONCLUSÃO.....	20
	ABSTRACT.....	21
	REFERÊNCIAS.....	22
	APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO.....	26

EFICÁCIA DA NATAÇÃO PARA A REGENERAÇÃO DO NERVO ISQUIÁTICO APÓS LESÃO PARCIAL COMPRESSIVA

Alexa Alves de Moraes*
Prof^ª. Dr^ª. Aline dos Santos de Maman**

RESUMO

Objetivo: O presente estudo objetiva investigar as alterações morfológicas decorrentes da lesão parcial compressiva do nervo isquiático (LNI) e a eficácia do treino de natação de intensidade moderada enquanto estratégia terapêutica para a regeneração nervosa. **Materiais e métodos:** Trinta camundongos machos foram igualmente divididos em grupos controle, 14 dias após LNI (LNI14d), 42 dias após LNI (LNI42d), 70 dias após LNI (LNI70d) e grupo submetido ao treino de natação durante 35 dias, iniciado 7 dias após a LNI (LNIT). Os treinos de natação englobaram, inicialmente, sessões de 10 minutos nos primeiros 3 dias, sendo que o tempo de treinamento foi gradualmente aumentado até que os animais nadassem durante 50 minutos em cada sessão. Foi realizada análise morfoquantitativa para avaliar a regeneração nervosa em cada grupo. **Resultados:** O grupo LNI14d apresentou sinais de degeneração menos evidentes que o grupo LNI42d, no qual as maiores alterações pós-lesão foram visualizadas, além de a área e diâmetro mínimo do nervo isquiático terem se apresentado significativamente menores ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle. Ambos os grupos LNI70d e LNIT apresentaram sinais de regeneração de fibras nervosas, todavia, apenas o grupo LNIT atingiu os valores do grupo controle na análise morfométrica. **Conclusão:** A LNI promove consideráveis alterações histopatológicas, que são mais visíveis aos 42 dias pós-lesão. Embora haja uma tendência natural à neuroregeneração, o treino de natação de intensidade moderada mostrou-se um recurso terapêutico eficaz para a neuroregeneração, acelerando este processo sob a perspectiva morfoquantitativa.

Palavras-Chave: Natação. Esporte aquático. Fisioterapia muscular. Regeneração nervosa.

* Aluna de Graduação em Fisioterapia na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I.

E-mail: alexamoraesx3@gmail.com

** Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Estadual da Paraíba – Campus I

E-mail: alinedemaman@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

A dor crônica, decorrente de doença ou trauma, é um grande problema de saúde pública no mundo, sendo uma das causas mais frequentes de procura aos serviços de saúde e representando a principal causa de absenteísmo, licença médica, aposentadoria precoce, indenizações trabalhistas e baixa produtividade no trabalho (EBERSTEIN; EBERSTEIN, 1996; LEE; WOLFE, 2000; MENDONÇA et al., 2003; TEODORI et al., 2011). A dor neuropática resultante de lesões nervosas periféricas, por sua vez, configura-se entre os tipos de dores crônicas de mais difícil tratamento, dada a complexidade de sua etiologia, além da insuficiente compreensão dos mecanismos envolvidos na indução e manutenção deste tipo de dor (JI et al., 2006).

Embora as alterações decorrentes da lesão nervosa periférica sejam numerosas – tais como dor, incapacidades funcionais e alterações estruturais do nervo –, há evidências de que o tratamento não-farmacológico através do exercício físico contribui para a recuperação das alterações sensoriais e motoras ocasionadas por tais lesões.

A natação, enquanto exercício aeróbico, mostrou-se eficaz para a atenuação de hiperalgesia térmica e alodínia mecânica decorrentes da lesão nervosa compressiva crônica (ROSSI et al., 2011; CHEN et al., 2012; ALMEIDA et al., 2015). O treino prolongado desta modalidade de exercício foi capaz de reverter progressivamente a alodínia mecânica em camundongos submetidos à lesão nervosa periférica, sendo este efeito terapêutico mantido mesmo 4 semanas após a interrupção dos treinos (ALMEIDA et al., 2015). Nessa perspectiva, a natação normalizou os aumentados níveis de expressão de BDNF e do fator de crescimento neural induzido pela lesão (ALMEIDA et al., 2015). Embora existam evidências positivas acerca do efeito terapêutico da natação na lesão nervosa periférica, não existe um consenso sobre o protocolo terapêutico mais adequado para essa situação clínica, em decorrência da necessidade de maior compreensão acerca dos efeitos deste tipo de exercício nas lesões dos nervos periféricos.

Sendo assim, considerando tratar-se de uma possível alternativa terapêutica não-farmacológica, não-invasiva e acessível a todas as idades, o presente estudo investigou as alterações morfológicas decorrentes da lesão compressiva parcial do nervo isquiático, bem como a eficácia de um protocolo de natação de intensidade moderada através de análise morfoquantitativa.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram utilizados camundongos machos da linhagem Balb/C (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA, 2000) com 9 a 11 semanas de vida e peso corpóreo entre 20 e 30 gramas. Os animais permaneceram em caixas de polietileno com tampa de aço inoxidável e o assoalho foi recoberto por maravalha. O ambiente foi mantido a uma temperatura média de 22°C, condições padronizadas de umidade em torno de 60% e luz artificial em um ciclo alternado de claro-escuro a cada 12 horas. Os animais receberam dieta *ad libitum* e água servida em bebedouro suspenso.

2.2 Grupos

Os animais foram aleatoriamente divididos nos seguintes grupos: a) grupo controle (GC), com animais submetidos a lesão *sham* e mantidos sedentários por 14 dias; b) Lesão parcial do nervo isquiático, sedentário por 14 dias (LNI14d); c) Lesão parcial do nervo isquiático, sedentário por 42 dias (LNI42d); d) Lesão parcial do nervo isquiático, sedentário por 70 dias (LNI70d); e) Lesão parcial do nervo isquiático submetido a treino de natação com duração de 5 semanas (LNIT). Cada grupo foi composto por seis animais. A tabela 1 apresenta os grupos controle e experimentais de forma sintética.

Tabela 1 - Grupos do experimento

Grupos		
Sem lesão nervosa	Sedentário	Grupo controle (GC)
Lesão do nervo isquiático	Sedentário	Grupo sedentário, avaliado 14 dias após lesão nervosa (LNI14d)
	Sedentário	Grupo sedentário, avaliado 42 dias após lesão nervosa (LNI42d)
	Sedentário	Grupo sedentário, avaliado 70 dias após lesão nervosa (LNI70d)
	Treinado	Grupo treinado, avaliado 42 dias após lesão nervosa (LNIT)

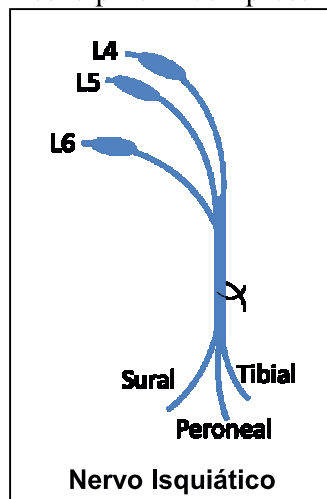
Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

2.3 Modelo experimental da neuropatia periférica

O modelo experimental de dor neuropática induzida por lesão de nervo periférico (figuras 1 e 2) consiste em uma ligadura parcial e unilateral do nervo isquiático esquerdo

(SELTZER et al., 1990). Após anestesia com uma associação de cloridrato de ketamina (60 mg/kg) e xilazina (8 mg/kg) por via subcutânea, o nervo isquiático esquerdo foi exposto na região glútea e, com auxílio de uma lupa, aproximadamente metade da espessura do nervo foi fortemente ligada com fio de sutura de algodão não-absorvível 8-0. Em seguida, a pele foi fechada com grampo metálico. Este modelo determina uma síndrome com sinais de aumento da sensibilidade somática a estímulos não-nociceptivos, que clinicamente caracteriza a alodínia, além de causar também sinais de hiperalgesia. Estes sinais iniciam-se 24-48 horas após a lesão do nervo periférico (SELTZER et al., 1990).

Figura 1 – Esquema ilustrativo da lesão parcial compressiva do nervo isquiático.



Fonte: dados da pesquisa, 2018.

Figura 2 – Exposição do nervo isquiático para realização da ligadura parcial.

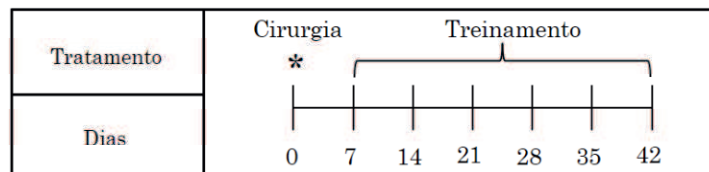


Fonte: dados da pesquisa, 2018.

2.4 Protocolo de natação

A atividade física consistiu em sessões diárias de natação em tanque de acrílico com água aquecida a $32\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e 30 centímetros de profundidade. Os animais iniciaram o treinamento físico sistemático 7 dias após a lesão parcial do nervo isquiático, durante cinco dias por semana, ao longo de cinco semanas (figura 3). Nessa perspectiva, somando-se o tempo de recuperação pós-cirúrgica (7 dias) ao tempo de treino (35 dias), o grupo treinado foi avaliado no 42º dia pós-lesão. O treinamento iniciou com uma sessão de 10 minutos e, a cada 3 dias de treinamento, foram adicionados mais 10 minutos à sessão, até que fosse atingida, na terceira semana de treinamento, uma duração de 50 minutos para cada sessão (tabela 2).

Figura 3 – Tempo de aplicação do protocolo de natação após lesão parcial compressiva do nervo isquiático.



Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Tabela 2 - Protocolo de natação

Dias pós-cirúrgico	Tempo de Natação
7º – 10º	10 min
11º – 13º	20 min
14º – 16º	30 min
17º – 19º	40 min
20º – 35º	50 min

Protocolo de treino de natação com intensidade moderada. Sete dias após a ligadura parcial do nervo isquiático, os animais foram submetidos a treinamento de natação uma vez ao dia por 5 dias consecutivos, seguidos de 2 dias de descanso, ao longo de 5 semanas. O tempo de treinamento aumentou gradualmente de 10 a 50 minutos por sessão. No total, os animais foram submetidos a 25 sessões de treinamento, sendo que nas primeiras 12 sessões eles realizaram 10, 20, 30 e 40 minutos a cada 3 sessões, respectivamente. Depois disso, 13 sessões de treinamento de natação de 50 minutos foram realizadas. Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

2.5 Coleta do material e processamento histológico

Ao término de cada protocolo experimental, os animais de cada grupo foram anestesiados com uma associação de cloridrato de ketamina (60 mg/kg) e xilazina (8 mg/kg)

por via subcutânea e perfundidos por via transcardíaca com uma solução salina tamponada (PBS) 0,05 M em pH 7,3, seguida por uma mistura fixadora de paraformaldeído a 2% e glutaraldeído a 1%, diluídos em tampão fosfato 0,1 M em pH 7,3. Estabeleceu-se uma relação de 1 mL/g de peso corpóreo para determinar as quantidades de soluções empregadas na perfusão de cada animal.

Após a perfusão, com o auxílio de uma lupa, a porção proximal à lesão do nervo isquiático esquerdo de cada animal foi cuidadosamente dissecada. Os nervos foram imersos na mesma solução fixadora e, em seguida, imersos por duas horas em tampão fosfato. Posteriormente, os nervos foram refixados em tetróxido de ósmio a 1%, diluídos em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,3, durante duas horas, a 4 °C. Os tecidos osmicados foram desidratados em séries crescentes de acetona e incluídos em araldite®, de modo a posicionar o nervo alinhado em relação ao bloco de araldite® para assegurar secções transversais de suas fibras.

Com um ultramicrótomo (Dupont Sorval modelo Porter Blum MT-2B®), utilizando navalha de vidro, cortes transversais semi-finos de 0,5 mm de espessura foram obtidos das amostras incluídas e, em seguida, esses cortes foram montados em lâminas coradas com azul de toluidina a 1% para a análise morfológica e morfométrica da secção transversal do nervo isquiático.

2.6 Avaliação do nervo isquiático em microscopia de luz

2.6.1 Análise morfológica

Com um microscópio de luz BR044 (Carl Zeiss) com objetivas de 10X, 20X 40X e 100X, a análise morfológica avaliou fibras mielinizadas e não-mielinizadas, espaço intersticial, além do tecido conjuntivo endoneural, a fim de detectar qualquer sinal de dano estrutural e padrões anormais de mielinização no nervo isquiático, bem como possíveis efeitos do treinamento de natação sobre a estrutura nervosa.

2.6.2 Análise morfométrica

As medidas de área e diâmetro mínimo das secções transversais do nervo isquiático de todos os animais foram realizadas através do mesmo microscópio de luz BR044 (Carl Zeiss) com objetiva de 20X.

2.7 Análise estatística

Todos os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média. Os dados foram analisados através da análise de variância (ANOVA) para fator único. O post-hoc utilizado foi o teste de Tukey para comparações múltiplas. Em todas as avaliações o nível de significância considerado foi $p < 0,05$ (GraphPad Prism 6.01 software).

2.8 Considerações éticas

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Sociais Aplicadas (FACISA) (protocolo número 5102042015), e foram conduzidos de acordo com as diretrizes éticas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Concea, 2013).

3 RESULTADOS

3.1 Análise morfológica

Em microscopia de luz, com ampliação de 1000X, o grupo controle apresentou fibras nervosas de tamanhos distintos, englobando fibras nervosas grandes e pequenas. As fibras mielínicas exibiram contornos circulares ou ovóides, estando conectadas umas às outras por meio de áreas com tecido endoneural, nas quais foi possível observar aglomerados de fibras não-mielinizadas (figuras 4A e 5A).

A análise das secções transversais dos nervos isquiáticos do grupo LNI14d, por sua vez, permitiu a observação de áreas lineares de edema (figura 4B) nas ampliações de 100X e 200X. Constatou-se, ainda, a manutenção normal da distribuição de fibras nervosas pequenas e grandes nos aumentos de 400X e 1000X, bem como a proporção entre a espessura da bainha de mielina e o tamanho da fibra nervosa. Todavia, muitas fibras apresentaram bainha de mielina com contornos atípicos (lobulados e triangulares), contrastando com o GC. As características histológicas do tecido conjuntivo endoneural foram preservadas, assim como os conglomerados de fibras não-mielinizadas (figura 5B).

No 42º dia pós-lesão, o edema apresentou aparência difusa (figura 4C) nas ampliações de 100X e 200X. Uma análise mais detalhada, pelo aumento de 1000X, revelou aumento do espaço intersticial entre as fibras, sugerindo acúmulo de líquido intersticial. Como resultado,

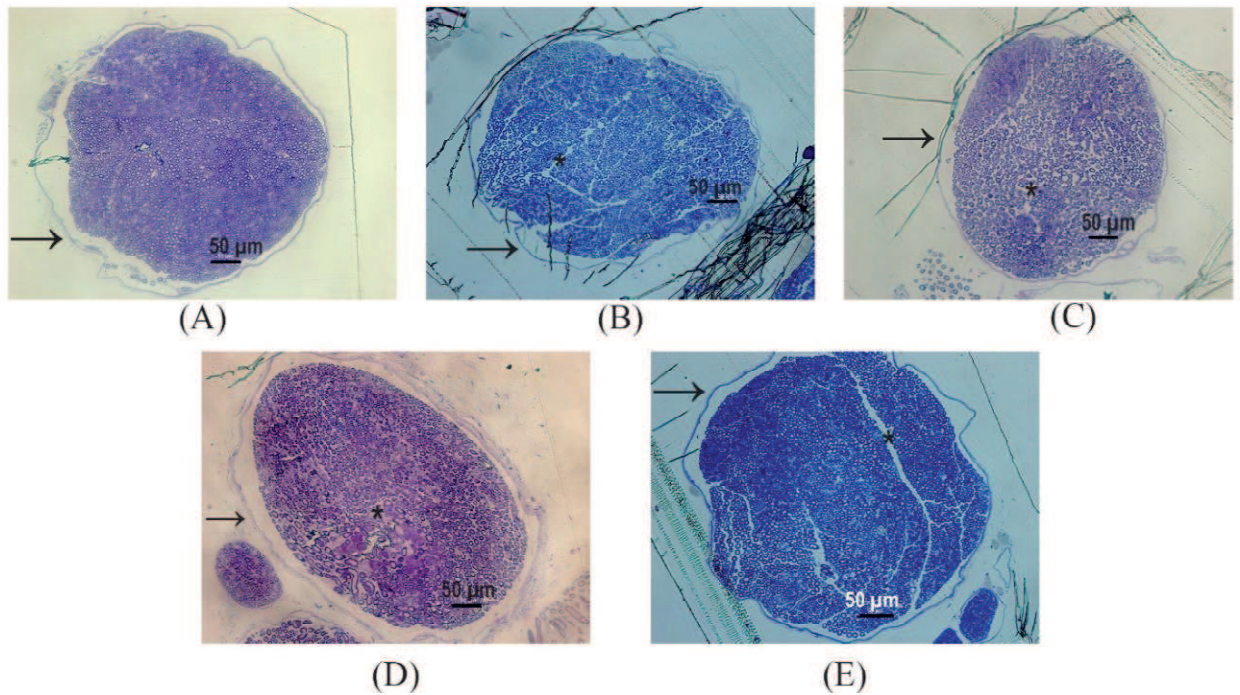
as fibras apresentaram-se dispersas, ao invés de conectadas pelo endoneuro. Além disso, os aglomerados de pequenas fibras tornaram-se menos perceptíveis e as fibras nervosas permaneceram com contornos irregulares. A aparência do nervo exibe nível considerável de dano, dada a presença de axônios degenerados e debris celulares (figura 5C)

O grupo LNI70d evidenciou redução das áreas de edema (ampliações de 100X e 200x). Ademais, a análise por meio da ampliação de 1000X revelou transição perceptível no que concerne aos contornos mielínicos das fibras nervosas, os quais retornaram ao formato circular ou ovoide. Observou-se, ainda, fibras nervosas degeneradas, mas também fibras em regeneração – reconhecidas pela sua fina camada de mielina. Um incremento visível no número de pequenos aglomerados de fibras nervosas e na área de tecido conjuntivo endoneural foi identificado. Esses achados refletem, assim, um processo de regeneração no nervo isquiático lesionado (figuras 4D e 5D).

O grupo treinado, que foi avaliado aos 42 dias após a lesão, exibiu áreas de edema com aspecto linear (figura 4E) nos aumentos de 100X e 200X. Diferentemente do grupo LNI42d, as fibras nervosas apresentaram-se agrupadas e conectadas através do tecido endoneural. A análise detalhada (ampliação de 1000X) revelou que, em relação aos perfis de bainha de mielina, as fibras pequenas apresentavam uma forma irregular, enquanto as grandes e mielinizadas mostraram-se semelhantes ao grupo controle. Ademais, uma proporção regular entre o diâmetro do axônio e a espessura da bainha de mielina foi perceptível (figura 5E). Tais dados qualitativos sugerem que o processo regenerativo do nervo isquiático estava em processo nesse estágio.

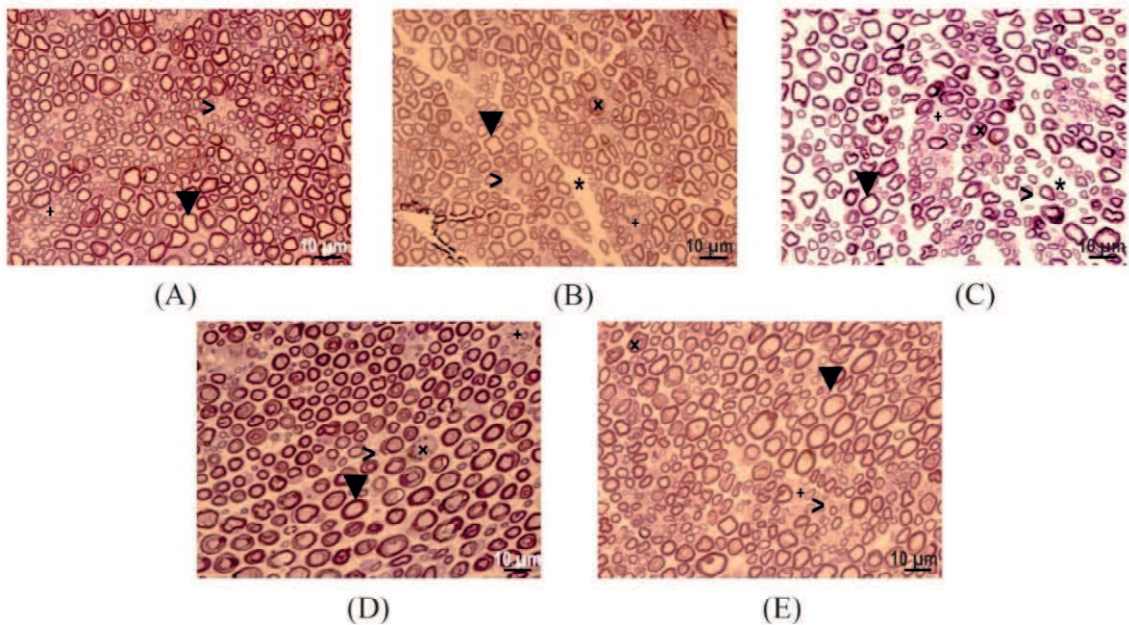
Destaca-se, ainda, o fato de que nenhum dos grupos apresentou qualquer sinal de dano perineural.

Figura 4 – Secções transversais do nervo isquiático em microscopia de luz com aumento de 200x.



Cortes transversais do nervo isquiático dos grupos (A) GC, (B) LNI14d, (C) LNI42d (D) LNI70d e (E) LNIT, corados com azul de toluidina (1%) e visualizado através de microscópio de luz com aumento de 200x (barra de escala: 50 µm). Observam-se áreas de edema (*) e o perineuro do nervo (setas pretas). A forma ovóide do nervo ciático permanece regular mesmo após a cirurgia. Quando comparado aos outros grupos, o grupo LNI70d demonstrou redução aparente das áreas edemaciadas. Fonte: dados da pesquisa, 2018.

Figura 5 – Secções transversais do nervo isquiático em microscopia de luz com aumento de 1000x.



Secções do nervo isquiático dos grupos (A) GC, (B) LNI14d, (C) LNI42d (D) LNI70d e (E) LNIT, corados com azul de toluidina (1%) e visualizado através de microscópio de luz com aumento de 1000x (barra de escala: 10 µm). Observar áreas de edema (*), fibras mielinizadas (pontas de setas), fibras não mielinizadas (>), tecido

conectivo endoneural (+) e detritos de degeneração (x). Diferentemente de GC, os contornos atípicos da bainha de mielina (lobulado e/ou triangular) podem ser observados nos grupos LNI14d e LNI42d. O processo neurorregenerativo é evidente no grupo LNI70d, indicado pela transição para a forma circular da bainha de mielina e presença aglomerados de pequenas fibras nervosas. Esse processo pareceu ter se completado no grupo treinado, que apresentou aspectos morfológicos semelhantes ao grupo controle. Fonte: dados da pesquisa, 2018.

3.2 Análise morfométrica

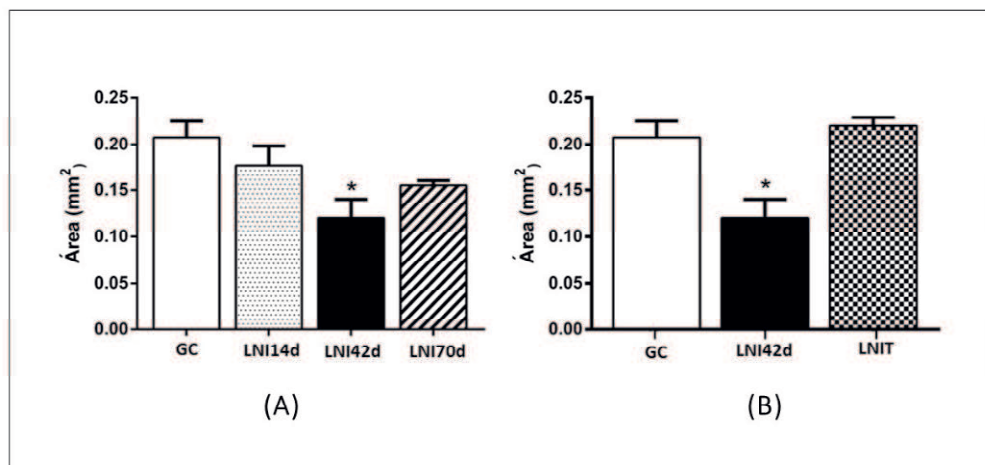
A análise morfométrica das secções transversais dos nervos analisados utilizou as imagens com ampliação de 200X.

Os animais que foram submetidos à lesão do nervo isquiático demonstraram menores valores de área (gráfico 1) e diâmetro mínimo (gráfico 2) nos cortes transversais dos nervos, em comparação ao GC.

Os animais que sofreram a lesão do nervo isquiático apresentaram progressiva redução da área (gráfico 1) e diâmetro mínimo (gráfico 2) da secção transversal do nervo ao longo do tempo. Aos 42 dias pós-lesão, tanto a área quanto o diâmetro mínimo apresentaram uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$), em comparação ao GC. Porém, aos 70 dias pós-lesão, a área e o diâmetro mínimo apresentaram valores mais próximos aos do GC.

Os gráficos 1B e 2B exibem, respectivamente, as áreas e os diâmetros mínimos das secções transversais dos nervos isquiáticos analisados, considerando a evolução da lesão ao longo do tempo e o efeito do treino de natação, através de comparações entre os grupos sedentário (LNI42d) e treinado (LNIT) 42 dias após a lesão. O grupo LNI42d demonstrou uma redução significativa ($p < 0,05$) em ambos os fatores analisados, enquanto o grupo LNIT alcançou os valores do grupo controle.

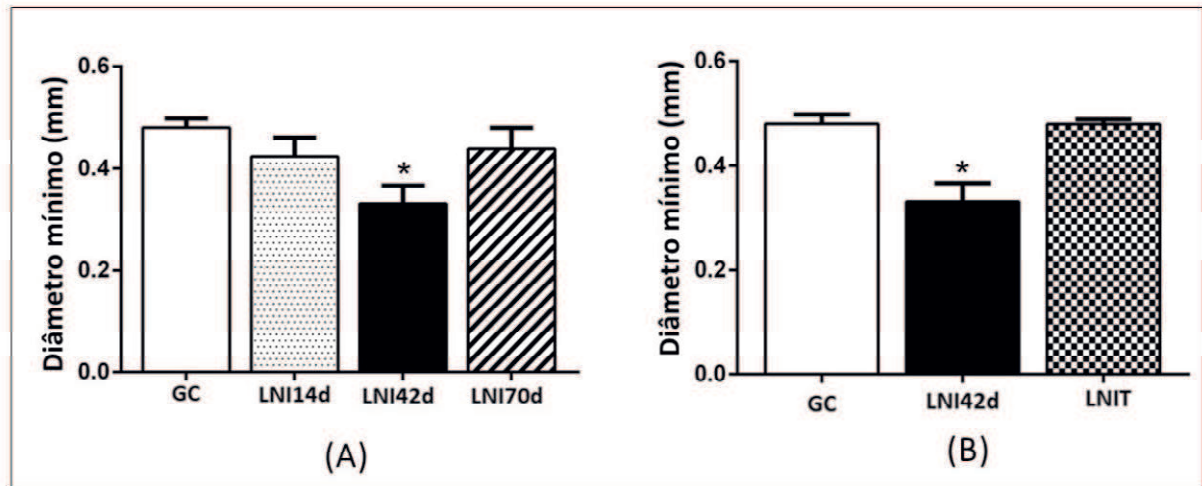
Gráfico 1 – Área das secções transversais dos nervos isquiáticos analisados.



(A) observa-se a evolução da lesão nervosa parcial compressiva considerando a área das secções transversais do nervo isquiático ao longo do tempo. Todos os animais sedentários submetidos à ligadura parcial do nervo exibiram áreas inferiores em comparação ao grupo controle. Os valores de

área apresentaram um padrão decrescente até o 42º dias pós-lesão, estando os valores do grupo LNI42d significativamente reduzidos ($p < 0,05$) quando comparados ao GC. Embora uma tendência de regeneração natural tenha sido observada aos 70 dias pós-lesão, os valores do grupo controle não foram alcançados no momento pós-lesão. (B) O treino de natação aumentou os valores de área no grupo LNIT quando comparado ao grupo LNI42d, superando os valores do grupo controle. É importante ressaltar que ambos os grupos experimentais apresentaram o mesmo tempo pós-lesão, já que o treinamento foi iniciado sete dias após a ligadura parcial do nervo. Valores representam médias \pm erro padrão da média para $n = 6$; $*p < 0,05$. Fonte: dados da pesquisa, 2018.

Gráfico 2 – Diâmetro mínimo das secções transversais dos nervos isquiáticos analisados.



(A) Evolução da lesão nervosa considerando o diâmetro mínimo das secções transversais do nervo isquiático ao longo do tempo. Todos os animais sedentários submetidos à ligação parcial do nervo exibiram valores menores quando comparados ao grupo controle. Os diâmetros mínimos apresentaram um padrão decrescente até o 42º dia pós-lesão, estando os valores do grupo LNI42d significativamente reduzidos ($p < 0,05$) quando comparados ao GC. Embora o grupo LNI70d tenha alcançado valores mais elevados do que o grupo LNI42d, não foram equiparáveis ao GC. (B) O treino de natação aumentou os valores do diâmetro mínimo no grupo LNIT quando comparado ao grupo LNI42d, alcançando, assim, os valores correspondentes ao GC. É importante ressaltar que ambos os grupos experimentais apresentaram o mesmo tempo pós-lesão, já que o treinamento foi iniciado sete dias após a lesão. Valores representam médias \pm erro padrão da média para $n = 6$; $*p < 0,05$. Fonte: dados da pesquisa, 2018.

4 DISCUSSÃO

O presente estudo buscou avaliar a eficácia do treino de natação sobre as alterações morfológicas do nervo isquiático após a ligadura parcial, além de analisar a evolução da lesão ao longo de um período de 70 dias. A ligadura parcial isquiática experimental em roedores mimetiza a complexa síndrome da dor neuropática humana (SELTZER et al., 1990), proporcionando detalhes morfológicos celulares idênticos ao nervo humano (MACKINNON et al., 1985), sendo, portanto, um modelo confiável a ser examinado.

Apesar de numerosos protocolos de exercícios terem sido realizados no intuito de elucidar seus efeitos sobre a regeneração nervosa periférica (MENDONÇA et al., 2003;

MARQUESTE et al., 2004; ILHA et al., 2008; ENGLISH et al., 2009; TEODORI et al., 2011; LIAO et al., 2017), ainda não há consenso sobre quais modalidades e parâmetros de exercício - intensidade, duração e frequência - são as mais apropriadas para induzir melhorias sobre a plasticidade neuronal. Além disso, poucos estudos examinaram o efeito da natação nas neuropatias periféricas.

4.1 Alterações morfológicas do nervo isquiático após lesão parcial compressiva

Os achados revelam que a compressão parcial do nervo leva a alterações histopatológicas visíveis. Aos 14 dias pós-lesão, o dano estrutural não é tão aparente, caracterizado apenas por edema intersticial central e discretas distorções nas bainhas de mielina. O ápice das alterações morfológicas foi observado em animais sedentários aos 42 dias pós-lesão, nos quais foram identificadas fibras nervosas de contornos irregulares com distorções nas bainhas de mielina, além de edema difuso e diminuição do diâmetro transversal mínimo do nervo isquiático. Por outro lado, decorridos 70 dias da lesão, as fibras nervosas apresentaram contornos mais regulares e arredondados, além de parâmetros morfométricos bastante semelhantes ao grupo controle, sugerindo um processo neuroregenerativo, embora ainda incompleto.

Um fator que possivelmente contribuiu para as alterações morfológicas observadas ao longo dos 70 dias pós-lesão é o provável conjunto de alterações circulatórias resultantes da compressão mecânica do nervo isquiático, associadas a importantes respostas inflamatórias (HUANG et al., 2010). Um estudo prévio relatou que compressões prolongadas e intensas podem levar a lesão axonal, exsudação de proteínas, fibrose nervosa, edema intraneural e aumento da pressão hidrostática (MATSUMOTO, 1983), o que pode ter promovido as distorções nos contornos da bainha de mielina em nosso estudo.

O tempo pós-lesão também pode desempenhar um papel nas alterações morfológicas subjacentes. Os achados relatados por Possamai et al. (2012) não evidenciaram grandes alterações histopatológicas nos cotos proximais após axoniotmese do nervo isquiático em ratos. É importante ressaltar, no entanto, que o tempo máximo de sobrevivência pós-lesão analisado foi de 29 dias no estudo em questão, em contraste com o período pós-ligadura parcial ao qual os grupos LNI42d e LNI70d foram submetidos, nos quais as alterações mais visíveis foram registradas.

Ilha et al. (2008) relataram alterações morfológicas semelhantes em ratos submetidos ao esmagamento do nervo isquiático, sendo ambos os cotos proximal e distal analisados após 42

dias da lesão nervosa. Na porção distal do nervo, sinais de degeneração foram evidenciados, enquanto que as características histológicas do coto proximal foram mais discretas quando comparadas ao coto distal. Assim, é importante considerar que tanto o coto proximal quanto o distal desenvolvem respostas à lesão, conforme relatado em estudos prévios (HALL, 2005). Com base nisso, o presente estudo se concentrou na avaliação das alterações morfológicas e morfométricas no coto proximal da lesão, onde geralmente ocorre uma degeneração retrógrada até o primeiro nodo de Ranvier, seguida do brotamento de múltiplos axônios-filhos (ERTÜRK et al., 2007).

Em contraste com os achados do coto proximal relatados por Ilha et al. (2008), nossa análise identificou que, aos 42 dias após a lesão, foram encontradas alterações importantes na morfologia e na morfometria do nervo. Essa divergência pode, possivelmente, ser explicada por diferenças no tipo de lesão.

4.2 Alterações morfométricas do nervo isquiático após lesão parcial compressiva

Ambos os parâmetros morfométricos analisados ao longo do período pós-lesão apresentaram o mesmo padrão: decréscimo numérico até o 42º dia, seguido de aumento dos valores no 70º dia, embora esse crescimento não tenha sido suficiente para alcançar as médias apresentadas pelo grupo controle. Tais achados sugerem que um processo de degeneração nervosa ocorreu nos 42 dias decorridos da compressão do nervo, sendo substituído por processos regenerativos em seguida. Isto pode estar associado ao fato de que, após uma lesão nervosa periférica, uma combinação de eventos moleculares e celulares, coletivamente denominados degeneração Walleriana, é desencadeada distalmente à lesão, bem como dentro de uma pequena porção reativa no coto proximal, culminando em degeneração axonal (KOEPPEN, 2004).

A análise morfométricas permitiu, ainda, constatar que existe uma tendência natural de regeneração da estrutura nervosa após a lesão. Sabe-se que lesão nervosa periférica causa alterações sensoriais e motoras na região do nervo acometido e induz a liberação de fatores neurotróficos nos tecidos lesionados (LI et al., 2000). Essas proteínas são essenciais para a sobrevivência, diferenciação e crescimento de neurônios durante o desenvolvimento de mamíferos (KURUVILLA et al., 2004; ZWEIFEL et al., 2005), além de promoverem a neurogênese no animal adulto (ABROUS et al., 2005; SAIRANEN et al., 2005).

O crescimento celular ocorre a partir do coto proximal do nervo, onde vários brotos axonais são formados em direção aos tubos da lâmina basal das células de Schwann na

porção distal, a fim de restabelecer a inervação (BRUSHART et al., 2002). Vários fatores estão envolvidos na degeneração e subsequente regeneração nervosa, por meio de mecanismos moduladores destes processos. A exemplo disso, estudos anteriores indicaram que, além de fornecer estrutura de suporte às fibras em regeneração, as células de Schwann estimulam a liberação de fatores neurotróficos (SPRANGER et al., 1990); Os macrófagos, por sua vez, além de remover detritos do processo degenerativo, são capazes de liberar interleucina-1 β (IL-1 β), que desencadeia a secreção de fatores tróficos (CHANG et al., 2013; KAO et al., 2013); Além disso, alterações plásticas no sistema nervoso central após lesão do nervo periférico podem ativar neurônios motores inferiores, promovendo o aumento da síntese de neurotrofinas (TEODORI et al., 2011). A interação entre esses fatores e outros mecanismos de plasticidade neuronal, todavia, ainda não está bem elucidada, especialmente no tocante ao processo de reparação do nervo após lesão parcial.

Outra possível explicação para o padrão visualizado na análise morfométrica é o fato de que a compressão crônica acarreta uma perda na viscoelasticidade da estrutura nervosa, de modo que um aumento da produção de fibras colágenas, retração endoneural e rigidez acabam por instalar-se nos limites do nervo (FRAHER; DOCKERY, 1998; MAZZER et al., 2008). Assim, a alteração das forças mecânicas afeta diretamente a porção interna da estrutura (MAZZER et al., 2008), danificando, portanto, características morfológicas, além de possivelmente estar relacionado à diminuição da área e do diâmetro mínimo nos grupos LNI14d e LNI42d.

Estudos prévios abordaram, ainda, que a lesão traumática do nervo isquiático em ratos causou redução dos diâmetros das fibras mielínicas e dos axônios, redução da densidade de fibras mielínicas, redução da espessura da bainha de mielina e aumento da área ocupada por tecido conectivo endoneural em ambas as porções proximal e distal à lesão nervosa (ILHA et al., 2008; ENGLISH et al., 2009; BONETTI et al., 2015; KAKEGAWA et al., 2015).

Um achado crítico no presente estudo diz respeito aos benefícios do treino de natação nas alterações induzidas pela ligadura parcial do nervo isquiático. Todos os parâmetros morfoquantitativos foram sugestivos de regeneração de fibras nervosas no grupo submetido à natação por 35 dias, posto que apresentaram valores equivalentes ao grupo controle. Além disso, a grande discrepância morfológica entre os grupos sedentário e treinado com sobrevida de 42 dias após a lesão (LNI42d e LNIT, respectivamente), aponta para a aceleração do processo neurorregenerativo como resultado do exercício físico moderado.

4.3 Exercício físico na regeneração nervosa

O exercício físico vem se mostrando uma possibilidade terapêutica promissora, uma vez que diversos fatores tróficos têm sua síntese aumentada, tanto no sistema nervoso, como fora dele, em decorrência da atividade física, destacando-se o NGF (*neural growth factor*), IGF (*insulin-like growth factor*), FGF-2 (*fibroblast growth factor 2*) e, principalmente, o BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) (VAYNMAN; GOMEZ-PINILLA, 2005) e GDNF (*glial cell line derived neurotrophic factor*) (GRIESBACH et al., 2004; VAYNMAN et al., 2004; YING et al., 2005). A exemplo disso, o treinamento físico aeróbico em esteira rolante, associado a treinos de coordenação e equilíbrio, contribuiu para a melhoria das propriedades morfológicas e alterações sensório-motoras após lesão compressiva do nervo isquiático em ratos (BONETTI et al., 2015), demonstrando que os fatores neurotróficos produzidos após o exercício físico geram efeitos terapêuticos (VAYNMAN; GOMEZ-PINILLA, 2005).

Uma visão geral da literatura, todavia, demonstra resultados conflitantes em relação aos potenciais benefícios ou efeitos deletérios da terapia com exercícios na regeneração nervosa. As especificações do protocolo de treinamento - intensidade, duração e modalidade, bem como o ponto de partida do exercício após a lesão - foram considerados aspectos críticos para a reabilitação pós-lesão.

Nessa perspectiva, o presente estudo definiu o tempo de sete dias após a cirurgia como o ponto de partida para o início dos treinos de natação, a fim de garantir um período razoável de recuperação pós-cirúrgica. Além disso, no momento em questão, os animais exibiam alodinia mecânica e hipersensibilidade térmica (ALMEIDA et al., 2015), sendo sugestivo de que o modelo de dor neuropática foi corretamente estabelecido.

No tocante à intensidade dos protocolos de exercícios, níveis distintos de esforço podem influenciar as células associadas ao sistema nervoso, tais quais macrófagos e células de Schwann (ROBINSON; SHANNON, 2002; LIAO et al., 2017). A exemplo disso, embora o exercício de *endurance* desencadeie efeitos benéficos sobre o nervo lesionado, quando combinado ao treinamento resistido, pode retardar a recuperação funcional do nervo isquiático (ILHA et al., 2008).

A natação, enquanto exercício aeróbico complexo, pode participar da modulação das respostas inflamatórias no tecido lesionado (LIAO et al., 2017), além de proporcionar aceleração da reinervação e do brotamento axonal (GUTMANN; JAKOUBEK, 1962). Nossos resultados em relação aos benefícios da natação em intensidade moderada estão de

acordo com estudos anteriores em que o treinamento de *endurance* foi amplamente associado à regeneração após uma lesão nervosa traumática experimental (ILHA et al., 2008; LIAO et al., 2017). Um estudo anteriormente realizado por nosso grupo demonstrou que o mesmo protocolo de natação aplicado na presente pesquisa foi capaz de normalizar o nível de secreção de NGF induzida pela lesão nervosa, bem como a regulação positiva do BDNF no gânglio da raiz dorsal, que está associada não apenas à redução da dor neuropática (ALMEIDA et al., 2015), mas também à aceleração da regeneração nervosa periférica (VÖGELIN et al., 2006).

Tomadas em conjunto, estas evidências sugerem que o treinamento de natação pode ser uma ótima estratégia para a recuperação nervosa. Nossos resultados podem ser considerados uma referência geral para estudos futuros, necessários para investigar eventos moleculares e sistêmicos relacionados ao protocolo de natação apresentado, fatores tróficos associados ao exercício, bem como o potencial dos parâmetros do treinamento físico na modulação do processo regenerativo.

5 CONCLUSÃO

Em suma, nossos dados evidenciam que a ligadura parcial do nervo isquiático promove grandes alterações histopatológicas, que se tornaram mais visíveis aos 42 dias pós-lesão. Aos 70 dias, observou-se um processo regenerativo, embora ainda incompleto. O treino moderado de natação mostrou-se um recurso terapêutico eficaz para a regeneração nervosa, acelerando tal processo, quando observado sob o ponto de vista morfoquantitativo.

EFFECT OF SWIMMING TRAINING ON NERVE REGENERATION AFTER COMPRESSIVE INJURY

Alexa Alves de Moraes*
Dr. Aline dos Santos de Maman**

ABSTRACT

Aim: This study aims to investigate morphological alterations caused by partial sciatic nerve ligation (PNL) and the efficacy of a moderate-intensity swimming training as therapeutic strategy for nerve regeneration. **Methods:** Thirty male adult mice were equally divided in control, 14 days after PNL (PNL 14 days), 42 days after PNL (PNL 42 days), 70 days after PNL (PNL 70 days), and 5-week exercise training after 7 days post-lesion (PNL trained 35 days) groups. PNL trained 35 days group began with a 10-minute session for 3 days and this time was gradually increased by 10 minutes every 3 sessions until the animals had swum for 50 minutes per session. Morphoquantitative analysis was carried out to assess nerve regeneration in each group. **Results:** PNL 14 days group exhibited less degenerating signs than PNL 42 days group, where most post-lesion alterations were visualized, besides nerve area and minimum diameter were significantly lower ($p < 0.05$) than control group. PNL 70 days group showed greater degree of regenerating fibers and similar morphometric parameters to control group. PNL trained 35 days demonstrated signs of regeneration, reaching control group values in the morphometric analysis. **Conclusion:** PNL promotes great histopathological changes, which became more visible at 42 post-injury days. A natural nerve regeneration tendency was observed throughout time, as observed in PNL 70 days group, nevertheless moderate swimming training was found to be a therapeutic resource for nerve regeneration, accelerating such process from a morphoquantitative perspective.

Keywords: Swimming. Aquatic sports. Muskuloskeletal physiotherapy. Nerve regeneration.

* Physiotherapy BSc. Student in Paraíba State University – Campus I.

E-mail: alexamoraesx3@gmail.com

** PhD. Professor at Biology Department of Paraíba State University – Campus I

E-mail: alinedemaman@yahoo.com.br

REFERÊNCIAS

- ABROUS, D. N.; KOEHL, M.; LE MOAL, M. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology. **Physiological reviews**, v. 85, n. 2, p. 523-569, 2005. ISSN 0031-9333.
- ALMEIDA, C. et al. Exercise therapy normalizes BDNF upregulation and glial hyperactivity in a mouse model of neuropathic pain. **Pain**, v. 156, n. 3, p. 504-513, 2015. ISSN 0304-3959.
- BONETTI, L. V. et al. Balance and coordination training and endurance training after nerve injury. **Muscle & nerve**, v. 51, n. 1, p. 83-91, 2015. ISSN 1097-4598.
- BRUSHART, T. M. et al. Electrical stimulation promotes motoneuron regeneration without increasing its speed or conditioning the neuron. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 15, p. 6631-6638, 2002. ISSN 0270-6474.
- CHANG, Y.-J. et al. Electrical stimulation promotes nerve growth factor-induced neurite outgrowth and signaling. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1830, n. 8, p. 4130-4136, 2013. ISSN 0304-4165.
- CHEN, Y.-W. et al. Exercise training attenuates neuropathic pain and cytokine expression after chronic constriction injury of rat sciatic nerve. **Anesthesia & Analgesia**, v. 114, n. 6, p. 1330-1337, 2012. ISSN 0003-2999.
- CONCEA. **Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos - DBCA**. MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, T. E. I. Brasília: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal 2013.
- EBERSTEIN, A.; EBERSTEIN, S. Electrical stimulation of denervated muscle: is it worthwhile? **Medicine and science in sports and exercise**, v. 28, n. 12, p. 1463-1469, 1996. ISSN 0195-9131.
- ENGLISH, A. W. et al. Treadmill training enhances axon regeneration in injured mouse peripheral nerves without increased loss of topographic specificity. **Journal of Comparative Neurology**, v. 517, n. 2, p. 245-255, 2009. ISSN 1096-9861.
- ERTÜRK, A. et al. Disorganized microtubules underlie the formation of retraction bulbs and the failure of axonal regeneration. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 34, p. 9169-9180, 2007. ISSN 0270-6474.
- FRAHER, J.; DOCKERY, P. A strong myelin thickness-axon size correlation emerges in developing nerves despite independent growth of both parameters. **The Journal of Anatomy**, v. 193, n. 2, p. 195-201, 1998. ISSN 1553-0795.
- GRIESBACH, G. S. et al. Voluntary exercise following traumatic brain injury: brain-derived neurotrophic factor upregulation and recovery of function. **Neuroscience**, v. 125, n. 1, p. 129-139, 2004. ISSN 0306-4522.
- GUTMANN, E.; JAKOUBEK, B. Effect of increased motor activity on regeneration of the peripheral nerve in young rats. **Physiologia bohemoslovenica**, v. 12, p. 463-468, 1962.

HALL, S. The response to injury in the peripheral nervous system. **Bone & Joint Journal**, v. 87, n. 10, p. 1309-1319, 2005. ISSN 2049-4394.

HUANG, H.; GU, J.; CHEN, H. Hyperbaric oxygen therapy for peripheral nerve injury. **Chongqing Yixue**, v. 39, n. 7, p. 881-883, 2010.

ILHA, J. et al. Endurance and resistance exercise training programs elicit specific effects on sciatic nerve regeneration after experimental traumatic lesion in rats. **Neurorehabilitation and neural repair**, v. 22, n. 4, p. 355-366, 2008. ISSN 1545-9683.

JI, R.-R. et al. Possible role of spinal astrocytes in maintaining chronic pain sensitization: review of current evidence with focus on bFGF/JNK pathway. **Neuron glia biology**, v. 2, n. 4, p. 259, 2006.

KAKEGAWA, A. et al. Correlation between motor function and axonal morphology in neonatally sciatic nerve-injured rats. **Anatomical science international**, v. 90, n. 2, p. 97-103, 2015. ISSN 1447-6959.

KAO, C.-H. et al. High-frequency electrical stimulation can be a complementary therapy to promote nerve regeneration in diabetic rats. **PloS one**, v. 8, n. 11, p. e79078, 2013. ISSN 1932-6203.

KOEPPEN, A. H. Wallerian degeneration: history and clinical significance. **Journal of the neurological sciences**, v. 220, n. 1, p. 115-117, 2004. ISSN 0022-510X.

KURUVILLA, R. et al. A neurotrophin signaling cascade coordinates sympathetic neuron development through differential control of TrkA trafficking and retrograde signaling. **Cell**, v. 118, n. 2, p. 243-255, 2004. ISSN 0092-8674.

LEE, S. K.; WOLFE, S. W. Peripheral nerve injury and repair. **Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v. 8, n. 4, p. 243-252, 2000. ISSN 1067-151X.

LI, Y. et al. Mechanical hyperalgesia after an L5 spinal nerve lesion in the rat is not dependent on input from injured nerve fibers. **Pain**, v. 85, n. 3, p. 493-502, 2000. ISSN 0304-3959.

LIAO, C.-F. et al. Effects of swimming exercise on nerve regeneration in a rat sciatic nerve transection model. **BioMedicine**, v. 7, n. 1, 2017.

MACKINNON, S. E.; HUDSON, A. R.; HUNTER, D. A. Histologic assessment of nerve regeneration in the rat. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 75, n. 3, p. 384-388, 1985. ISSN 0032-1052.

MARQUESTE, T. et al. Neuromuscular rehabilitation by treadmill running or electrical stimulation after peripheral nerve injury and repair. **Journal of applied Physiology**, v. 96, n. 5, p. 1988-1995, 2004. ISSN 8750-7587.

- MATSUMOTO, N. Experimental study on compression neuropathy--determination of blood flow by a hydrogen washout technic. **Nihon Seikeigeka Gakkai Zasshi**, v. 57, n. 8, p. 805-816, 1983. ISSN 0021-5325.
- MAZZER, P. Y. C. N. et al. Morphologic and morphometric evaluation of experimental acute crush injuries of the sciatic nerve of rats. **Journal of neuroscience methods**, v. 173, n. 2, p. 249-258, 2008. ISSN 0165-0270.
- MENDONÇA, A. C.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N. Directly applied low intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. **Journal of neuroscience methods**, v. 129, n. 2, p. 183-190, 2003. ISSN 0165-0270.
- POSSAMAI, F. et al. Repercussões morfológicas e funcionais do exercício sobre a regeneração nervosa periférica. **Fisioterapia em Movimento**, v. 25, n. 3, 2012.
- ROBINSON, M. D.; SHANNON, S. Rehabilitation of peripheral nerve injuries. **Physical Medicine and Rehabilitation Clinics**, v. 13, n. 1, p. 109-135, 2002. ISSN 1047-9651.
- ROSSI, D. M.; VALENTI, V. E.; NAVEGA, M. T. Exercise training attenuates acute hyperalgesia in streptozotocin-induced diabetic female rats. **Clinics**, v. 66, n. 9, p. 1615-1619, 2011. ISSN 1807-5932.
- SAIRANEN, M. et al. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus. **The Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 5, p. 1089-1094, 2005. ISSN 0270-6474.
- SELTZER, Z. E.; DUBNER, R.; SHIR, Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. **Pain**, v. 43, n. 2, p. 205-218, 1990. ISSN 0304-3959.
- SPRANGER, M. et al. Regulation of Nerve Growth Factor (NGF) Synthesis in the Rat Central Nervous System: Comparison between the Effects of Interleukin- 1 and Various Growth Factors in Astrocyte Cultures and in vivo. **European Journal of Neuroscience**, v. 2, n. 1, p. 69-76, 1990. ISSN 1460-9568.
- TEODORI, R. M. et al. Swimming exercise in the acute or late phase after sciatic nerve crush accelerates nerve regeneration. **Neural plasticity**, v. 2011, 2011. ISSN 2090-5904.
- VAYNMAN, S.; GOMEZ-PINILLA, F. License to run: exercise impacts functional plasticity in the intact and injured central nervous system by using neurotrophins. **Neurorehabilitation and neural repair**, v. 19, n. 4, p. 283-295, 2005. ISSN 1545-9683.
- VAYNMAN, S.; YING, Z.; GOMEZ- PINILLA, F. Hippocampal BDNF mediates the efficacy of exercise on synaptic plasticity and cognition. **European Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 10, p. 2580-2590, 2004. ISSN 1460-9568.
- VÖGELIN, E. et al. Effects of local continuous release of brain derived neurotrophic factor (BDNF) on peripheral nerve regeneration in a rat model. **Experimental neurology**, v. 199, n. 2, p. 348-353, 2006. ISSN 0014-4886.

YING, Z. et al. Exercise restores levels of neurotrophins and synaptic plasticity following spinal cord injury. **Experimental neurology**, v. 193, n. 2, p. 411-419, 2005. ISSN 0014-4886.

ZWEIFEL, L. S.; KURUVILLA, R.; GINTY, D. D. Functions and mechanisms of retrograde neurotrophin signalling. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 8, p. 615-625, 2005. ISSN 1471-003X.

APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO



Effect of swimming training on nerve morphological recovery after compressive injury

Alexa Alves de Moraes, Cayo Antônio Soares de Almeida, Guilherme Lucas, José Antonio Thomazini & Aline Santos DeMaman

To cite this article: Alexa Alves de Moraes, Cayo Antônio Soares de Almeida, Guilherme Lucas, José Antonio Thomazini & Aline Santos DeMaman (2018): Effect of swimming training on nerve morphological recovery after compressive injury, Neurological Research, DOI: [10.1080/01616412.2018.1504180](https://doi.org/10.1080/01616412.2018.1504180)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/01616412.2018.1504180>



Published online: 09 Aug 2018.



Submit your article to this journal [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Effect of swimming training on nerve morphological recovery after compressive injury

Alexa Alves de Moraes^a, Cayo Antônio Soares de Almeida ^b, Guilherme Lucas^c, José Antonio Thomazini ^d and Aline Santos DeMaman^e

^aDepartment of Physiotherapy, Center of Biological and Health Sciences, Paraíba State University, Campina Grande, Brazil; ^bCenter of Mathematics, Computing Sciences and Cognition, Federal University of ABC, São Paulo, Brazil; ^cDepartment of Physiology, Ribeirão Preto School of Medicine, University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil; ^dDepartment of Surgery and Anatomy, Ribeirão Preto School of Medicine, University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil; ^eDepartment of Biology, Center of Biological and Health Sciences, Paraíba State University, Campina Grande, Brazil

ABSTRACT

Objective: This study aims to investigate morphological alterations caused by partial sciatic nerve ligation (PNL) and the efficacy of a moderate-intensity swimming training as therapeutic strategy for nerve regeneration.

Methods: A number of 30 male adult mice were equally divided in control, 14 days after PNL (PNL 14 days), 42 days after PNL (PNL 42 days), 70 days after PNL (PNL 70 days) and 5-week exercise training after 7 days post-lesion (PNL trained 35 days) groups. PNL trained 35 days group began with a 10-min session for 3 days and this time was gradually increased by 10 min every three sessions until the animals had swum for 50 min per session. Morphoquantitative analysis was carried out to assess nerve regeneration in each group.

Results: PNL 14 days group exhibited less degenerating signs than PNL 42 days group, where most post-lesion alterations were visualized. Nerve area and minimum diameter were significantly lower ($p < 0.05$) than control group. PNL 70 days group showed a greater degree of regenerating fibers and similar morphometric parameters to control group. PNL trained 35 days demonstrated signs of regeneration, reaching control group values in the morphometric analysis.

Discussion: PNL promotes great histopathological changes, which became more visible at 42 post-injury days. A natural nerve-regeneration tendency was observed throughout time, as observed in PNL 70 days group; nevertheless, moderate swimming training was found to be a therapeutic resource for nerve regeneration, accelerating such process from a morphoquantitative perspective.

Abbreviations: ANOVA: One-way analysis of variance; BDNF: Brain-derived neurotrophic factor; FGF-2: Fibroblast growth factor 2; GDNF: Glial cell line derived neurotrophic factor; IGF: Insulin-like growth factor; IL-1 β : Interleukin-1 β ; NGF: Neural growth factor; PBS: Phosphate-buffered saline; PNL: Partial sciatic nerve ligation

ARTICLE HISTORY

Received 15 May 2018
Accepted 19 July 2018

KEYWORDS

Neuropathic pain; exercise; swimming; nerve regeneration; sciatic nerve

Introduction

Chronic pain following either illness or trauma remains a concerning public health issue. It has been one of the most frequent causes of health services use and the main reason of absenteeism, sick leave, early retirement, worker's compensation and low productivity levels [1–4]. Neuropathic pain as a result of peripheral nerve lesion stands as one of the most difficult types of chronic pain to be treated due to its complex etiology remains unknown regarding initiation and maintenance mechanisms [5].

Peripheral nerve injury triggers motor and sensorial abnormalities in the corresponding innervated region and induces the release of neurotrophic factors in the affected site [6]. These proteins display an essential role in neural differentiation, growth and survival throughout mammalian development [7,8], besides lead to

neurogenesis in the adult animal [9,10]. Traumatic sciatic nerve injury in rats triggered a reduction in diameter of axons, myelinated fibers and their density, as well as in myelin sheath thickness followed by the increase of endoneurial areas in distal and proximal portions of the lesion [11–14].

Studies have evidenced the importance of physical activity, as a non-pharmacological approach to treat peripheral nerve injury, contributing to a faster recovery of sensorial and motor impairments in experimental models. A number of mediators have been involved in mediating exercise-induced nerve regeneration, including neural growth factor (NGF), insulin-like growth factor (IGF), fibroblast growth factor 2 (FGF-2) and mainly brain-derived neurotrophic factor (BDNF) [15] and glial cell line derived neurotrophic factor (GDNF) should

be outlined [16–18]. Furthermore, treadmill aerobic training as well as balance and coordination exercises elicited morphological and sensorimotor improvements after compressive sciatic injury in rats [13], an effect mediated by neurotrophic factors [15].

Swimming can attenuate thermal hyperalgesia and mechanical allodynia due to chronic compressive nerve injury [19–21]. Extended swimming exercise progressively reversed mechanical allodynia in nerve injury mice, which lasted for an additional 4 weeks after exercise interruption. Besides, swimming exercise normalized nerve injury-induced nerve growth factor and the enhanced expression of BDNF in the dorsal root ganglion [21]. However, there is still a lack of consensus about the most appropriate protocol due to the need of greater understanding regarding the effects of swimming in peripheral nerve injuries.

Considering that physical exercise is a non-pharmacological and non-invasive method, accessible to all ages, the present study aims to investigate morphological alterations caused by partial sciatic nerve ligation, as well as the efficacy of a moderate-intensity swimming training as therapeutic resource for nerve regeneration through morphoquantitative analysis.

Materials and methods

Animals

The experimental procedures were approved by the Ethical Committee for Animal Experimentation of Biological and Health Sciences Center of Paraíba State University (protocol number 5102042015), and were conducted according to the ethical guidelines of Brazilian College of Animal Experimentation [22]. The study used 30 male BALB/c mice, aged 9–11 weeks and weighing from 20 g to 30 g. They were housed in standard polyethylene boxes, under 12:12 h light/dark cycle, in a temperature-controlled environment (22°C and 60% humidity) with food and water *ad libidum*.

Groups

Mice were divided in five groups and randomly assigned to different groups as follow: control group, comprising sedentary sham-operated animals (control group, $n = 6$); nerve injury animals submitted to partial sciatic nerve ligation and remaining in sedentary conditions for 14 (PNL 14 days, $n = 6$); 42 (PNL 42 days, $n = 6$); or 70 days post-lesion (PNL 70 days, $n = 6$); and nerve-injured animals submitted to a 5-week swimming exercise training after 7 days of partial ligation of the sciatic nerve (PNL trained 35 days, $n = 6$). It is important to highlight that PNL 42 days and PNL trained 35 days groups lived for 42 days after surgery.

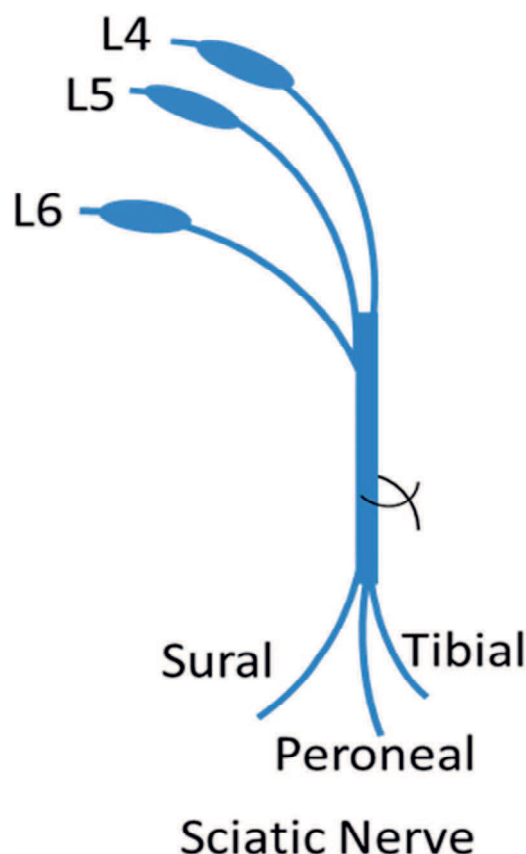


Figure 1. Partial sciatic nerve ligation model.

Neuropathic pain model

The experimental model of neuropathic pain consists of a partial unilateral nerve ligation (Figure 1) [23,24]. Surgical procedures were carried out under anesthesia with a mixture of ketamine (60 mg/kg) and xylazine (8 mg/kg). Partial nerve injury was produced by a tight ligation with 8–0 silk suture around half of the diameter of the left sciatic nerve, and skin incisions were closed with stainless steel staples. Sham surgery involved exposure of the sciatic nerve, but no ligation was performed.

Exercise protocol

The swimming training consisted of daily sessions in a glass tank with a 30 cm depth, provided with a heating system that maintained the water temperature at $32 \pm 0.5^\circ$ C. A water filter with a flow capacity of 380 L/h was adopted to clean the swimming apparatus throughout each session. The trainings were continuously monitored to avoid floating behavior.

Partial nerve ligation leads to mechanical allodynia and thermal hyperalgesia, which starts 24–48 h post-injury and remain for 3–4 months. The experimental groups started training 7 days after lesion, which was set up due to the observation that mechanical and thermal hypersensitivity were established at that stage [21]. The protocol comprised swimming training once a day for 5

consecutive days followed by 2 resting days over 5 weeks. PNL trained 35 days group began with a 10-min session for 3 days and the time was gradually increased by 10 min every three sessions until the animals swam for 50 min per session (Figure 2).

Histological procedures

After each experimental protocol, animals were subcutaneously anesthetized with an association of ketamine hydrochloride (60 mg/kg) and xylazine (8 mg/kg). Thereafter, they were transcardially perfused with phosphate-buffered saline (PBS) 0.05 M at pH 7.3, followed by a fixative mixture of 2% paraformaldehyde and 1% glutaraldehyde diluted with 0.1 M PBS at pH 7.3. The proportion of infusion solution applied in each animal was established considering a ratio of 1mL/g body weight.

Soon after perfusion, the left sciatic nerve was dissected proximally to the injury. The nerves were immersed in the same fixative solution and then a 2-h immersion in phosphate buffer was carried out. Once it was done, they were postfixated with osmium tetroxide (1% diluted in phosphate buffer at 0.1 M, pH 7.3) for 2 h at 4°C. The osmium-fixed tissues were dehydrated in increasing acetone series, aligned and embedded in Araldite® blocks to ensure fiber layer cross-section. Transversal slices (0.5 µm) were stained with 1% Toluidine blue to be posteriorly analyzed.

Morphological and morphometric analysis

An optical microscope (Olympus BX 41-BF) coupled to an image-analysis system (Image Pro-Plus v6.2 software – Media Cybernetics) was employed for the analysis.

The morphological analysis assessed myelinated and unmyelinated fibers, interstitial space, besides endoneurial connective tissue, to detect any sign of structural damage and abnormal patterns of myelination in the sciatic nerve, as well as any typical histological sign of injury and the effect of swimming training.

A morphometric analysis was carried out to estimate cross-section area and minimum diameter of the sciatic nerve.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 5.01 software and data were presented as mean ± standard error of the mean. One-way analysis of variance (ANOVA) was carried out followed by post-hoc Turkey's test for multiple comparisons. In each case, significance was set to $p < 0.05$.

Results

Morphological analysis

Control group demonstrated a bimodal fiber spectrum, encompassing large and small axonal fibers. Myelinated fibers presented with circular or ovoid profile, being connect to each other through a scanty space of endoneurial connective tissue, where clusters of unmyelinated fibers were placed (Figures 3(a) and 4(a)).

Examinations of PNL 14 days group's cross-sections demonstrated nerve swelling areas with linear appearance (Figure 3(b)). The distribution of small and large nerve fibers, as well as the proportion between the myelin sheath thickness and fiber size remained regular. Nevertheless, their myelin sheath exhibited atypical borders, such as lobulated and triangular, contrasting with control group. Histological features of endoneurial connective tissue were preserved, as well as unmyelinated fibers conglomerates (Figure 4(b)).

After 42 days post-injury, the edema presented with diffuse appearance (Figure 3(c)). Moreover, an increased interstitial space between fibers was evident, suggesting interstitial fluid accumulation. As a result, fibers were dispersed rather than connected by endoneurium and small fiber clusters became less noticeable. Axonal fibers remained irregular-shaped. Further analysis indicates that the nerve showed a considerable level of damage, evidenced by the presence of degenerating axons and degeneration debris is evident (Figure 4(c)).

Seventy days after lesion, it was observed a reduced nerve swelling and perceptible transition to circular or ovoid-shaped myelin sheath in sedentary animals. Besides degenerated axonal fibers, regenerating ones could also be recognized due to its thin myelin sheath.

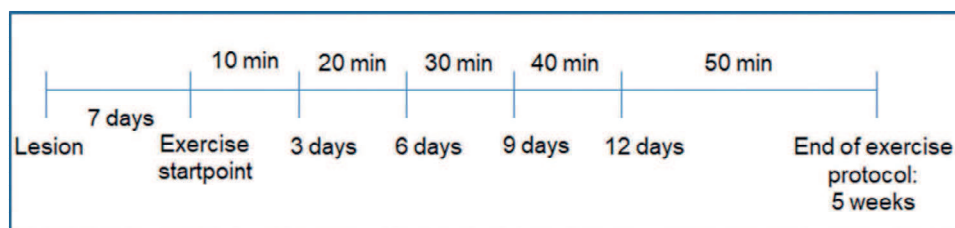


Figure 2. Protocol for moderate-intensity swimming exercise. Seven days after partial sciatic nerve ligation, animals were submitted to swimming training once a day for 5 consecutive days followed by 2 resting days over 5 weeks. The swimming training time gradually increased from 10 to 50 min per session. Overall, the animals were submitted to 25 training sessions; wherein, the first 12 sessions they swam for 10, 20, 30 and 40 min each three sessions, respectively. After that, 13 sessions of 50-min swimming training were carried out.

A visible increment on number of small fibers clusters and endoneurial connective tissue was identified, suggesting a regenerating process in the injured sciatic nerve (Figures 3(d) and 4(d)).

The trained group, which was euthanized 42 days post-injury, exhibited swelling nerve areas with a linear aspect (Figure 3(e)). In contrast to PNL 42 days group, axonal fibers are grouped and connected through endoneurial tissue. Regarding myelin sheath profiles, small fibers were irregular-shaped; whereas, large myelinated ones looked similar to control group, and a regular proportion between axon diameter and myelin sheath thickness was noticeable (Figure 4(e)). Such qualitative data

suggest that sciatic regeneration was in process at that stage. It is also important to highlight the fact that none of the groups evidenced any sign of perineurial damage.

Morphometric analysis

Animals submitted to sciatic nerve injury demonstrated lower area (Figure 5) and minimum diameters (Figure 6) of cross-sections as compared to control group. The histological evolution of the lesion exhibited a downward trend until 42 days post-injury; therefore, area (Figure 5 (a)) and minimum diameter (Figure 6(a)) values significantly ($p < 0.05$) reduced in PNL 42 days group. Although

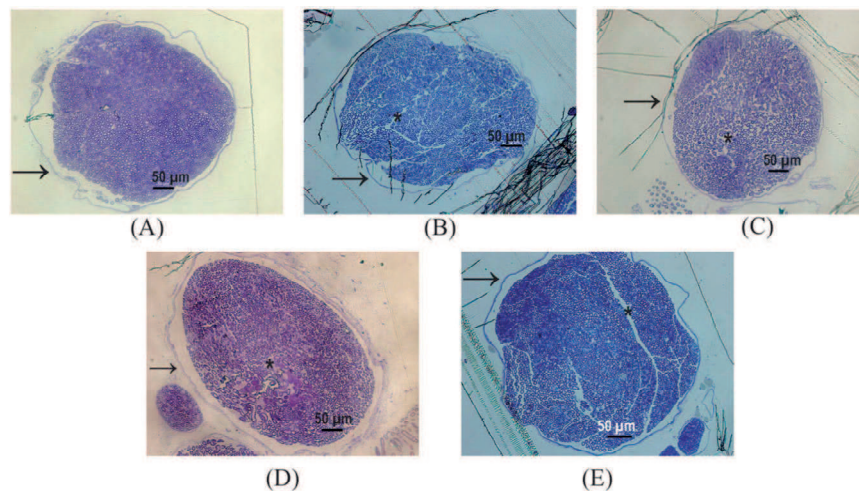


Figure 3. Sciatic nerve cross-sections from (a) Control group, (b) PNL 14 days group, (c) PNL 42 days group, (d) PNL 70 days group and (e) PNL trained 35 days, stained with toluidine blue (1%) and visualized through light microscope at 20 \times magnification (scale bar: 50 μ m). Observe swelling areas (*) and nerve's perineurium (black arrows). The sciatic nerve's ovoid shape remained regular even after surgery. When compared to the other groups, PNL 70 days demonstrated diminished swelling areas.

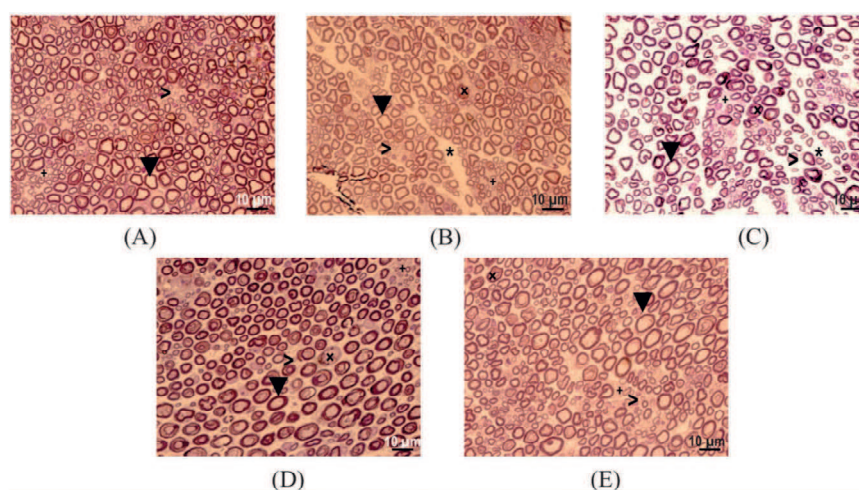


Figure 4. Sciatic nerve cross-sections from (a) Control group, (b) PNL 14 days group, (c) PNL 42 days group, (d) PNL 70 days group and (e) PNL trained 35 days, stained with toluidine blue (1%) and visualized through light microscope at 100 \times magnification (scale bar: 10 μ m). Observe swelling areas (*), myelinated fibers (down arrowheads), unmyelinated fibers (>), endoneurial connective tissue (+) and degeneration debris (x). Contrasting from control group, atypical myelin sheath contours, such as lobulated and triangular, can be observed in PNL 14 days and PNL 42 days group. A regeneration process is evident in PNL 70 days group, indicated by the transition to myelin sheath circular shape and presence of small fibers clusters. This process seemed complete in the trained group, which presented similar morphological aspects to control group.

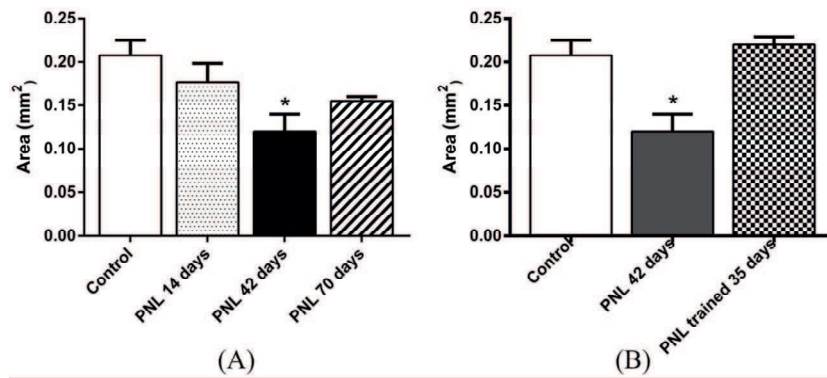


Figure 5. Area values of sciatic nerve cross-sections. (a) Evolution of nerve injury considering area of sciatic nerve cross-sections over time. All sedentary animals submitted to partial nerve ligation exhibited lower areas in comparison to control group. The area values presented with a downward pattern until 42 days post-injury, being PNL 42 days group values significantly reduced ($p < 0.05$) when compared to baseline. Although a natural regeneration trend was observed at 70 days post-injury, as can be noted in PNL 70 days group results, control group values were not achieved at such post-lesion time. (b) Swimming exercise increased area values in PNL trained 35 days group when compared to PNL 42 days group, thus overcoming control group values. It is important to highlight that both experimental groups presented with the same post-lesion time, because the training was started 7 days after the injury.

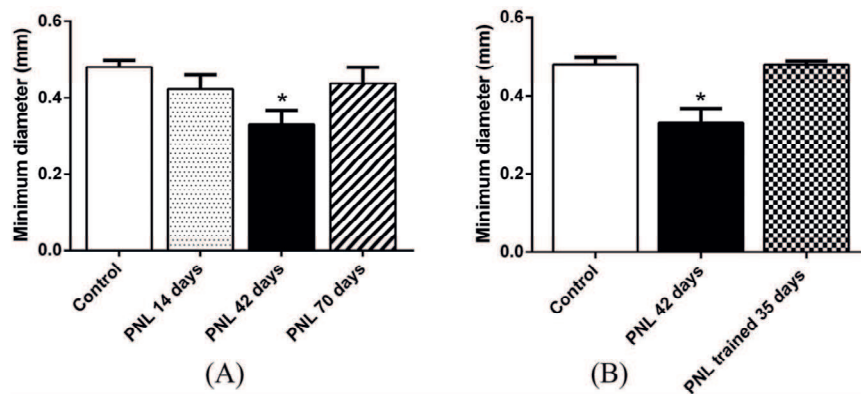


Figure 6. Minimum diameter of sciatic nerve cross-sections. (a) Evolution of the nerve injury considering the minimum diameter of sciatic nerve cross-sections over time. All sedentary animals submitted to partial nerve ligation exhibited lower values when compared to control group. The minimum diameters presented with a downward pattern until 42 days post-injury, being PNL 42 days group values significantly reduced ($p < 0.05$) when compared to baseline. Although PNL 70 days group attained higher values than PNL 42 days group, control group values were not attained at such post-lesion time. (b) Swimming exercise increased minimum diameter values in PNL trained 35 days group when compared to PNL 42 days group, thus reaching control group values. It is important to highlight that both experimental groups presented with the same post-lesion time, because the training was started 7 days after the injury.

PNL 70 days group attained higher results than the previous group, such values did not reach control group.

Figures 5(b) and 6(b), respectively, show corresponding areas and minimum diameters of sciatic cross-sections, regarding the effect of swimming exercise through comparisons between sedentary and trained groups 42 days after lesion. PNL 42 days group demonstrated a significant ($p < 0.05$) decrease in both analyzed factors; whereas, PNL trained 35 days reached control group values.

Discussion

The present study aimed to evaluate the effects of swimming training on the morphological alterations in the sciatic nerve following partial sciatic ligation, as

well as the histological evolution of the nerve lesion over a 70-day period.

Despite numerous exercise protocols have been carried out to elucidate their effects on peripheral nerve regeneration [3,4,11–13,24,25], there is still no consensus regarding which exercise modality and parameters – i.e. exercise intensity, duration and frequency – are the most appropriate for inducing neural improvements. Furthermore, few studies have examined the effect of swimming on peripheral neuropathies.

Besides, the rodent experimental partial sciatic ligation mimics the complex human neuropathic pain syndrome [23] and promotes cellular morphological details identical to human nerve [26]; thus, being a reliable model to be examined.

Sciatic nerve morphological changes after lesion

Our findings reveal that partial nerve ligation leads to visible histopathological alterations. At 14 days post-injury, morphological damage is not so apparent, characterized only by central interstitial edema and slight distortions in myelin sheaths. The most evident morphological changes were observed in sedentary animals at 42 days post-lesion, in which irregularly contoured nerve fibers with distortions in their myelin sheaths, as well as diffuse edema and decreased minimum cross-sectional diameter of the sciatic nerve were identified. On the other hand, when 70 days were elapsed following the lesion, nerve fibers presented with more regular and rounded contours, besides morphometric parameters were quite similar to the control group, suggesting a spontaneous regenerative process, though still incomplete.

One factor that may have contributed to the morphological changes over the 70 post-lesion days is the potential circulatory alterations as a result of the mechanical compression of the sciatic nerve, which could possibly lead to circulation disturbances and subsequent inflammatory responses [27]. It was previously reported that prolonged and intense compressions may lead to axonal injury, protein exudation, nerve fibrosis, intraneural edema as well as increased hydraulic pressure [28], which might have promoted distortions in myelin sheath contours in our study.

The post-injury time may also play a role in underlying morphological changes following nerve lesion. The findings reported by Possamai *et al.* did not show great histopathological alterations in proximal stumps after axonotmesis of the sciatic nerve in rats. However, the longest post-lesion survival time was 29 days [29], in contrast to our PNL 42 days and PNL 70 days groups, where most visible changes were recorded.

Ilha *et al.* reported similar morphological results regarding sciatic crush lesion in rats, where proximal and distal stumps were analyzed after 42 days following nerve injury [11]. At the distal portion of the regenerating sciatic nerve, great signs of degeneration were observed; whereas, the histological features of the proximal stump were more discrete when compared to the distal one [11]. Thus, it is important to consider that proximal and distal stumps develop responses to injury as previously reported in the literature [30]. Therefore, the present study focused on assessing morphological and morphometric changes in proximal stump of the lesion, where usually occurs a backward degeneration up to the first node of Ranvier, followed by the elaboration of multiple daughter axons [31]. In contrast to the findings of the proximal stump reported by Ilha *et al.* [11], our analysis identified that at 42 days post-injury important alterations in morphology and

morphometry of the nerve were found. Such divergence might be explained by differences in the type of lesion.

Sciatic nerve morphometric changes after partial ligation

The analyzed morphometric parameters over the post-lesion period presented with the same pattern: a downward trending until the 42nd day, followed by increased values in the 70th day, though they did not attain control group means. Such findings suggest that a nerve degeneration process might proceed even at 42 days post-lesion, indicating that effective regenerative mechanisms start afterward. This might be associated to the fact that following peripheral nerve lesion, a combination of molecular and cellular events, collectively designated as Wallerian degeneration, is triggered distally to the injury as well as within a small reactive portion at the proximal stump, culminating in axonal degeneration [32].

A cellular outgrowth occurs from proximal nerve stump, where several axonal sprouts are released toward the basal lamina tubes from the Schwann cells of the distal portion to re-establish innervation [33]. Several agents are involved in nerve degeneration and subsequent regeneration to modulate these processes, e.g. previous studies indicated that apart from providing support structure to regenerating fibers, Schwann cells stimulate the release of neurotrophic factors [34]; Macrophages, besides removing degeneration debris, usually release interleukin-1 β (IL-1 β), which triggers the secretion of growth factors [35,36]. Additionally, plastic alterations in central nervous system after peripheral nerve injury may activate lower motor neurons, promoting the increase in neurotrophins synthesis [4]. How these factors combined with further mechanisms work in peripheral nerve injuries is not well elucidated; especially, regarding the nerve repair after partial sciatic nerve ligation.

Another possible factor associated to the pattern investigated in the morphometric analysis is the reduced viscoelasticity properties of the nerve; thus, an increased collagenation, endoneural retraction and rigidity are installed in nerve boundaries [37,38]. This allows external forces to affect the inner portion of the nerve [37], leading to a reduced diameter.

A critical finding in this study is related to the benefits of swimming exercise training on the changes caused by partial nerve lesion. All morpho-quantitative parameters indicated regenerated fibers in PNL trained 35 days group, as compared to sedentary animals. Additionally, the differences between PNL trained 35 days animals and PNL 42 days group suggest a faster regenerative process in the animals submitted to swimming exercise [25].

Exercise therapy on nerve regeneration

Conflicting results regarding the potential benefits or deleterious effects of exercise therapy on nerve regeneration have been described. The protocol specifications, i.e. intensity, duration and modality, as well as the exercise startpoint after injury were found to be critical aspects for rehabilitation therapy. The present study set out 7 days after surgery as the exercise startpoint to ensure a postsurgical recovery time. Furthermore, at such time, animals exhibited mechanical allodynia and thermal hypersensitivity [21]; thus, indicating an established neuropathic pain syndrome.

Regarding the intensity of exercise protocols, distinct exertion levels of exercise may influence nerve-associated cells, such as macrophages and Schwann cells [25,39]. Additionally, although endurance exercise triggered beneficial effects after nerve injury, when combined with resistance training, it might delay functional recovery of sciatic nerve [11].

Swimming, as a complex endurance exercise, might participate in the modulation of inflammatory responses on the injured tissue [25], leading to increased reinnervation and axonal sprouting [40]. Our results are in line with previous studies where endurance training was largely associated with regeneration after an experimental traumatic nerve injury [11,25]. A previous study carried out by our group demonstrated that the same swimming protocol was capable of normalizing nerve injury-induced up-regulation of NGF and BDNF in dorsal root ganglion, which was not only associated to neuropathic pain reduction [21], but also to a faster peripheral nerve regeneration [41].

Taken together, our data raised strong evidences that swimming training played an important role in nerve regeneration after partial ligation. Moreover, additional studies are required to investigate further molecular and systemic events underlying the presented swimming protocol, and the effect of exercise-dependent neurotrophic factors on nerve regeneration

Conclusion

In summary, our data evidence that partial sciatic nerve ligation promotes significant histopathological changes, which became more visible at 42 post-injury days. At 70 days, nerve repair seemed to occur, though still incomplete. Most importantly, moderate swimming training was found to be an important therapeutic alternative for nerve regeneration, accelerating such process from a morphoquantitative perspective.

Acknowledgments

The authors are grateful to José Ethan Lucena Barbosa, PhD professor, and to the Laboratory of Limnology of Paraíba State University, which gently allowed us to

proceed the morphoquantitative analysis of the present study. We also express our gratitude to Mariana Cavalcante de Menezes for contributing on results analysis.


Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This work was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP [grant number: 11/08364-6] and by Paraíba State University through the Institutional Program for Scientific Initiation Scholarships - PIBIC [grant number: 01/2014].

ORCID

Cayo Antônio Soares de Almeida  <http://orcid.org/0000-0003-4562-192X>

José Antonio Thomazini  <http://orcid.org/0000-0003-3769-0108>

References

- [1] Eberstein A, Eberstein S. Electrical stimulation of denervated muscle: is it worthwhile? *Med Sci Sports Exerc.* 1996;28(12):1463–1469.
- [2] Lee SK, Wolfe SW. Peripheral nerve injury and repair. *J Am Acad Orthop Surg.* 2000;8(4):243–252.
- [3] Mendonça AC, Barbieri CH, Mazzer N. Directly applied low intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Methods.* 2003;129(2):183–190.
- [4] Teodori RM, Betini J, de Oliveira LS, et al. Swimming exercise in the acute or late phase after sciatic nerve crush accelerates nerve regeneration. *Neural Plast.* 2011;8. DOI:10.1155/2011/783901.
- [5] Ji RR, Kawasaki Y, Zhuang ZY, et al. Possible role of spinal astrocytes in maintaining chronic pain sensitization: review of current evidence with focus on bFGF/JNK pathway. *Neuron Glia Biol.* 2006;2(4):259–269.
- [6] Li Y, Dorsi MJ, Meyer RA, et al. Mechanical hyperalgesia after an L5 spinal nerve lesion in the rat is not dependent on input from injured nerve fibers. *Pain.* 2000;85(3):493–502.
- [7] Kuruvilla R, Zweifel LS, Glebova NO, et al. A neurotrophin signaling cascade coordinates sympathetic neuron development through differential control of TrkA trafficking and retrograde signaling. *Cell.* 2004;118(2):243–255.
- [8] Zweifel LS, Kuruvilla R, Ginty DD. Functions and mechanisms of retrograde neurotrophin signalling. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6(8):615–625.
- [9] Abrous DN, Koehl M, Le Moal M. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology. *Physiol Rev.* 2005;85(2):523–569.
- [10] Sairanen M, Lucas G, Ernfors P, et al. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus. *J Neurosci.* 2005;25(5):1089–1094.