

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – CAMPUS DE
CASCABEL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM BIOCÊNCIAS E
SAÚDE – NÍVEL MESTRADO

KELI LOVISON

**EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO NO MÚSCULO SÓLEO APÓS LESÃO
COMPRESSIVA DO NERVO ISQUIÁTICO DE RATOS WISTAR**

CASCABEL-PR
Fevereiro/2016

KELI LOVISON

**EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO NO MÚSCULO SÓLEO APÓS LESÃO
COMPRESSIVA DO NERVO ISQUIÁTICO DE RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Biociências e Saúde – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

**Área de concentração: Fatores que
Influenciam a Morfofisiologia Orgânica**

ORIENTADORA: Prof^a. Dra. Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro

COORIENTADORA: Prof^a. Dra. Rose Meire Costa Brancalhão.

CASCADEL-PR

Fevereiro/2016

FOLHA DE APROVAÇÃO

Keli Lovison

Efeitos do exercício resistido no músculo sóleo após lesão compressiva do nervo isquiático de ratos Wistar

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde e aprovada em sua forma final pela Orientadora e pela Banca Examinadora.

Prof^ª. Dra. Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE (Orientadora)

Prof^ª. Dra. Célia Cristina Leme Beu

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

Prof^ª. Dra. Luzmarina Hernandez

Universidade Estadual de Maringá – UEM

CASCADEL-PR

Fevereiro/2016

DEDICATÓRIA

À Deus pela presença constante em minha vida.
Aos meus pais Eiva e Jair.
Gratidão pela vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar sempre presente em minha vida, e por tornar tudo possível.

Aos meus pais, Jair e Eiva pelos ensinamentos e apoio incondicional durante todos esses anos, que auxiliaram na construção do meu alicerce de vida. Sem vocês, nada disso seria possível.

Ao meu namorado Djoney, por estar sempre ao meu lado, pelo carinho, paciência e compreensão nos momentos de ausência.

À Professora Dra. Lucinéia, pela dedicação, incentivo, confiança e acima de tudo, por ser uma grande pesquisadora, que compartilha com competência seus conhecimentos e experiências.

À professora Dra. Rose Meire Costa Brancalhão e ao professor Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini pelos conhecimentos transmitidos e pelo auxílio em todas as etapas da realização deste estudo.

À colega de mestrado Lizyana, pelo apoio e principalmente pela amizade que construímos durante essa etapa tão importante de nossas vidas.

Aos colegas do LABEF, que contribuíram de alguma forma e em especial a doutoranda Regina Inês Kunz, pela sua dedicação, atenção constante e contribuições neste estudo.

Às professoras Dra. Célia Cristina Leme Beu e Dra. Luzmarina Hernandes, membros da banca, pela disponibilidade e ensinamentos.

E a todas as pessoas que colaboraram de forma direta ou indireta, para a conclusão desta etapa de tamanha importância em minha vida.

“A mente que se abre a uma ideia.
jamais voltará ao seu
tamanho original”

(Albert Einstein)

RESUMO GERAL

Lesões nos nervos periféricos resultam na interrupção da transmissão de impulsos nervosos, que pode levar à diminuição ou perda da sensibilidade e motricidade no território inervado, afetando diretamente o tecido muscular e a mobilidade do indivíduo. Anualmente, em países desenvolvidos, sua incidência é expressiva e acomete, principalmente, a população economicamente ativa, levando à diminuição na qualidade de vida e impactos socioeconômicos. No processo de reabilitação os exercícios físicos são utilizados como modalidade terapêutica, auxiliando na manutenção das propriedades musculares e na recuperação funcional. Por este motivo, este estudo objetivou analisar os efeitos do exercício físico resistido de subida em escada no músculo sóleo, após lesão compressiva do nervo isquiático de ratos Wistar. Para tanto, foram utilizados 24 ratos adultos divididos aleatoriamente em 4 grupos, com 6 animais cada: controle, exercício, lesão e lesão com exercício. Três dias após a compressão experimental do nervo isquiático, os grupos exercício e lesão com exercício, foram submetidos ao exercício resistido de subida em escada, durante 21 dias. Após este período, os animais foram eutanasiados e o músculo sóleo processado para avaliação histomorfométrica. Os resultados mostraram maior área de secção transversa das fibras musculares no grupo exercício, quando comparado com os demais grupos, assim como, uma maior área no grupo lesão com exercício em relação ao grupo lesão. Na mensuração do menor diâmetro das fibras, foram verificados valores maiores no grupo exercício quando comparado com os grupos controle e lesão. Também, houve aumento do número de capilares sanguíneos no grupo lesão, quando comparado com os grupos exercício e lesão com exercício, e diminuição do número de fibras no grupo exercício, quando comparado com os grupos lesão e lesão com exercício. Houve menor número de sarcômeros em 300 μm , ao mesmo tempo em que seu comprimento foi maior nos grupos lesão e lesão com exercício, quando comparado ao grupo controle. A análise morfológica revelou que no grupo exercício a maioria das fibras se apresentava hipertrofiada, enquanto que no grupo lesão foram evidentes os sinais de dano muscular decorrentes da lesão isquiática, com fibras irregulares, núcleos centrais e com halo circundante, desorganização da fibra e do fascículo muscular, mioblastos no local da lesão e aumento dos capilares sanguíneos. Já no grupo lesão com exercício, foi verificada uma melhora significativa na morfologia muscular, com poucas fibras com características alteradas. A AQP1 foi imunolocalizada no endotélio dos capilares sanguíneos presentes nas fibras musculares de todos os grupos. Assim, conclui-se que o exercício resistido de subida em escada, iniciado na fase aguda, foi uma modalidade terapêutica eficaz na recuperação de aspectos morfológicos no músculo sóleo após a desnervação.

Palavras-chave: Nervos periféricos, Músculo esquelético, Fisioterapia, Reabilitação.

GENERAL ABSTRACT

Peripheral nerves injuries result in interruption of the transmission of nerve impulses, with a decrease or loss of sensation and motor function in innervated area, directly affecting the muscle tissue and the individual's mobility. Annually in developed countries, their impact is significant and affects mainly the active economically peoples, leading to decrease in quality of life and socio-economic impacts. In the rehabilitation process physical exercises are used as a therapeutic modality that can assist in maintaining muscle properties and functional recovery. Thus, this study aimed to analyze the effects of resistance exercise with ladder climbing in the soleus muscle, after compression of the sciatic nerve of Wistar rats. For this purpose, 24 adult rats were used, randomly divided into 4 groups of 6 animals each: control; exercise; lesion; and exercise with lesion. Three days after the compression of the sciatic nerve, the animals in the exercise group and the exercise with lesion group were submitted to resistance exercise for 21 days. After this period, the animals were euthanized and the soleus muscle processed for histomorphometric analysis. The results showed an increase cross-sectional area of muscle fibers in group exercise as compared to the other groups, as well as an increase area in group exercise with lesion in relation the group lesion. In the measurement of smaller diameter of the fibers, higher values were observed in group exercise when compared to control and lesion. Also, an increase in the number of blood capillaries in group lesion in comparison with exercise and exercise with lesion, and decreased number of fibers in group exercise, when compared to lesion and exercise with lesion. There was a fewer of sarcomeres at 300 μm , while its length is increase in lesion and exercise with lesion, as compared to control. The morphology analysis revealed that group exercise, most of the fibers had hypertrophied, while in group lesion was evident muscle damage resulting from sciatic compression, with irregular fibers, nucleus central and with surrounding halo, disruption of fiber and muscle fascicle, myoblasts to the site of injury and increased blood capillaries. Since the group exercise with lesion, a significant improvement in muscle morfology was found, with few fibers altered characteristics. The AQP1 was imunolocalizada the endothelium of blood capillaries present in the muscle fibers of all groups. Thus, it is concluded that resistance exercise with ladder climbing initiated during the acute phase, was an effective therapeutic modality in the recovery of morfology in the soleus muscle after denervation.

Keywords: Peripheral nerves, skeletal muscle, Physical Therapy Specialty, Rehabilitation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	Geral	14
2.2	Específicos.....	14
3	REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1	Estrutura dos nervos	15
3.2	Lesão nervosa periférica.....	17
3.3	Músculo estriado esquelético.....	19
3.4	Lesão nervosa: consequências e reparo muscular	22
3.5	Exercícios Físicos na Intervenção fisioterapêutica	25
3.5.1	Exercício Resistido	25
4	REFERÊNCIAS	28
5	ARTIGO CIENTÍFICO	38
	ANEXO A	59
	ANEXO B	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema da estrutura dos nervos periféricos	16
Figura 2: Figura esquemática do trajeto do nervo isquiático em humano e em modelo animal (rato).	17
Figura 3: Modelo esquemático dos graus de lesões nervosas.....	18
Figura 4: Desenho esquemático da organização da fibra muscular.....	19
Figura 5: Desenho esquemático da estrutura do músculo esquelético.	21
Figura 6: Imagem mostrando a localização do músculo sóleo e composição do tríceps sural.....	22

LISTA DE ABREVIATURAS

µm – Micrômetro
AQP1 – Aquaporina 1
bHLH – Hélice-alça-hélice básicos
cm – Centímetro
g – Grama
L4 – Quarto segmento medular lombar
L6 – Sexto segmento medular lombar
MyoD – Fator de Diferenciação Miogênico
Myf5 – Fator Miogênico 5
Myf-1 – Miogenina
S3 – Terceiro segmento medular sacral
x – Vezes

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os nervos periféricos são comumente alvos de lesões traumáticas, como esmagamento, estiramento, compressão, avulsão, secção parcial ou total, que resultam na interrupção da transmissão de impulsos nervosos, com diminuição ou perda da sensibilidade e motricidade no território inervado (MONTE-RASO et al., 2006). Anualmente, em países desenvolvidos, a incidência de lesões é estimada entre 13 a 23 casos a cada 100.000 habitantes (LI et al., 2014), acometendo principalmente a população economicamente ativa, como jovens do sexo masculino (ESER et al., 2009; KOUYOUMDJIAN, 2006).

Essas lesões são capazes de provocar um grande impacto sobre o indivíduo, seus familiares e a sociedade como um todo. Além do aumento nas despesas de saúde pública e previdenciária (SEBBEN et al., 2011), devido ao tratamento extremamente caro e de longa duração (PEREIRA-LOPES et al., 2013), acarretam ainda, perda na capacidade funcional, diminuição na qualidade de vida (NAVARRO, 2009) e sintomas como depressão e ansiedade (BRASIL; PONDÉ, 2009).

O nervo isquiático é o mais utilizado para estudo de lesão nervosa, devido ao seu tamanho, fácil acesso cirúrgico e por possuir dados prévios para comparação (GEUNA, 2015). Sua lesão é caracterizada por dor ao longo do nervo ou ciatalgia, lombalgia, distúrbios sensoriais e fraqueza dos músculos do membro inferior (KOBAYASHI; YOSHIZAWA; YAMADA, 2004; YUEN; SO, 1999), afetando diretamente o músculo sóleo (SAKAKIMA; YOSHIDA, 2003; TANAKA; TSUBAKI; TACHINO, 2005), uma vez que interrompe a comunicação neuromuscular (CAVALCANTE et al., 2012; FERNANDES et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2008; TANAKA; TSUBAKI; TACHINO, 2005; WATSON et al., 2001), resultando em diminuição da área de secção transversa das fibras musculares (CAIERÃO et al.,

2008; FERNANDES et al., 2005; JUNIOR et al., 2013), atrofia (BOBINAC et al., 2000; SILVA-COUTO et al., 2012), aumento na densidade capilar (WAGATSUMA; TAMAKI; OGITA, 2005) e aumento do tecido conjuntivo intramuscular (CAIERÃO et al., 2008).

Embora os nervos possuam capacidade intrínseca de se recuperar após a lesão, a regeneração dos tecidos associados continua sendo um problema clínico importante (CHENG et al., 2013; ISAACS, 2010; NAVARRO; VIVÓ; VALERO-CABRÉ, 2007). Neste contexto, medidas fisioterapêuticas são capazes de auxiliar a reabilitação desses indivíduos, principalmente na manutenção das propriedades musculares e na sua recuperação funcional (UDINA; PUIGDEMASA; NAVARRO, 2011).

Dentre os recursos fisioterapêuticos, estão os exercícios físicos resistidos que consistem em uma atividade voltada para o restabelecimento das funções musculares, por meio da aplicação de sobrecarga (CASSILHAS et al., 2013; HORNBERGER; FARRAR, 2004). Estudos mostram os benefícios dos exercícios físicos na regeneração muscular, como na prevenção da atrofia e na restauração das propriedades contráteis e metabólicas do músculo (MARQUESTE et al., 2004; TANAKA; TSUBAKI; TACHINO, 2005).

No entanto, os efeitos no músculo sóleo, após lesão compressiva do nervo isquiático, são um aspecto muito discutido, especialmente em relação ao tipo de exercício, sua intensidade e ao melhor período para ser iniciado (ARTIFON et al., 2013; DESCHENES; MARESH; KRAEMER, 1997; TANAKA; TSUBAKI; TACHINO, 2005). Considerando a alta incidência de lesões nervosas periféricas, seus efeitos sobre a musculatura estriada esquelética, bem como os potenciais benefícios do exercício resistido sobre o músculo, justifica-se a necessidade do presente estudo.

A presente dissertação originou o artigo científico intitulado: “Exercício resistido acelera a recuperação e altera a expressão da AQP1 no músculo sóleo desnervado de ratos Wistar” (Artigo 1), que será submetido à Revista Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports, cujas normas são apresentadas no anexo B.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Analisar os efeitos do exercício físico resistido de subida em escada, sobre o músculo sóleo, após lesão compressiva do nervo isquiático de ratos Wistar.

2.2 Específicos

- Mensurar a área de secção transversa e menor diâmetro da fibra muscular, bem como a densidade do tecido conjuntivo no músculo sóleo.
- Quantificar o número de fibras musculares e de capilares sanguíneos no músculo sóleo.
- Realizar a mensuração do comprimento do músculo sóleo, estimar o número de sarcômeros em série e o seu comprimento ao longo do músculo.
- Analisar as possíveis alterações morfológicas advindas do exercício resistido e da lesão sobre o músculo sóleo.
- Avaliar através de reações imunohistoquímicas, a expressão de Aquaporina 1 (AQP1) no músculo sóleo.

3 REVISÃO GERAL DE LITERATURA

3.1 Estrutura dos nervos

Os nervos têm a função de estabelecer a comunicação entre os centros nervosos, órgãos e tecidos. São compostos por axônios de neurônios motores, que conectam o sistema nervoso central com as células ou tecidos efetores, e neurônios sensoriais, que conectam os receptores periféricos com o sistema nervoso central (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Os componentes neurais do nervo periférico são as fibras nervosas, em geral, axônios com bainha de mielina, que tem a função de acelerar a condução do impulso nervoso. O axônio é um prolongamento longo e delgado do corpo celular, o qual possui terminações nervosas em sua região distal e, por meio destas, realiza os contatos sinápticos com os órgãos alvos (KIERSZENBAUM, 2008).

Os axônios podem ser mielinizados ou não mielinizados. Os mielinizados apresentam várias camadas de bainha de mielina formada pelas células de Schwann, interrompidas apenas nos nodos de Ranvier, enquanto os não mielinizados, embora não possuam bainha de mielina e nodos de Ranvier, estão em contato íntimo com as células de Schwann (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Um nervo consiste em numerosas fibras nervosas agrupadas em fascículos por bainhas de tecido conjuntivo. Essas formam 3 estruturas distintas: epineuro, perineuro e endoneuro. O epineuro cobre o nervo inteiro, o perineuro separa os nervos em fascículos e o endoneuro envolve individualmente a fibra nervosa e suas células de Schwann associadas (Figura 1) (KIERSZENBAUM, 2008).

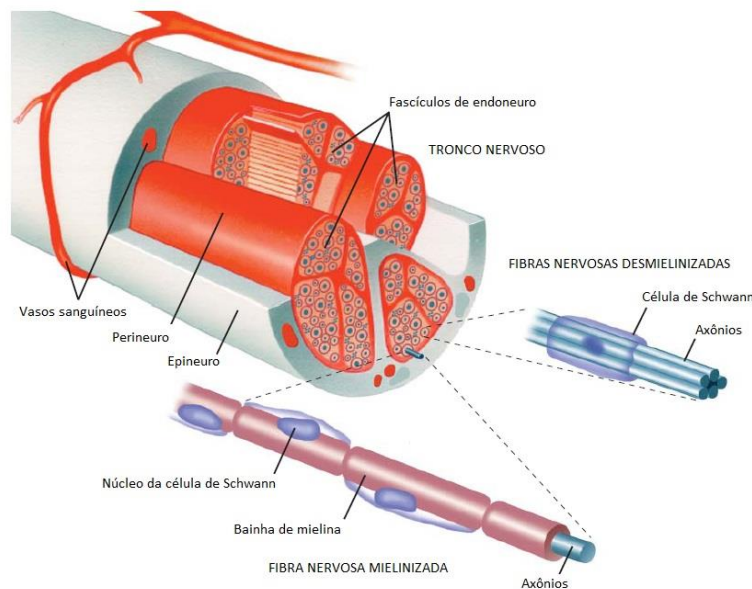


Figura 1- Esquema da estrutura dos nervos periféricos (CHALK, 2008).

O nervo isquiático apresenta as características básicas de um nervo periférico, é classificado como misto, por possuir fibras aferentes e eferentes, é o maior do corpo humano e tem origem no quarto segmento medular lombar (L4) até o terceiro segmento sacral (S3). Entra na região glútea através do forame isquiático maior, desce no compartimento posterior da coxa e no terço médio do membro inferior, geralmente na fossa poplítea, bifurca-se nos nervos tibial e fibular comum (Figura 2A) (MOORE; DALLEY, 2007). Cada um destes ramos leva diferentes proporções de axônios motores, sensoriais e autonômicos em direção aos músculos, receptores cutâneos ou vasos, localizadas em territórios definidos no membro inferior. É responsável por suprir a sensibilidade da maior parte da perna e do pé, a motricidade e propriocepção dos músculos posteriores da coxa e todos os músculos da perna e do pé (RODRÍGUEZ; VALERO-CABRÉ; NAVARRO, 2004).

Já nos ratos origina-se desde L4 até o sexto segmento medular lombar (L6). É unifascicular até o trocanter do fêmur, onde se divide em duas porções, a tibial, que dá origem ao nervo tibial e sural e a fibular que dá origem ao nervo fibular e a um ramo cutâneo (Figura 2B) (SCHMALBRUCH, 1986).

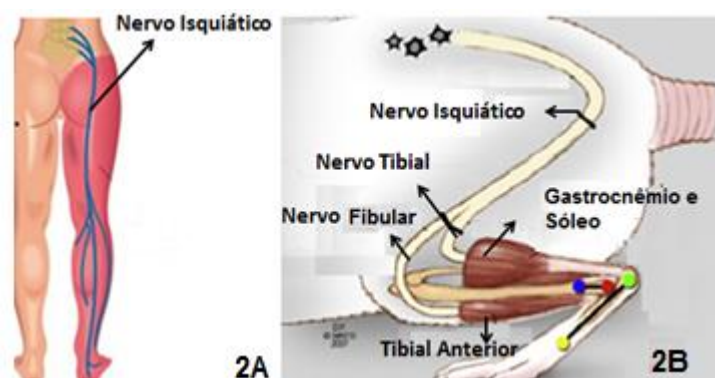


Figura 2 **A.** Figura esquemática do trajeto do nervo isquiático em humano (Disponível em: <<http://carmenarabelablog.wordpress.com/2013/12/12/tratamento-e-prevencao-da-ciatica>>. Acesso em 14 de Julho de 2015); **B** em modelo animal (rato) (DE RUITER et al., 2008)

O conhecimento das estruturas anatômicas que compõem o nervo é de extrema importância, devido ao seu papel ativo nos processos celulares, moleculares e fisiológicos, favorecendo a caracterização do tipo de lesão e sua gravidade (BURNETT; ZAGER, 2004).

3.2 Lesão Nervosa Periférica

Existem duas classificações principais de lesões que podem acometer o sistema nervoso periférico. Uma delas, a mais utilizada na literatura, foi descrita por Seddon (1943), que estabeleceu 3 diferentes graus para as lesões nervosas (Figura 3):

1) Neuropraxia – a forma mais branda de uma lesão nervosa, na qual existe um bloqueio transitório na condução dos estímulos, o axônio não perde sua continuidade e não ocorre degeneração Walleriana, que se caracteriza pelo comprometimento da integridade axonal e degeneração das fibras nervosas distalmente ao local do trauma. A recuperação é completa e se dá espontaneamente em poucos dias ou semanas.

2) Axonotmese – os danos são suficientes para promover uma ruptura da continuidade axonal, provocando degeneração Walleriana. A microcirculação está preservada, o epineuro, perineuro e as células de Schwann estão intactas. O prognóstico é bom, pois a estrutura conjuntiva remanescente provê suporte para o brotamento axonal e a reinervação.

3) Neurotmeze – tipo mais grave de lesão, há uma completa ruptura do nervo periférico, rompimento dos axônios, bainha de mielina, células de Schwann e envoltórios conjuntivos, em graus variáveis. O prognóstico é desfavorável, a menos que a continuidade do nervo seja restabelecida e o tratamento requer intervenção cirúrgica.

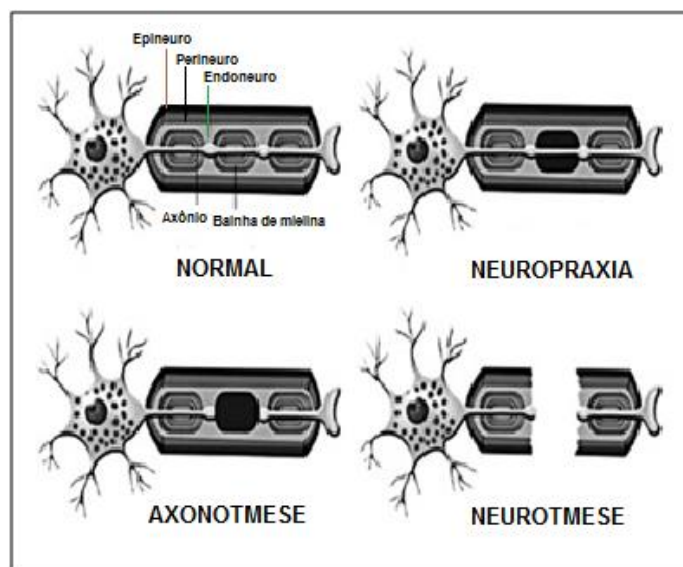


Figura 3- Modelo esquemático dos graus de lesões nervosas (Martins et al., 2013).

A outra classificação, estabelecida por Sunderland (1978), caracteriza a lesão nervosa periférica em 5 graus: Grau I ocorre lesão da bainha de mielina, com bloqueio temporário da condução nervosa, mantendo a integridade da estrutura nervosa; Grau II com lesão axonal parcial, degeneração Walleriana, porém com integridade da membrana basal; Grau III com lesão axonal parcial e fragmentação da lâmina basal; Grau IV com lesão de endoneúrio, perineúrio e lâmina basal; Grau V com lesão axonal completa do tronco nervoso.

O modelo de compressão do nervo isquiático reproduz de forma confiável uma lesão do tipo axonotmeze (BRIDGE et al., 1994; CÂMARA et al., 2011; POSSAMAI; SIEPKO; ANDRÉ, 2010; VAN MEETEREN et al., 1997), que é um modelo bem característico de regeneração e plasticidade do nervo periférico (CÂMARA et al., 2011; SOBRAL et al., 2008). A axonotmeze leva a uma imediata perda na condutividade nervosa e na ligação com o músculo alvo (BURNETT; ZAGER, 2004). Carmignoto et al. (1983) relataram que quando ocorre a compressão do nervo isquiático, os músculos se tornam desnervados.

3.3 Músculo Estriado Esquelético

O músculo estriado esquelético forma o maior tecido presente nos vertebrados e está envolvido na locomoção, postura e movimentos respiratórios (SILVA; CARVALHO, 2007). As fibras musculares são constituídas por células multinucleadas especializadas e apresentam mionúcleos localizados na periferia da fibra, abaixo da membrana plasmática. Além disso, residem no músculo esquelético adulto uma população de pequenas células mononucleares, as células satélites, sendo denominadas também de mioblastos adultos indiferenciados. Estas células ocupam uma posição periférica em relação à miofibrila adjacente, e participam da manutenção, crescimento e regeneração do tecido muscular (AGUIAR; AGUIAR, 2009; HAWLEY, 2002; PETRELLA et al., 2008).

Seu diâmetro pode variar de 10 a 100 micrômetros (μm), e o comprimento pode chegar até 30 centímetros (cm), dependendo da arquitetura muscular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; SILVA; CARVALHO, 2007). As células musculares apresentam características específicas e por isso seus componentes recebem nomes especiais. O citoplasma é chamado de sarcoplasma; o retículo endoplasmático, de retículo sarcoplasmático e a membrana citoplasmática de sarcolema (Figura 4) (TORTORA; GRABOWSKI, 2006).

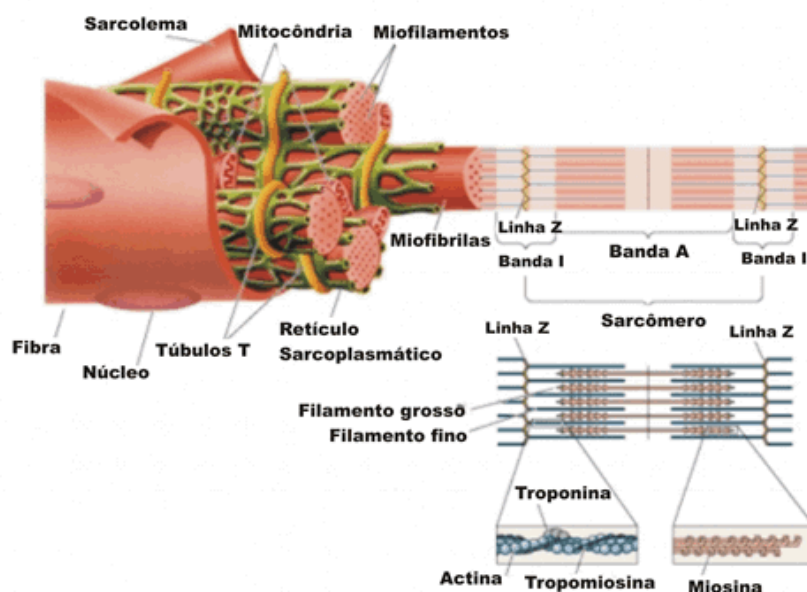


Figura 4- Desenho esquemático da organização da fibra muscular (Disponível em: <http://fisioexesef.blogspot.com.br/2013_05_01_archive.html>. Acesso em 19 de Setembro de 2015).

O sarcoplasma é constituído pelas miofibrilas, além das organelas. O sarcolema é constituído por uma membrana basal, composta por glicoproteínas e colágeno, e pelo plasmalema, que permite que os impulsos elétricos sejam transmitidos ao longo da célula. O sarcolema sofre invaginações, formando túbulos T, que são responsáveis pela contração uniforme de cada fibra muscular. Os túbulos T formam uma associação íntima com duas cisternas terminais do retículo sarcoplasmático, chamada de tríade. O retículo sarcoplasmático (Figura 4), por sua vez, é especializado no armazenamento de íons cálcio, e sua função é liberá-los no sarcoplasma durante a passagem de um impulso elétrico, permitindo assim a contração muscular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; KIERSZENBAUM, 2008).

As fibras musculares são compostas por miofibrilas, formadas pelos filamentos de actina e miosina. Apresentam formato cilíndrico, com diâmetro entre 1 e 2 μm , podendo ser vistas ao microscópio de luz como estriações transversais com alternância de faixas claras e escuras. A faixa clara é isotrópica à luz polarizada, que atravessa facilmente os finos filamentos de actina e recebe o nome de banda I. A faixa escura é anisotrópica, composta por actina e filamentos espessos de miosina, o que dificulta a passagem da luz, e por isso é denominada de banda A. No centro de cada banda I aparece uma linha transversal escura, a linha Z. A banda A apresenta uma zona mais clara no seu centro, a banda H (TORTORA; GRABOWSKI, 2006). A estriação da miofibrila é devido a repetição de unidades iguais, os sarcômeros, que medem cerca de 2,5 μm e ficam delimitados por duas linhas Z sucessivas (Figura 4) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Uma matriz extracelular rica em carboidratos e proteínas envolve as fibras musculares, compondo o tecido conjuntivo muscular. Este pode ser dividido em 3 bainhas distintas: o epimísio, que envolve todo o músculo externamente; o perimísio, que divide o músculo em fascículos, cada um contendo várias fibras musculares; e o endomísio, que envolve cada fibra muscular individualmente (Figura 5). Os capilares que correm paralelamente ao eixo longitudinal da fibra seguem o tecido conjuntivo para o interior do músculo, fornecendo o suprimento sanguíneo (OVALLE; NAHIRNEY, 2008).

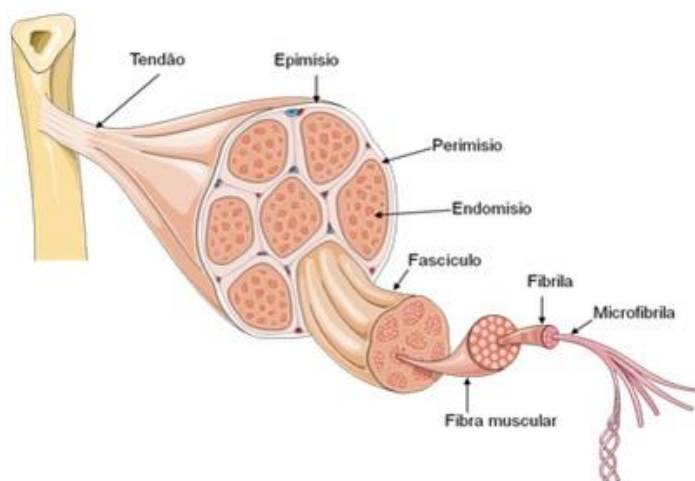


Figura 5- Desenho esquemático da estrutura do músculo esquelético (Disponível em: <http://anatomiaunieuro.blogspot.com.br/2013_09_01_archive.html>. Acesso em 14 de Abril de 2015).

As fibras musculares podem ser classificadas por suas características fisiológicas e bioquímicas. A classificação principal divide as fibras em lentas e rápidas. As fibras lentas (tipo I) apresentam coloração avermelhada, altos níveis de mioglobina, um extenso sistema de vasos sanguíneos, grande número de mitocôndrias, diâmetro relativamente pequeno, são resistentes à fadiga, estão adaptadas a atividades de contração contínua e utilizam o sistema aeróbio para obtenção de energia. Já, as fibras rápidas (tipo II) apresentam coloração vermelho claro, normalmente designadas como fibras brancas, pouca mioglobina, menor quantidade de mitocôndrias, diâmetro maior, não possuem sistema de vasos sanguíneos tão extenso, estão adaptadas a atividades de contração rápida em um curto período de tempo e obtêm energia do sistema glicolítico (BERNE et al., 2004; IMAMURA; IMAMURA; HIROSE-PASTOR, 1999; PIOVESAN et al., 2009).

O músculo sóleo está localizado profundamente ao gastrocnêmio e, junto com ele forma o tríceps sural, com origem na face posterior da cabeça e do colo da fíbula, e está fixado à linha do músculo sóleo da tíbia por meio de um arco tendíneo. Na extremidade distal da perna, estreita-se para se fundir ao tendão do calcâneo (Figura 6). Recebe inervação do nervo tibial, que é um ramo do nervo isquiático. É um músculo forte, grande, plano e anti-gravitacional, formado principalmente por fibras vermelhas, resistentes à fadiga e de contração lenta (MOORE; DALLEY, 2007).



Figura 6- Imagem mostrando a localização do músculo sóleo e composição do tríceps sural (BACELAR, 2011).

Quando o pé está apoiado, o músculo sóleo traciona posteriormente os ossos da perna, fornecendo a estabilidade desse segmento corporal, é também responsável pela flexão plantar da articulação do tornozelo (talocrural), ressaltando assim, sua importância na postura bípede e na deambulação (MOORE; DALLEY, 2007). Dessa forma, conhecer os efeitos da lesão nervosa periférica sobre o músculo sóleo, pode ser fundamental na manutenção da capacidade funcional do indivíduo.

3.4 Lesão nervosa: consequências e reparo muscular

A interrupção da comunicação neuromuscular provoca perda imediata da atividade voluntária reflexa do músculo, alterando a excitabilidade da membrana sarcoplasmática, diminuindo seu potencial de repouso e tornando as fibras musculares hipersensíveis à acetilcolina (NELSON; HAYES; CURRIER, 2003). O tipo e o grau de lesão nervosa podem determinar se a resposta do músculo será transitória ou permanente (ROBINSON; SNYDER-MACKLER, 2001).

A alteração mais significativa no sistema muscular após a lesão nervosa periférica é a atrofia, resultado da diminuição do diâmetro da fibra, que afeta tanto as fibras rápidas quanto as lentas e causa redução da força muscular (LIEBER, 2002). Segundo Carlson (2014), a atrofia se torna mensurável em poucos dias e em músculos lentos, como o sóleo, ocorre mais rapidamente. Nunes, Mello (2005)

realizaram lesão por secção no nervo isquiático e perceberam que a atrofia no músculo sóleo foi evidente após o 3º dia de lesão e consideravelmente maior no 7º dia.

Muscatello, Margreth, Aloisi (1965) avaliaram o músculo semitendíneo de rãs, após lesão nervosa periférica por secção dos nervos isquiático e femoral e classificaram a atrofia em 3 fases. Na 1ª (fase de retardo), o músculo perdeu menos de 5% de massa e com a persistência da lesão a massa muscular diminuiu de 5 a 25%, iniciando a 2ª fase (1 a 3 meses após a lesão), na qual se pode observar redução das proteínas contráteis e aumento da concentração dos componentes estruturais do retículo sarcoplasmático. Finalmente, em uma fase mais avançada (atrofia degenerativa), houve redução da massa muscular, acima de 30%, associada com alterações no sarcoplasma. Esses autores relataram que os estágios iniciais da atrofia, no músculo semitendíneo de rãs, correspondem a um período de algumas horas ou dias, em mamíferos como os ratos. Já em humanos, a atrofia, proliferação de tecido conjuntivo e a substituição por tecido adiposo ocorrem mais lentamente (KERN et al., 2002).

A ausência do estímulo nervoso sobre os músculos lentos faz com que ocorra uma diminuição da isoforma da cadeia pesada de miosina, transformando-os em músculos rápidos (PETTE; STARON, 2001). Outras alterações como diminuição no número de sarcômeros (CEYLAN et al., 2014) e aumento da densidade do tecido conjuntivo (FERNANDES et al., 2005) também podem ocorrer como consequência de lesões nervosas periféricas.

Além das alterações morfológicas descritas, observam-se também modificações na excitabilidade muscular. A intensidade do estímulo elétrico e a duração do pulso necessária para produzir a contração tornam-se maiores (RUSSO et al., 2004).

Apesar de todos esses efeitos deletérios decorrentes da lesão nervosa, o músculo esquelético possui uma elevada capacidade de adaptação, a qual é atribuída às células satélites, que são mononucleadas, indiferenciadas e estão localizadas entre a lâmina basal e o sarcolema. Apesar de estarem normalmente quiescentes no adulto, podem-se tornar ativas em resposta a estímulos como lesão, crescimento ou remodelação (FOSCHINI; RAMALHO; BICAS, 2004).

O reparo muscular após a lesão é um processo de duas fases: degeneração e regeneração. Inicialmente são observados necrose de miofibrilas, destruição da integridade da fibra muscular e aumento dos níveis séricos de proteínas musculares. Também ocorre a ativação de células mononucleares, células inflamatórias e células miogênicas. Os neutrófilos são as primeiras células inflamatórias que invadem o músculo lesionado e após, aproximadamente 48 horas, os macrófagos predominam, migram para a área lesionada por meio da corrente sanguínea e são responsáveis pela fagocitose dos restos celulares (CHARGÉ; RUDNICKI, 2004; KARALAKI et al., 2009; TOUMI; F'GUYER; BEST, 2006).

A proliferação celular é extremamente importante e necessária para que ocorra a fase da regeneração muscular. Neste momento, as células satélites deixam seu estado quiescente, se dividem por mitose, diferenciam-se em mioblastos e migram para o local de lesão, onde podem se fundir para formar miotubos multinucleados ou fundem-se à célula muscular lesionada, que posteriormente se diferenciam (com o aumento do volume celular e migração dos núcleos para a periferia) formando a nova fibra muscular (CHARGÉ; RUDNICKI, 2004; JANG et al., 2011; KARALAKI et al., 2009; SOUZA et al., 2015).

A ativação das células satélites pode ser regulada por vários fatores, vias intrínsecas e extrínsecas, incluindo os fatores de regulação miogênica como: o fator de diferenciação miogênica (*MyoD*), fator miogênico 5 (*Myf5*), miogenina (*Myf-1*), entre outros. Esses fatores são uma superfamília de proteínas de transcrição hélice-alça-hélice básicos (*bHLH*), capazes de promover a proliferação celular e diferenciação do músculo esquelético durante a miogênese, bem como seus processos adaptativos no músculo adulto (AGUIAR; AGUIAR, 2009; SOUZA et al., 2015).

Além das células satélites, Wakayama (2007) observou que a AQP1 pode influenciar na capacidade regenerativa do músculo, visto que a mesma é utilizada para funcionar na migração das células, em diversos fenômenos biológicos, incluindo a angiogênese, a cura de feridas, regeneração de órgãos, propagação e crescimento de tumor (SAADOUN et al., 2005).

A AQP1 é uma proteína de canal de água, amplamente expressa em células endoteliais vasculares, que aumenta a permeabilidade à água da membrana celular

(SAADOUN et al., 2005; WAKAYAMA, 2010). AU et al., (2008) verificaram a presença de AQP1 na membrana muscular, bem como nas células endoteliais do endomísio e nos vasos sanguíneos.

3.5 Exercícios Físicos na Intervenção Fisioterapêutica

Após uma lesão nervosa periférica, a cinesioterapia tem lugar de destaque como método fisioterapêutico, sendo capaz de determinar um conjunto de adaptações estruturais e funcionais com o objetivo de prevenir a atrofia muscular e recuperar a motricidade e a sensibilidade das áreas comprometidas (JUNIOR et al., 2013; UDINA; PUIGDEMASA; NAVARRO, 2011).

Estudos realizados em animais demonstraram a eficácia do exercício físico na recuperação funcional (TANAKA; TSUBAKI; TACHINO, 2005; TEODORI et al., 2011), por proporcionar a restauração das propriedades contráteis e metabólicas do músculo (MARQUESTE et al., 2004), aumento no conteúdo de glicogênio e a organização tecidual (POSSEBON et al., 2001). No entanto, existem divergências na literatura em relação ao tipo de exercício mais eficaz, sua intensidade e qual a melhor fase para se iniciar (precoce ou tardia) (ARTIFON et al., 2013; DESCHENES; MARESH; KRAEMER, 1997; TANAKA; TSUBAKI; TACHINO, 2005).

Van Meeteren et al. (1997) apontam que a atividade física na fase ativa da lesão, aumenta o retorno da função sensório-motora e persiste na fase tardia da reinervação, ou seja, o exercício iniciado 24 horas após a lesão por compressão do nervo isquiático pode ser benéfico para o crescimento axonal, maturação das fibras regeneradas e recuperação das propriedades contráteis do músculo.

Marqueste et al. (2004) submeteram ratos, na fase precoce da reinervação, à eletroestimulação muscular (5 horas/dia) e ao exercício em esteira (1 hora e 50 minutos), 2 vezes(x)/dia, 5 dias/semana durante 10 semanas. Observaram que a eletroestimulação foi eficiente somente na manutenção do peso muscular e que o protocolo de exercício proposto foi capaz de aumentar a resistência à fadiga, restaurar as propriedades e a mecanossensibilidade do músculo.

Sobral et al. (2008) avaliaram a influência do exercício físico, na fase imediata e tardia da regeneração do nervo isquiático de ratos, após a axonotmese, utilizando como protocolo de treinamento corrida em esteira, com velocidade de 8

metros/minuto, sem inclinação, 30 minutos/dia, durante 14 dias. Os autores observaram, por meio do estudo morfométrico e funcional, que a prática do exercício físico proposto não influenciou no brotamento axonal, no grau de maturação das fibras nervosas regeneradas e nem na funcionalidade dos músculos reinervados.

Em relação ao período de reinervação muscular, Gorio et al. (1983), ao estudar o músculo extensor longo dos dedos, após lesão compressiva do nervo isquiático em ratos, observaram que nenhum axônio havia estabelecido contato na junção neuromuscular 10 dias após axonotmese, o que ocorria a partir da 2ª semana da lesão, quando observaram que 25% das fibras musculares estavam reinervadas por mais de um axônio (poli-inervação), alcançando o máximo entre 21 e 25 dias quando ocorreu a recuperação da atividade mecânica do músculo.

Considerando os dados disponíveis na literatura atual, não há um consenso a respeito do tipo, da intensidade e do momento mais adequado para iniciar o exercício físico após lesão nervosa periférica. Nesse sentido, este estudo analisou a influência do exercício físico resistido de subida em escada iniciado na fase precoce da lesão nervosa, na histomorfometria do músculo sóleo.

3.5.1 Exercício Resistido

O exercício resistido consiste em uma atividade voltada para o desenvolvimento de hipertrofia no músculo, através da aplicação de sobrecarga. É indicado para a manutenção da força e ganho de massa muscular (CASSILHAS et al., 2013; HORNBERGER; FARRAR, 2004).

Na literatura existem divergências em relação à sobrecarga imposta nos animais. Ilha et al. (2008) utilizaram 50 gramas (g) no início do tratamento e a cada semana foram adicionadas 50 g. Após 5 semanas de exercício, o total de sobrecarga aplicada em cada animal era de 250 g. Cassilhas et al. (2013) utilizaram 50% da massa corporal total do animal nas primeiras duas repetições. Em seguida, a sobrecarga era aumentada dependendo da série: 75% para a 3ª e 4ª, 90% para a 5ª e 6ª e de 100% para a 7ª e 8ª série.

Gaffuri et al. (2011) aplicaram um protocolo de exercício físico resistido de salto e natação em ratos (5x/semana) submetidos à compressão do nervo isquiático.

Os autores concluíram que o exercício não foi eficaz na redução do quadro álgico dos animais.

O exercício de subida em escada é utilizado como modelo de exercício resistido e, já foi estudado anteriormente com o objetivo de induzir a hipertrofia muscular de maneira semelhante à dos seres humanos (HORNBERGER; FARRAR, 2004), regeneração axonal (ILHA et al., 2008), reverter os efeitos deletérios da ovariectomia sobre o tecido ósseo (SHIGUEMOTO et al., 2012), verificar os efeitos sobre a epilepsia, (PEIXINHO-PENA et al., 2012), controlar os efeitos deletérios de uma dieta com elevado teor de gordura (SPERETTA et al., 2012) e indução de hipertrofia muscular em membros superiores (NASCIMENTO et al., 2013). Dessa maneira, considerando a falta de informações sobre a ação do exercício resistido de subida em escada sobre o músculo sóleo após a compressão do nervo isquiático se justifica o presente estudo.

4 REFERÊNCIAS

AGUIAR, A. F.; AGUIAR, D. H. Plasticidade muscular no exercício físico. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 17, n. 3.; p. 104-113, 2009.

ARABELA, C. **Tratamento e prevenção da ciática**. Acesso em: <<http://carmenarabelablog.wordpress.com/2013/12/12/tratamento-e-prevencao-da-ciatica>>. Acesso em: 14/06/2015.

AU, C. G.; BUTLER, T. L.; EGAN, J. R. C.; COOPER, S. T.; LO, H. P.; COMPTON, A. G.; NORTH, K. N.; WINLAW, D. S Changes in skeletal muscle expression of AQP1 and AQP4 in dystrophinopathy and dysferlinopathy patients. **Acta Neuropathologica**, v. 116, n. 3, p. 235–246, 2008.

ARTIFON, E. L.; SILVA, L. I.; RIBEIRO, L. F. C.; BRANCALHÃO, R. M. C.; BERTOLINI, G. R. F. Treinamento aeróbico prévio à compressão nervosa: análise da morfometria muscular de ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 19, n. 1, p. 66-69, 2013.

BACELAR, T. H. Utilização do músculo sóleo para perdas musculocutâneas de terço médio da perna. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 26, n. 2, p. 211-220, 2011.

BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

BOBINAC, D.; MALNAR-DRAGOJEVIC, D.; BAJEK, S.; SOIC-VRANIC, T.; JERKOVIC, R. Muscle fiber type composition and morphometric properties of denervated rat extensor digitorum longus muscle. **Croatian Medical Journal**, v. 41, n. 3, p. 294-297, 2000.

BRASIL, I. S. P. S.; PONDÉ, M. P. Sintomas ansiosos e depressivos e sua correlação com intensidade da dor em pacientes com neuropatia periférica, **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 31, n. 1, p. 24-31, 2009.

BRIDGE, P. M.; BALL, D. J.; MACKINNON, S. E.; NAKAO, Y.; BRANDT, K.; HUNTER, D. A.; HERTL, C. Nerve crush injuries – a model for axonotmesis. **Experimental Neurology**, v. 127, n. 2, p. 284-290, 1994.

BUCKINGHAM, M.; BAJARD, L.; CHANG, T.; DAUBAS, P.; HADCHOUEL, J.; MEILHAC, S.; MONTARRAS, D.; ROCANCOURT, D.; RELAIX, F. The formation of skeletal muscle: from somite to limb. **Journal of Anatomy**, v. 202, n. 1, p. 59-68, 2003.

BURNETT, M. G.; ZAGER, E. L. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. **Neurosurgical Focus**, v. 16, n. 5, p. 1-7, 2004.

CAIERÃO, Q. M.; BETINI, J.; TEODORI, R. M.; MINAMOTO, V. B. O efeito do intervalo da estimulação elétrica no músculo desnervado de rato. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 12, n. 2, p.143-148, 2008.

CÂMARA, C. N. S.; BRITO, M. V. H.; SILVEIRA, E. L.; SILVA, D. S. G.; SIMOES, V. R. F.; PONTES, R. W. F. Histological analysis of low-intensity laser therapy effects in peripheral nerve regeneration in Wistar rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 12-18, 2011.

CARLSON, B. M. The biology of long-term denervated skeletal muscle. **European Journal Translation Myology – Basic Applied Myology**, v. 24, n. 1, p. 5-11, 2014.

CARMIGNOTO, G.; FINESSO, M.; SILIPRANDI, R.; GORIO, A. Muscle reinnervation – I. Restoration of transmitter release mechanisms. **Neuroscience**, v. 8, n. 3, p. 393-401, 1983.

CASSILHAS, R. C.; REIS, I. T.; VENÂNCIO, D.; FERNANDES, J.; TUFIK, S.; MELLO, M. T. Animal model for progressive resistance exercise: a detailed description of model and its implications for basic research in exercise. **Motriz**, v. 19, n. 1, p. 178-184, 2013.

CAVALCANTE, E. V. V.; SILVA, L. G. M.; MONTENEGRO, E. J. N.; FILHO, N. T. P. Efeito da eletroestimulação no músculo desnervado de animais: revisão sistemática. **Fisioterapia em Movimento**, v. 25, n. 3, p. 699-678, 2012.

CEYLAN, O.; SEYFETTINOGLU, F.; DULGEROGLU, A. M.; AVCI, A.; BAYRAM, B.; BORA, O. A. Histomorphological comparison of immobilization and denervation atrophies. **Acta Orthopaedica and Traumatológica Túcica**, v. 48, n. 3, p. 320-325, 2014.

CHALK, C.H. Doenças do Sistema Nervoso Periférico. **ACP Medicine**. p. 1-20, 2008.
Acesso em:<http://www.medicinanet.com.br/m/conteudos/acpmedicine/5390/doencas_do_si

stema_nervoso_periferico_%E2%80%93colin_h_chalk.htm>. Acesso em: 26/06/2014.

CHARGÉ, S. B. P.; RUDNICKI, M. A. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. **Physiological Reviews**, v. 84, n. 1, p. 209-238, 2004.

CHENG, F. C.; SHEU, M. L.; SU, H. L.; CHEN, Y. J.; CHEN, C. J. CHIU, W. T.; SHEEHAN, J.; PAN, H. C. The effect of exercise on mobilization of hematopoietic progenitor cells involved in the repair of sciatic nerve crush injury. **Journal of Neurosurgery**, v. 118, n. 3, p. 594-605, 2013.

DE RUITER, G. C. W.; MALESSY, M. J. A.; ALAID, A. O.; SPINNER, R. J.; ENGELSTAD, J. K.; SORENSON, E. J.; KAUFMAN, K. R.; DYCK, P. J.; WINDEBANK, A. J. Misdirection of regenerating motor axons after nerve injury and repair in the rat sciatic nerve model. **Experimental Neurology**, v. 211, n. 2, p. 339-350, 2008.

DESCHENES, M. R.; MARESH, C. M.; KRAEMER, W. J. Exercise training of moderate intensity does not abate the effects of denervation on muscle morphology. **International Journal of Sports Medicine**, v. 18, n. 6, p. 426-430, 1997.

ESER, F.; AKTEKIN, L. A.; BODUR, H.; ATAN, C. Etiological factors of traumatic peripheral nerve injuries. **Neurology India**, v. 57, n. 4, p. 434-437, 2009.

FERNANDES, K. C. B. G.; POLACOW, M. L. O.; GUIRRO, R. R. J.; CAMPOS, G. E. R.; SOMAZZ, M. C.; PINTO, V. F.; FUENTES, C. B.; TEODORI, R. M. Análise morformétrica dos tecidos muscular e conjuntivo após desnervação e estimulação elétrica de baixa frequência. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 9, n. 2, p. 235-241, 2005.

FOSCHINI, R. M. S. A.; RAMALHO, F. S.; BICAS, H. E. A. Células satélites musculares. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 67, n. 4, p. 681-687, 2004.

GAFFURI, J.; MEIRELES, A.; ROCHA, B. P.; ROSA, C. T.; ARTIFON, E. L.; SILVA, L. I.; MOREIRA, N. B.; BERTOLINI, G. R. F. Avaliação do exercício físico como fator de analgesia em um modelo experimental de ciatalgia. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17, n. 2, p. 115-118, 2011.

GEUNA, S. The sciatic nerve injury model in pre-clinical research. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 243, p. 39-46, 2015.

GORIO, A.; CARMIGNOTTO, G.; FINESSO, M.; POLATO, P.; NUNZI, M. G. Muscle reinnervation – II. Sprouting, synapse formation and repression. **Neuroscience**, v. 8, n. 3, p. 403-416, 1983.

HAWLEY, J. A. Adaptations of skeletal muscle to prolonged, intense endurance training. **Clinical Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 29, n. 3, p. 218-222, 2002.

HORNBERGER, T. A. J.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 29, n. 1, p. 16-31, 2004.

ILHA, J.; ARAUJO, R. T.; MALYSZ, T.; HERMEL, E. E.; RIGON, P.; XAVIER, L. L.; ACHAVAL, M. 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.

IMAMURA, S. T.; IMAMURA, M.; HIROSE-PASTOR, E. Efeitos do envelhecimento e do exercício físico sobre o colágeno do músculo esquelético humano. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 39, n. 1, p. 35-40, 1999.

ISAACS, J. Treatment of acute peripheral nerve injuries: Current Concepts. **Journal of Hand Surgery**, v. 35, n. 3, p. 491-497, 2010.

JANG, Y. C.; SINHA, M. CERLETTI, M.; DALL’OSSO, C.; WAGERS, A. J. Skeletal muscle stem cells: effects of aging and metabolismo on muscle regenerative function. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, v.76, p. 101-111, 2011.

JUNIOR, G. M. R.; BUENO, C. R. S.; HEUBEL, A.; BORTOLUCI, C. H. F.; SIMIONATO, L. H.; DARÉ, L. R.; SILVA, M. P.; DIAS, D. V. Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. **Salusvita**, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KARALAKI, M.; FILI, S.; PHILIPPOU, A.; KOUTSILIERIS, M. Muscle Regeneration: Cellular and Molecular Events. **In vivo**, v. 23, n. 5, p. 779-796, 2009.

KERN, H.; HOFER, C.; MODLIN, M.; FORSTNER, C.; RASCHKA-HOGLER, D.; MAYR, W.; STOHR, W. Denervated muscle in humans: limitations and problems of currently used functional electrical stimulation training protocols. **Artificial Organs**, v. 26, n. 3, p. 216-218, 2002.

KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e Biologia Celular: uma introdução à patologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

KITCHEN, P.; DAY, R. E.; SALMAN, M. M.; CONNER, M. T.; BILL, R. M.; CONNER, A. C. Beyond water homeostasis: diverse functional roles of mammalian aquaporins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1850, n. 12, p. 2410-2421, 2015.

KOBAYASHI, S.; YOSHIZAWA, H.; YAMADA, S. Pathology of lumbar nerve root compression. Part 2: morphological and immunohistochemical changes of dorsal root ganglion. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 22, n. 1, p.180-188, 2004.

KOUYOUMDJIAN, J. A. Peripheral nerve injuries: a retrospective survey of 456 cases. **Muscle and Nerve**, v. 34, n. 6, p. 785-788, 2006.

LAI, N.; LADE, J.; LEGGETT, K.; YUN, X.; BAKSH, S.; CHAU, E.; CROW, M.T.; SIDHAYE, V.; WANG, J.; SHIMODA, L. A. The Aquaporin 1 C-Terminal Tail Is Required for Migration and Growth of Pulmonary Arterial Myocytes. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 50, n. 6, p. 1010-1020, 2014.

LI, R.; LIU, Z.; PAN, Y.; CHEN, L.; ZHANG, Z.; LU, L. Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 68, n. 3, p. 449-454, 2014.

LIEBER, R. L. **Skeletal muscle structure, function & plasticity: the physiological basis of rehabilitation**. 2 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002.

MARQUESTE, T.; ALLIEZ, J. R.; ALLUIN, O.; JAMMES, Y.; DECHERCHI, P. 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.

MARTINS, R. S.; BASTOS, D.; SIQUEIRA, M. G.; HEISE, C. O.; TEIXEIRA, M. J. Traumatic injuries of peripheral nerves: a review with emphasis on surgical indication. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 71, n. 10, p. 811-814, 2013.

MONTE-RASO, V. V.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N.; FAZAN, V. P. S. Os efeitos do ultra-som terapêutico nas lesões por esmagamento do nervo ciático de ratos: análise funcional da marcha. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 10, n. 1, p. 113-119, 2006.

MOORE, K. L.; DALLEY, A. F. **Anatomia Orientada para a Clínica**. 5 ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2007.

MUSCATELLO, U.; MARGRETH, A.; ALOISI, M. On the differential response of sarcoplasm and myoplasm to denervation in frog muscle. **The Journal of Cell Biology**, v. 27, n. 1, p. 1-24, 1965.

NASCIMENTO, V.; KRAUSE NETO, W.; GONÇALVES, L.; MAIFRINO, L. B. M.; SOUZA, R. R.; GAMA, E. F. Morphoquantitative analysis revealed triceps brachialis muscle hypertrophy by specific resistance training equipment in rats. **Journal of Morphological Science**, v. 30, n. 4, p. 276-280, 2013.

NAVARRO, X. Chapter 27: Neural plasticity after nerve injury and regeneration. **International Review of Neurobiology**, v. 87, p. 483-505, 2009.

NAVARRO, X.; VIVÓ, M.; VALERO-CABRÉ, A. Neural plasticity after peripheral nerve injury and regeneration. **Progress in Neurobiology**, v. 82, n. 4, p. 163–201, 2007.

NELSON, R. M.; HAYES, K. W.; CURRIER, D. P. **Eletroterapia clínica**. 3 ed. São Paulo: Manole, 2003.

NUNES, W. M. S.; MELLO, M. A. R. Glucose metabolism in rats submitted to skeletal muscle denervation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 4, p. 541-548, 2005.

OLIVEIRA, L. S.; SOBRAL, L. L.; TAKEDA, S. Y. M.; BETINI, J.; GUIRRO, R. R. J.; SOMAZZ, M. C.; TEODORI, R. M. Estimulación eléctrica y natación en la fase aguda de la axonotmesis: influencia sobre la regeneración nerviosa y la recuperación funcional. **Revista de Neurologia**, v. 47, n. 1, p. 11-15, 2008.

OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. **Netter – Bases da Histologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

PEIXINHO-PENA, L. F.; FERNANDES, J.; ALMEIDA, A. A.; NOVAES GOMES, F. G.; CASSILHAS, R.; VENANCIO, D. P.; MELLO, M. T.; SCORZA, F. A.; CAVALHEIRO, E. A.; ARIDA, R. M. A strength exercise program in rats with epilepsy is protective against seizures. **Epilepsy and Behavior**, v. 25, n. 3, p. 323-328, 2012.

PEREIRA-LOPES, F. R.; MARTIN, P. K.; FRATTINI, F.; BIANCALANA, A.; ALMEIDA, F. M.; TOMAZ, M. A.; MELO, P. A.; BOROJEVIC, R.; HAN, S. W.; MARTINEZ, A. M. B. Double gene therapy with granulocyte colony-stimulating factor and vascular endothelial growth factor acts synergistically to improve nerve regeneration and functional outcome after sciatic nerve injury in mice. **Neuroscience**, v. 230, p. 184-197, 2013.

PETRELLA, J. K.; KIM, J. S.; MAYHEW, D. L.; CROSS, J. M.; BAMMAN, M. Potent myofiber hypertrophy during training in human is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. **Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 6, p. 1736-1742, 2008.

PETTE, D.; STARON, R. S. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 115, n. 5, p. 359-372, 2001.

PIOVESAN, R. F.; MARTINS, M. D.; FERNANDES, K. P. S.; BUSSADORI, S. K.; ARAÚJO, H. S. S.; FERRARI, R. A. M. Uma revisão sobre a plasticidade do músculo esquelético: expressão de isoformas de cadeia pesada de miosina e correlação funcional. **Fisioterapia em Movimento**, v. 22, n. 2, p. 211-220, 2009.

POSSAMAI, F.; SIEPKO, C. M.; ANDRÉ, E. S. Investigação dos efeitos do exercício terapêutico sobre a regeneração nervosa periférica. **Acta Fisiátrica**, v. 17, n. 4, p. 142-147, 2010.

POSSEBON, S.; IORCZESKI, R.; GIACOMINI, A. C.; GIACOMINI, F. L.; HASS V. R. Efeitos do treinamento físico e da creatina magnésio em músculos desnervados de ratos. **Revista Médica**, v. 13, n. 29, p. 16–21, 2001.

ROBINSON, A. J.; SNYDER-MACKLER, L. **Eletrofisiologia clínica: eletroterapia e teste eletrofisiológico**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2001.

RODRÍGUEZ, F. J.; VALERO-CABRÉ, A.; NAVARRO, X. Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. **Drug Discovery Today: Disease Models**, v. 1, n. 2, p. 177-185, 2004.

RUSSO, T. L.; FRANÇA, C. N.; CASTRO, C. E. S.; SALVINI, T. F. Alterações da cronaxia, da reobase e da acomodação no músculo esquelético desnervado submetido à eletroestimulação. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 8, n. 2, p. 169-175, 2004.

SAADOUN, S.; PAPADOPOULOS, M. C.; HARA-CHIKUMA, M.; VERKMAN, A. S. Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin-1 gene disruption. **Nature**, v. 434, p. 786–92, 2005.

SAKAKIMA, H.; YOSHIDA, Y. Effects of short duration static stretching on the denervated and reinnervated soleus muscle morphology in the rat. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 84, n. 9, p. 1339-1342, 2003.

SHIGUEMOTO, G. E.; PRESTES, J.; LEITE, R. D.; PEREIRA, G. B.; PONTES, C. L.; D'ÁVILA, F. V.; BOTERO, J. P.; BALDISSERA, V.; NONAKA, K. O.; SELISTRE DE-ARAUJO, H. S.; PEREZ, S.E. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 22, n. 5, p. 607-617, 2012.

SCHMALBRUCH, H. Fiber composition of the rat sciatic nerve. **Anatomical Record**, v. 215, n. 1, p. 71-81, 1986.

SEBBEN, A. D.; COCOLICHIO, F.; SCHMITT, A. P. V.; CURRA, M. D.; SILVA, P. V.; TRES, G. L.; SILVA, J. B. Efeitos de fatores neurotróficos sobre o reparo de nervo periférico. **Scientia Medica**, v. 21, n. 2, p. 81-89, 2011.

SEDDON, H. J. Three types of nerve injury. **Brain A Journal of neurology**, v. 66, n. 4, p. 237-288, 1943.

SILVA, A.; ARAÚJO, D.; SILVA, I.; LEIDE, S. **Anatomia: Sistema muscular**. Acesso em: <http://anatomiaunieuro.blogspot.com.br/2013_09_01_archive.html>. Acesso em: 14/04/2015.

SILVA-COUTO, M. A.; GIGO-BENATO, D.; TIM, C. R.; PARIZOTTO, N. A.; SALVINI, T. F.; RUSSO, T. L. Effects of low-level laser therapy after nerve reconstruction in rat denervated soleus muscle adaptation. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 16, n. 4, p. 320-327, 2012.

SILVA, M. D. P.; CARVALHO, R. F. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 21-31, 2007.

SÓ BIOLOGIA. **Tecido muscular esquelético** Acesso em: <
<http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Histologia/epitelio22.php> >. Acesso em:
19/09/2015.

SOBRAL, L. L.; OLIVEIRA, L. S.; TAKEDA, S. Y. M.; SOMAZZ, M. C.; MONTEBELO, M. I. L.; TEODORI, R. M. Exercício imediato versus tardio na regeneração do nervo isquiático de ratos após axoniotmese: análise histomorfométrica e funcional. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 12, n. 4, p. 311-316, 2008.

SOUZA, D. K.; OLIVEIRA, J. R.; RODRIGUES, H.; COTA, N. B.; CARVALHO, M. M.; PRESTES, J.; DURIGAN, J. L. Q.; PEREIRA, E. C. L. Regulação e ativação das células satélites durante a regeneração muscular. **Revista Brasileira de Ciências e Movimento**, v. 23, n. 3, p. 170-180, 2015.

SPERETTA, G. F. F.; ROSANTE, M. C.; DUARTE, F. O.; LEITE, R. D.; LINO, A. D. S.; ANDRE, R. A.; SILVESTRE, J. G. O.; ARAUJO, H. S. S.; DUARTE, A. C. G. O. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. **Clinics**, v. 67, n. 12, p. 1469-1477, 2012.

SUNDERLAND, S. **Nerves and nerve injuries**. 2. ed. London: Churchill Livingstone, 1978.

TANAKA, S.; TSUBAKI, A.; TACHINO, K. Effect of exercise training after partial denervation in rat soleus muscles. **Journal of Physical Therapy Science**, v. 17, n. 2, p. 97-101, 2005.

TEODORI, R. M.; BETINI, J.; OLIVEIRA, L. S.; SOBRAL, L. L.; TAKEDA, S. Y. M.; MONTEBELO, M. I. L. Swimming exercise in the acute or late phase after sciatic nerve crush accelerates nerve regeneration. **Neural Plasticity**, Published online 2011, doi:10.1155/2011/783901. Acesso em:
<<http://www.hindawi.com/journals/np/2011/783901/>>. Acesso em 25/05/2014.

TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. **Corpo humano: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

TOUMI, H.; F'GUYER, S.; BEST, T. M. The role of neutrophils in injury and repair following muscle stretch. **Journal of Anatomy**, v. 208, n. 4, p. 459-470, 2006.

UDINA, E.; PUIGDEMASA, A.; NAVARRO, X. Passive and active exercise improve regeneration and muscle reinnervation after peripheral nerve injury in the rat. **Muscle Nerve**, v. 43, n. 4, p. 500-509, 2011.

VAN MEETEREN, N. L. U.; BRAKKEE, J. H.; HAMERS, F. P. T.; HELDERS, P. J. M.; GISPEN, W. H. Exercise training improves functional recovery and motor nerve conduction velocity after sciatic nerve crush lesion in the rat. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 78, n. 1, p. 70–77, 1997.

WAGATSUMA, A.; TAMAKI, H.; OGITA, F. Capillary supply and gene expression of angiogenesis-related factors in murine skeletal muscle following denervation. **Experimental Physiology**, v. 90, n. 3, p. 403-409, 2005.

WAKAYAMA, Y. Skeletal muscle regeneration may be enhanced by overexpression of aquaporin 1 in intramuscular capillary endothelial cells. **Medical Hypotheses**, v. 68, p. 856-859, 2007.

WAKAYAMA, Y. Aquaporin expression in normal and pathological skeletal muscles: a brief review with focus on AQP4. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 10, p. 1-9, 2010.

WATSON, N. C.; JEJURIKAR, S. S.; KALLIAINEN, L. K.; CALDERON, M. S.; URBANCHEK, M. G.; EGUCHI, T.; KUZON, W. M. Range of motion physiotherapy reduces the force deficit in antagonists to denervated rat muscles. **Journal of Surgical Research**, v. 99, n. 1, p. 156-160, 2001.

YUEN, E. C.; SO, Y. T. Sciatic Neuropathy. **Neurologic Clinics**, v. 17, n. 3, p. 617-631, 1999.

ZHANG, H.; VERKMAN, A. S. Aquaporin-1 water permeability as a novel determinant of axonal regeneration in dorsal root ganglion neurons. **Experimental Neurology**, v. 265, p. 152-159, 2015.

5 ARTIGO CIENTÍFICO:**EXERCÍCIO RESISTIDO ACELERA A RECUPERAÇÃO E ALTERA A
EXPRESSÃO DA AQP1 NO MÚSCULO SÓLEO DESNERVADO DE RATOS
WISTAR**

Que será submetido para a revista Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports.

[http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1600-0838/earlyview](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1600-0838/earlyview)

² Normas da Revista no anexo B.

Exercício resistido acelera a recuperação e altera a expressão da AQP1 no músculo sóleo desnervado de ratos Wistar

Resistance exercise speeds recovery and alters the expression of AQP1 in denervated soleus muscle of Wistar rats

Keli Lovison¹, Lizyana Vieira², Regina Inês Kunz³, Suellen Ribeiro da Silva Scarton⁴, Gladson Ricardo Flor Bertolini⁵, Rose Meire Costa Brancalhão⁶, Célia Cristina Leme Beu⁷, Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro⁸

¹. Fisioterapeuta, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil, e-mail: keli.lovison@hotmail.com

². Fisioterapeuta, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil, e-mail: lizyana@gmail.com

³. Fisioterapeuta, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brasil, e-mail: regina_kunz@hotmail.com

⁴. Biomédica, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil, e-mail: su-ellen@hotmail.com

⁵. Docente do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil, e-mail: gladson_ricardo@yahoo.com.br

⁶. Docente do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil, e-mail: rosecb@gmail.com

⁷. Docente do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil, e-mail: celiabeu@yahoo.com

⁸. Docente do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil, e-mail: lucineia.cr@gmail.com

Autor correspondente:

Keli Lovison

Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional, Mestrado em Biociências e Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE),

Rua Universitária, nº 2069 – CEP 85819-110 – Telefone: (45) 3220-7405 Fax: (45) 3220-3132, Cascavel –Paraná - E-mail: keli.lovison@hotmail.com

Resumo:

Introdução: Lesões dos nervos periféricos resultam na interrupção da transmissão de impulsos nervosos, com diminuição ou perda da sensibilidade e motricidade no território inervado, afetando diretamente o tecido muscular e a mobilidade do indivíduo. Exercícios físicos podem auxiliar na manutenção das propriedades musculares e na recuperação funcional. **Objetivo:** Analisar os efeitos do exercício resistido de subida em escada iniciado na fase aguda, na histomorfometria e na expressão de aquaporina 1 (AQP1) no músculo sóleo, após lesão do nervo isquiático de ratos Wistar. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 24 ratos adultos divididos aleatoriamente em 4 grupos, com 6 animais cada : controle, exercício, lesão e lesão com exercício. Três dias após a compressão do nervo isquiático, os grupos exercício e lesão com exercício, foram submetidos ao exercício resistido durante 21 dias. Após este período, os animais foram eutanasiados e o músculo sóleo processado. **Resultados:** O grupo exercício apresentou maior área de secção transversa quando comparado com os demais grupos. O número de capilares sanguíneos no grupo lesão foi maior, quando comparado com os grupos exercício e lesão com exercício. A análise morfológica revelou que no grupo exercício ocorreu hipertrofia, no grupo lesão foi evidente dano muscular e, no grupo lesão com exercício foi verificado melhora significativa no músculo. A AQP1 foi imunolocalizada no endotélio dos capilares sanguíneos presentes nas fibras musculares com diferenças da expressão nos grupos. **Conclusão:** O exercício resistido iniciado na fase aguda foi uma modalidade terapêutica eficaz na recuperação de aspectos morfológicos no músculo sóleo após a desnervação.

Palavras-chave: Nervos periféricos, Músculo esquelético, Aquaporina, Reabilitação, Lesões.

Abstract

Introduction: Peripheral nerve injuries result in the interruption of the transmission of nerve impulses, with a decrease or loss of sensation and motor function in the innervated area, which directly affects muscle tissue and mobility. Physical exercise can help to maintain muscle properties and aid functional recovery. **Objective:** To analyze the effects of resistance exercise (climbing steps), which was started in the acute phase, on the histomorphometry and the expression of aquaporin 1 (AQP1) in the soleus muscle after sciatic nerve injury in Wistar rats. **Materials and Methods:** Twenty-four adult rats were randomly divided into the following four groups, which each contained six animals: control; exercise; lesion; and exercise with lesion. Three days after the compression of the sciatic nerve, the animals in the exercise group and the exercise with lesion group were submitted to resistance exercise for 21 days. After this period, the animals were sacrificed and the soleus muscle was processed. **Results:** The exercise group showed a larger cross-sectional area compared to the other groups. The number of blood capillaries in the lesion group was higher compared with the exercise group and the exercise with lesion group. The morphological analysis revealed that hypertrophy occurred in the exercise group. There was obvious muscle damage in the lesion group, and significant improvement in the muscle was observed in the lesion and exercise group. The AQP1 was immunolocalized in the endothelium of blood capillaries present in the muscle fibers, with different expressions in the groups. **Conclusion:** Resistance exercise initiated in the acute phase was an effective therapeutic modality in the recovery of morphological aspects in the soleus muscle after denervation.

Keywords: peripheral nerves, skeletal muscle, aquaporin, rehabilitation, lesions.

Introdução

Anualmente, em países desenvolvidos a incidência de lesões nervosas periféricas é estimada entre 13 a 23 casos a cada 100.000 habitantes (Li et., 2014), acometendo principalmente a população economicamente ativa e provocando um grande impacto sobre o indivíduo, seus familiares e na sociedade como um todo (Sebben et al., 2011).

No estudo das lesões nervosas periféricas, o isquiático é o mais utilizado devido as suas características morfológicas, fácil acesso cirúrgico e por possuir dados prévios para comparação (Geuna, 2015). Sua lesão é caracterizada por dor ao longo do trajeto do nervo ou ciatalgia, lombalgia, distúrbios sensoriais e fraqueza dos músculos do membro inferior (Kobayashi; Yoshizawa; Yamada, 2004), tais como o músculo sóleo, extremamente importante na postura bípede e na deambulação (Moore; Dalley, 2007).

A interrupção da comunicação neuromuscular causa alterações que levam a incapacidades funcionais, pois pode resultar em diminuição da área de secção transversa das fibras musculares (Junior et al., 2013), atrofia (Silva-Couto et al., 2012), aumento na densidade capilar (Wagatsuma; Tanaka, Ogita, 2005) e aumento do tecido conjuntivo intramuscular (Caierão et al., 2008).

Embora os nervos possuam capacidade intrínseca de se recuperar após a lesão, a regeneração dos tecidos afetados continua sendo um problema clínico importante (Cheng et al., 2013). Dentre os programas de reabilitação, estão os exercícios físicos resistidos que consistem em uma atividade voltada para o restabelecimento das funções musculares, através da aplicação de sobrecarga (Cassilhas et al., 2013). Neste sentido, estudos vêm mostrando os benefícios dos exercícios físicos na regeneração muscular, como na prevenção da atrofia e no restabelecimento das propriedades contráteis e metabólicas do músculo (Marqueste et al., 2004; Tanaka; Tsubaki; Tachino, 2005).

No entanto, seus efeitos no músculo sóleo, após lesão compressiva do nervo isquiático são um aspecto muito discutido, especialmente em relação ao tipo de exercício, sua intensidade e ao melhor período para ser iniciado (Tanaka; Tsubaki; Tachino, 2005).

As aquaporinas (AQPs) são proteínas de membrana que, inicialmente, quando descobertas e identificadas, foram consideradas funcionalmente como proteínas facilitadoras de processos fisiológicos, através do transporte passivo, bidirecional de água. Atualmente, sabe-se que esta função está longe de tudo o que estas proteínas fazem, pois as AQPs devem

mediar à transdução de sinal e podem ter implicações em vários de processos fisiológicos e condições fisiopatológicas (Kitchen et al, 2015), entre elas a AQP1. Esta aquaporina foi apontada como possível determinante da regeneração axonal de neurônios dos gânglios da raiz dorsal (Zhang; Verkman, 2015); também foi demonstrado que a modulação da expressão desta AQP alterou a capacidade migratória e proliferativa de células musculares de artérias pulmonares (Lai et al., 2014).

Considerando as divergências, a alta incidência de lesões nervosas periféricas e seus efeitos sobre a musculatura estriada esquelética, bem como os potenciais benefícios do exercício resistido, justifica-se a necessidade do presente estudo. Dessa forma, os objetivos foram analisar os efeitos do exercício físico resistido do tipo subida em escada iniciado na fase aguda, na histomorfometria e na expressão de AQP1 no músculo sóleo, após lesão compressiva do nervo isquiático de ratos Wistar.

Materiais

Caracterização da amostra

Foram utilizados 24 ratos da linhagem Wistar, com peso aproximado de 350-400g, mantidos em fotoperíodo claro-escuro de 12 horas, com controle de higiene e temperatura, e água e ração fornecidos *ad libitum*. Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais, com 6 ratos em cada grupo, sendo: controle, exercício, lesão e lesão com exercício. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de animais (CEUA) da UNIOESTE.

Protocolo experimental de compressão isquiática

Para o modelo experimental da axonotmese no nervo isquiático, os animais dos grupos lesão e lesão com exercício foram pesados e anestesiados previamente com injeção intraperitoneal de quetamina (95 mg/Kg) e xilazina (12 mg/Kg). Após a verificação do estado de consciência do animal (observado pela ausência de resposta motora ao pinçamento da cauda e pregas interdigitais), o mesmo foi posicionado em decúbito ventral, mantendo os membros escapulares e pélvicos em abdução. Foi realizada a tricotomia no terço médio da

coxa direita e assepsia do local com polivinilpirrolidona-iodo (*Povidine*[®]) e, em seguida, realizada uma incisão, paralela às fibras do músculo bíceps femoral, expondo o nervo isquiático, com subsequente compressão do mesmo, com uso de pinça hemostática, por um período de 30 segundos. A pressão gerada foi padronizada pelo fechamento da pinça no 2º dente da cremalheira e realizada sempre pelo mesmo pesquisador, a fim de minimizar variações no procedimento (Câmara et al., 2011).

Após o pinçamento, o nervo foi realocado, realizada sutura cutânea com pontos simples, utilizando fio de nylon monofilamento, aplicado polivinilpirrolidona-iodo (*Povidine*[®]) sobre a incisão e então, os animais foram alojados nas mesmas condições pré-cirúrgicas.

Protocolo de exercício

O protocolo de exercício resistido foi adaptado de Hornberger e Farrar (Hornberger; Farrar, 2004). Para tanto, foi utilizada uma escada vertical, feita de madeira com 67 degraus de ferro, com espaçamento de 1 cm entre cada degrau, com altura de 118 cm, 20,5 cm de largura e mantida em inclinação de aproximadamente 60°. Na parte superior da escada foi acoplada uma gaiola, com uma altura de 18,5 cm e 15 cm de largura que serviu como abrigo durante o período de descanso entre as séries.

Antes da cirurgia de compressão do nervo isquiático, todos os animais foram submetidos a um protocolo de familiarização com a escada vertical (Shigemoto et al., 2012). O treinamento consistiu em 3 ensaios por dia, 5 dias por semana durante duas semanas e nenhum tipo de estímulo doloroso foi utilizado. Na 2ª semana de treinamento foi adicionada uma sobrecarga de 100g, que foi presa na porção proximal da cauda do animal.

No 3º dia do pós-operatório (PO), os animais dos grupos exercício e lesão com exercício foram submetidos ao exercício resistido de subida em escada durante 5 dias por semana, com intervalo de 2 dias, totalizando 21 dias de tratamento. O exercício foi realizado em 2 séries de 10 subidas consecutivas na escada, com a sobrecarga de 100g, e com um intervalo de 60 segundos entre as séries para descanso.

Coleta do músculo sóleo e análises morfológicas e morfométricas

Vinte quatro horas após as sessões de tratamento, todos os animais foram pesados, anestesiados com quetamina (95 mg/Kg) e xilazina (12 mg/Kg), eutanasiados em guilhotina e o músculo sóleo direito foi dissecado, colocado em superfície plana para a mensuração do comprimento muscular com paquímetro digital (*Digimess*[®] - São Paulo/Brasil) e, dividido longitudinalmente em duas partes iguais, sendo a metade medial processada para análise histológica de rotina e a lateral destinada para a contagem do número de sarcômeros.

Para a confecção das lâminas, os músculos sóleos foram fixados em methacarn (70% de metanol, 20% de clorofórmio, 10% de ácido acético glacial) por 24 horas e armazenados em álcool 70%. Em seguida, passaram por um processo de desidratação em série crescente alcóolica, diafanização em xilol e inclusão em parafina. Os cortes transversais de 7 µm de espessura foram obtidos em micrótomo (CUT 4055 *Olympus*[®], Mainz, Alemanha) e corados com Hematoxilina e Eosina (HE) para análise geral do tecido muscular e com Tricrômico de Mallory (TM) para análise do tecido conjuntivo.

Foram realizadas as seguintes mensurações: área de secção transversa, menor diâmetro da fibra muscular, densidade do tecido conjuntivo, contagem do número de fibras e de capilares sanguíneos, assim como para a avaliação da morfologia das fibras musculares.

As lâminas obtidas foram analisadas em microscópio de luz (BX60 *Olympus*[®], Tóquio, Japão) e para a mensuração da área de secção transversa e menor diâmetro da fibra muscular foram obtidas aleatoriamente 10 imagens na objetiva de 40x, sendo que em cada imagem foram mensuradas 10 fibras pelo programa *Image-Pro-Plus 6.0* (*Media Cybernetics*[®], Silver Spring, USA), totalizando 100 mensurações por animal.

Para determinar a densidade do tecido conjuntivo, número de fibras e capilares sanguíneos foram obtidas aleatoriamente 10 imagens na objetiva de 40x e realizado as 10 mensurações por animal.

Na análise da densidade do tecido conjuntivo do endomísio e perimísio foi utilizado o programa *GIMP* (GNU Programa de Manipulação de Imagens) 2.0 (*GNU General Public License*[®], Berkeley, Califórnia). A área relativa do tecido conjuntivo (densidade da área) foi calculada dividindo o total de *pixels* da fotomicrografia pelo total de *pixels* da marcação do tecido conjuntivo.

As fibras musculares e os capilares sanguíneos presentes na fotomicrografia foram morfológicamente identificados, marcados e contabilizados. Para calcular a razão capilar por fibra, foi realizada a divisão do numero total de capilares pelo numero total de fibras

musculares presentes no mesmo campo visual. Para evitar erro de amostragem foram excluídas as fibras e os capilares sanguíneos projetados sobre as bordas superior e direita.

Para a contagem do número de sarcômeros, os músculos sóleos foram fixados em formol 10% por 3 horas, passados para o ácido nítrico 30% por 72 horas, visando à quebra do tecido conjuntivo e armazenados em solução de glicerol (50%). Após esse procedimento, foram colocados em uma placa de Petri e, com o auxílio de microscópio estereoscópico (Sz40 Olympus®, Tóquio, Japão) foram isoladas 9 fibras, com uso de pinças com pontas ultrafinas, que foram montadas em lâminas histológicas.

A análise do número de sarcômeros foi realizada em microscópio de luz (BX60 Olympus®, Tóquio, Japão) na objetiva de 40x. Nesse aumento, as imagens das fibras musculares longitudinais, foram captadas para posterior análise no programa *Image-Pro-Plus* 6.0 (*Media Cybernetics*®, Silver Spring, USA), onde foram contados os sarcômeros ao longo de 50 µm, em 6 campos não consecutivos, totalizando 300 µm. O cálculo de regra de 3 simples foi utilizado para estimar o total de sarcômeros em série no comprimento total do músculo.

Para a imunolocalização da aquaporina 1 (AQP1) foram realizadas secções histológicas de 5 µm submetidas à recuperação antigênica, em tampão citrato de sódio em microondas (3x de 5 minutos). Para evitar reações inespecíficas, realizou-se o bloqueio da peroxidase endógena em solução peróxido de hidrogênio 3% em metanol (15 minutos) ao abrigo de luz e, em seguida, as lâminas foram lavadas com *phosphate-buffered saline* (PBS) e incubadas com leite em pó 3% por uma hora.

Após, foram incubadas *overnight* em câmara úmida com os anticorpos primários anti-AQP1 (1:80, *rabbit*, *Anti-aquaporin1*, *Millipore Inc*, Temecula, CA, USA) e em seguidas lavadas em PBS. A incubação foi feita com anticorpo secundário (1:100, *goat anti-rabbit IgG peroxidase*, *Sigma*, St. Louis, MO, USA) por uma hora, seguida de lavagem em PBS para posterior revelação com diaminobenzidina (DAB) (aproximadamente 40 segundos). As secções foram contrainformadas com HE e, as imagens capturadas em microscópio de luz (BX60 Olympus®, Tóquio, Japão) e digitalizadas para análise no programa *Image Pró-Plus* 6.0 (*Media Cybernetics*®, Silver Spring, USA).

Análise Estatística

Os dados referentes aos efeitos do exercício resistido de subida em escada na lesão nervosa periférica sobre o músculo sóleo, foram analisados com auxílio do programa *GraphPad Prism 6.0* e apresentados como média, desvio-padrão. Para dados com distribuição normal foi utilizado ANOVA (*Analysis of Variance*) *one-way*, com pós-teste de *Tukey* e, para dados não paramétricos, foi aplicado o teste de *Kruskall-Wallis* com pós-teste de *Dunn's*. Para todas as análises foi considerado estatisticamente significativo $p < 0,05$.

Resultados

Análises histomorfométricas do músculo sóleo

As análises histomorfométricas do músculo sóleo em relação à área de secção transversa, menor diâmetro e densidade do tecido conjuntivo do endomísio e perimísio são apresentadas na Tabela 1.

O total de capilares sanguíneos, fibras musculares e a razão capilar/fibra do músculo sóleo são apresentados na Tabela 2.

As análises do músculo sóleo referentes ao comprimento muscular, estimativa do número de sarcômeros ao longo do músculo e em 300 μm , bem como o comprimento do sarcômero são apresentadas na Tabela 3.

Análise morfológica e imunohistoquímica do músculo sóleo

No grupo controle, o músculo sóleo apresentou morfologia normal, com fibras musculares poligonais de ângulos arredondados e contorno regular, mionúcleos na periferia, em posição subsarcolemal, arranjo fascicular com tecido conjuntivo frouxo no endomísio e no perimísio (Figura 1A). No grupo exercício, a maioria das fibras se apresentava hipertrofiada quando comparadas aos outros grupos, porém mantendo o formato poligonal e padrão fascicular, com os núcleos localizados na periferia, preservando assim, a estrutura e a organização muscular (Figura 1B).

Já no grupo lesão, o sóleo mostrou sinais de dano muscular decorrentes da desnervação. As fibras se apresentaram desorganizadas com contorno irregulares, núcleos

centralizados, muitos dos quais apresentaram um halo circundante e mioblastos no local da lesão (Figura 1C). Sinais de degeneração também foram verificados no citoplasma pela perda da organização das miofibrilas (Figura 1D) e mioblastos enfileirados foram visualizados na periferia celular (Figura 1E). Ainda, foi possível verificar aumento na quantidade de capilares sanguíneos nos animais deste grupo, com intensa neoformação vascular (Figura 1E), confirmado pelos achados morfométricos.

No grupo lesão tratado com o exercício resistido de subida em escada foi verificado melhora nos aspectos morfológicos, havendo a regeneração da maioria das fibras musculares, cujas características foram semelhantes ao controle (Figura 1F). No entanto, ainda foram verificadas algumas fibras com núcleos centrais e contornos irregulares.

Em relação à organização estrutural e a densidade do tecido conjuntivo do endomísio e do perimísio, não houve diferenças morfológicas entre os grupos, sendo que todos se apresentavam com arranjos típicos e organizados, alinhamento das fibras e sem alterações (Figura 2).

A AQP1 foi imunolocalizada no endotélio dos capilares sanguíneos presentes nas fibras musculares de todos os grupos, sendo que as reatividades foram: média a forte no grupo controle (Figura 3A) e fraca no grupo que realizou exercício resistido (Figura 3B), no entanto no grupo lesão (Figura C) e lesão com exercício (Figura D) foi verificado reatividade forte à intensa.

Discussão

O modelo de compressão do nervo isquiático realizado no presente estudo reproduz a lesão do tipo axonotmese (Possamai; Siepko; André, 2010; Câmara et al., 2011), que leva à interrupção da comunicação neuromuscular. A ausência do estímulo alterou a morfologia do músculo sóleo dos animais do grupo lesão, revelando características típicas de dano muscular causado por desnervação. Fibras musculares com contornos irregulares e núcleos centralizados também foram evidenciadas por Polônio et al. (2010) no músculo tibial anterior de ratos submetidos a secção completa do nervo isquiático. Salvini et al. (2012) descreveram que tais alterações estruturais nas fibras musculares comprometem a funcionalidade do órgão.

Após a lesão nervosa, o suprimento sanguíneo tem papel essencial na recuperação morfológica e funcional do músculo (Wagatsuma; Tamaki; Ogita, 2005; Hudlicka, 2011). A neovascularização, observada no grupo lesão, possibilita o aporte de nutrientes e oxigênio

necessários ao reparo tecidual. Camilo; Rocha; Choppard (2004) também verificaram maior quantidade de capilares sanguíneos no músculo sóleo após a secção do nervo isquiático, característica esta que parece ser resposta à proliferação da célula endotelial estimulada pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (Zhao et al., 2016).

A lesão do nervo isquiático também promoveu alteração da expressão de AQP1 no músculo sóleo, um dos membros da família das aquaporinas. As aquaporinas (AQPs 0 – 12) são proteínas integrais de membrana, com funções que variam desde a regulação do balanço hídrico renal até integridade estrutural da lente do olho humano, entre outras. Por isso, a compreensão das funções das AQPs são importantes no estudo de doenças e condições patológicas, tais como obesidade, angiogênese de tumores e proliferação e migração de células cancerosas (Kitchen et al., 2015).

A AQP1 já foi localizada em hemácias, células endoteliais de capilares, rins, bexiga, fígado, hipocampo, plexo coroide, entre outras estruturas. Embora sua expressão no músculo estriado esquelético seja controversa, há concordância da expressão positiva desta AQP nas células endoteliais dos capilares musculares (Wakayama, 2007). Desta forma, os resultados de imunolocalização da AQP1 obtidos neste estudo são concordantes com a literatura, visto que ela foi imunolocalizada no endotélio do músculo sóleo dos animais de todos os grupos experimentais.

A reatividade forte à intensa da AQP1, no endotélio dos animais dos grupos lesão e lesão e exercício, foi um resultado marcante do presente estudo e mostrado de forma inédita no músculo sóleo. Wakayama (2007) propôs que a regeneração do músculo estriado esquelético poderia ser aumentada pela superexpressão (overexpression) de AQP1; hipótese concordante com nossos resultados e que pode ser fundamentada em novas funções das AQPs, entre elas facilitar a migração celular (Papadopoulos et al., 2008). Migração é um papel fundamental das células e ocorre em processos fisiológicos e patológicos, inclusive em reparo de lesões teciduais após injúria e formação de novos vasos sanguíneos (Papadopoulos et al., 2008). Foi relatado que a deleção de AQP1, em camundongos, reduziu o crescimento tumoral após injeção subcutânea de células de melanoma, o qual foi associado com aumento da necrose tumoral e diminuição da formação de vasos sanguíneos no leito tumoral (Papadopoulos et al., 2008). Lai et al. (2014) mostraram que a expressão de AQP1 modulou as capacidades de migração e proliferação de células musculares da artéria pulmonar de ratos

quando estimuladas por hipóxia. Assim, acredita-se que forte reatividade da AQP1, observada no presente estudo, deve-se ao papel desta AQP em atuar na remodelagem do músculo sóleo.

Apesar das inúmeras características morfológicas deletérias constatadas no músculo sóleo do grupo lesão, 21 dias após à lesão nervosa, foi possível verificar alguns sinais de regeneração muscular, como a presença de núcleos centralizados na fibra, indicativo de síntese proteica (Karalaki et al., 2009). Tanaka, Tsubaki e Tachino (2005) também verificaram que o músculo sóleo se recuperou espontaneamente seis semanas após a lesão do nervo tibial.

A plasticidade do tecido muscular em resposta a lesão depende, entre outras, do papel funcional das células satélites (Karalaki et al., 2009; Carlson, 2014). Estas se encontram em estado quiescente no músculo saudável, entretanto na lesão proliferam na lâmina basal e, com auxílio de fatores de crescimento, que atuam na quimiotaxia, proliferação e diferenciação, as células satélites formam os mioblastos. Ao atravessarem a lâmina basal, os mioblastos liberam enzimas (tripsina e pronase), capazes de dissolver a membrana, chegando ao local da lesão (Morgan; Patridge, 2003). Evidências sugerem que essas células são capazes de se fundir à fibra muscular, de forma a atuar no reparo do segmento lesionado, mas podem também se fundir formando miotubos, diferenciando-se e originando uma nova fibra muscular (Karalaki et al., 2009; Souza et al., 2015).

Apesar da atrofia ser um sinal frequente após a desnervação muscular (Russo et al., 2010; Carlson, 2014), esta não foi verificada no presente estudo, ou seja, não houve diminuição da área de secção transversa e diâmetro das fibras musculares 21 dias após a lesão. O fator de diferenciação miogênico (*myoD*) está diretamente envolvido nesse processo, e tem sua expressão aumentada depois da desnervação, uma vez que o *myoD* é capaz de induzir a proliferação e a diferenciação de células satélites, prevenindo assim, o aparecimento da atrofia muscular (Russo et al., 2010).

Diferentes formas de estresse muscular podem ocasionar alterações no número de sarcômeros (Ceylan et al., 2014). A lesão nervosa como observado nos animais do grupo lesão foi responsável pelo aumento do comprimento dos sarcômeros e, concomitantemente pela diminuição do seu número em 300 µm. Este ajuste ocorre para que haja sobreposição ideal dos filamentos de actina e miosina, o que permite um ótimo desenvolvimento de tensão durante as contrações (Lima et al., 2007), mostrando então a capacidade de adaptação dos sarcômeros do músculo sóleo frente à lesão compressiva do nervo isquiático.

Já nos animais submetidos ao exercício resistido de subida em escada, não houve nenhuma alteração morfológica de aspecto degenerativo, embora tenha sido verificado aumento na área de secção transversa e no menor diâmetro das fibras musculares. Essa hipertrofia é resultado do aumento da síntese de proteínas musculares, do número de miofibrilas e de filamentos contráteis, os quais fornecem mais pontes cruzadas para a produção de força durante a contração máxima, exigida pela execução do exercício (Kern et al., 2002; Boonyarom, 2006).

A ação do exercício resistido de subida em escada, sem lesão prévia, foi eficaz para induzir a hipertrofia muscular, tanto em membros anteriores (Nascimento et al., 2013), quanto em membros posteriores (Cassilhas et al., 2013). O grupo exercício apresentou uma reatividade fraca de AQP1, pois segundo Lutoslawska (2014), além da AQP1, a aquaporina 4 (AQP4) também pode ser responsável pelo transporte rápido de água induzido pelo exercício.

O potencial efeito do exercício resistido sobre a fisiologia muscular foi fator determinante na melhora morfológica do músculo sóleo dos animais submetidos à lesão e posteriormente exercitados, nos quais foram verificados aspectos de regeneração da maioria das fibras musculares, quando comparado ao grupo lesão. Dessa maneira, o exercício resistido do tipo subida em escada, iniciado na fase aguda pós-lesão, atuou de forma protetora sobre a morfologia do músculo sóleo. Salvini et al. (2012) também verificaram que a contração muscular induzida por estimulação elétrica tem efeito protetor sobre músculos desnervados.

Efeitos benéficos do exercício em modelos de desnervação iniciados na fase precoce da reinervação também foram constatados por Marqueste et al. (2004) que observaram, que o tratamento em esteira foi capaz de aumentar a resistência à fadiga, restaurar as propriedades contráteis e a mecanossensibilidade do músculo tibial anterior, e por Tanaka, Tsubaki e Tachino (2005) em que o exercício de esteira preveniu a atrofia do músculo sóleo, após lesão no nervo tibial. Esses resultados foram atribuídos ao aumento da síntese proteica como resultado da estimulação mecânica induzida pelo exercício e aumento das unidades motoras devido à regeneração das fibras nervosas (Betz; Caldwell; Ribchester, 1980).

Ainda, o exercício pode induzir a liberação de moléculas sinalizadoras, como citocinas, substâncias inflamatórias e fatores de crescimento, do tecido muscular e do conjuntivo circundante que atuam sobre as células satélites (Kadi et al., 2005).

Neste estudo, o exercício resistido de subida de escada iniciado na fase aguda foi uma modalidade terapêutica eficaz na recuperação dos parâmetros histomorfométricos

musculares após desnervação, além de alterar a expressão de AQP1. É extremamente importante que os profissionais da saúde estejam cientes que o sistema neural está intimamente relacionado ao sistema musculoesquelético e a conduta terapêutica deve contemplar não somente os cuidados com o nervo, mas também com o músculo e com as estruturas peri-articulares envolvidas, visando minimizar as limitações impostas pela lesão nervosa, acelerar o processo regenerativo e promover um retorno precoce da funcionalidade do paciente.

Conclusão

Conclui-se que a axonotmese no nervo isquiático foi capaz de promover efeitos de lesão muscular e que 21 dias após a compressão o músculo sóleo apresenta potencial intrínseco de recuperação.

Reporta-se ainda, a importância do início do exercício na fase aguda após a desnervação, pois o exercício resistido do tipo subida de escada agiu como um fator protetor na regeneração.

Agradecimentos:

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Tabela 1: Área de secção transversa, menor diâmetro e tecido conjuntivo.

Grupos	Área de Secção Transversa (μm)	Menor Diâmetro (μm)	Tecido Conjuntivo (%)
Controle	2529 $\pm$ 487*	40,13 $\pm$ 4,3*	13,28 $\pm$ 3,4
Exercício	3879 $\pm$ 234	56,29 $\pm$ 2,1	13,5 $\pm$ 2,5
Lesão	2171 $\pm$ 222* [#]	40,17 $\pm$ 2,0*	13,77 $\pm$ 4,9
Lesão com Exercício	2873 $\pm$ 377*	42,07 $\pm$ 3,4	12,36 $\pm$ 3,2

Legenda: Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à densidade do tecido conjuntivo. $P < 0,05$, média $\pm$ desvio-padrão.

* = diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo exercício.

[#] = diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo lesão com exercício.

Tabela 2: Total de capilares sanguíneos, fibras musculares e razão capilar/fibra.

Grupos	Total de capilares sanguíneos	Total de fibras musculares	Razão Capilar/Fibra
Controle	32,07 $\pm$ 6,4	40,17 $\pm$ 12,9	0,63 $\pm$ 0,1
Exercício	26,53 $\pm$ 4,1*	29,17 $\pm$ 1,8	0,78 $\pm$ 0,1
Lesão	40,37 $\pm$ 4,9	49,57 $\pm$ 7,6 [#]	0,79 $\pm$ 0,1
Lesão com exercício	31,03 $\pm$ 6,0*	46,88 $\pm$ 9,0 [#]	0,64 $\pm$ 0,1

Legenda: Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação a razão capilar/fibra. $P < 0,05$, média $\pm$ desvio-padrão.

* = diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo lesão.

[#] = diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo exercício.

Tabela 3: Comprimento muscular, estimativa do número de sarcômeros ao longo do músculo e em 300 μm e comprimento do sarcômero.

Grupos	Comprimento Muscular (mm)	Estimativa do número de sarcômeros ao longo do músculo	Estimativa do número de sarcômeros em 300 (μm)	Comprimento do sarcômero (μm)
Controle	33,83 $\pm$ 0,3	12758 $\pm$ 2788	126 $\pm$ 8,2	2,38 $\pm$ 0,2
Exercício	31,64 $\pm$ 0,3	11174 $\pm$ 680	108,16 $\pm$ 8,2	2,78 $\pm$ 0,2
Lesão	31,63 $\pm$ 0,2	10740 $\pm$ 1110	99,5 $\pm$ 5,6*	3,02 $\pm$ 0,2*
Lesão com Exercício	31,35 $\pm$ 0,4	10577 $\pm$ 1329	103,66 $\pm$ 3,8*	2,89 $\pm$ 0,1*

Legenda: Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação ao comprimento muscular e na estimativa do número de sarcômeros ao longo do músculo. $P < 0,05$, média $\pm$ desvio-padrão.

* = diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo controle.

Figura 1 – Análise morfológica do tecido muscular do músculo sóleo de ratos Wistar

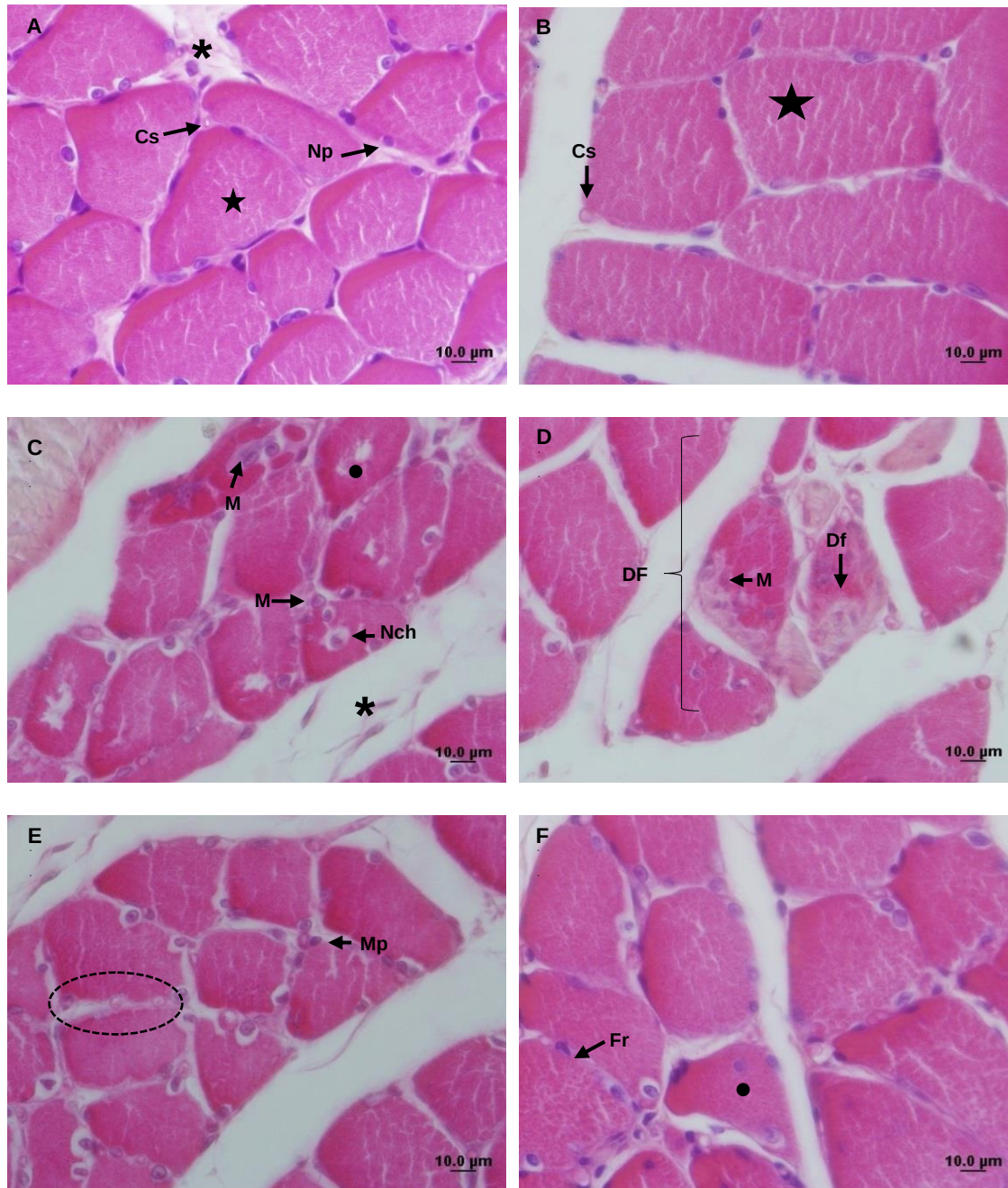


Figura 1: Fotomicrografia da secção transversal do músculo sóleo de ratos Wistar na objetiva de 40x. Grupo Controle (A), Grupo Exercício (B), Grupo Lesão (C, D, E) e Grupo Lesão com Exercício (F). Em A, evidenciando fibras musculares com formato poligonal (estrela), núcleos periféricos (Np), fibroblastos (*) e capilares sanguíneos (Cs). B, fibras musculares hipertrofiadas (estrela), com estrutura e a organização muscular preservada. Em C, sinais de lesão muscular, com fibras com contornos irregulares (círculo), núcleos centrais e com halo circundante (Nch), mioblastos no local da lesão (M) e a presença de fibroblastos (*). Em D, desorganização da fibra muscular (Df) e presença de mioblastos (M). Em E, mioblastos enfileirados na periferia (Mp), e aumento dos capilares sanguíneos (elipse tracejada). Em F, evidenciando melhora morfológica com a presença de fibras regeneradas (Fr), porém poucas fibras ainda se apresentavam irregulares (círculo). Coloração com Hematoxilina e eosina.

Figura 2 – Análise morfológica do tecido conjuntivo do músculo sóleo de ratos Wistar

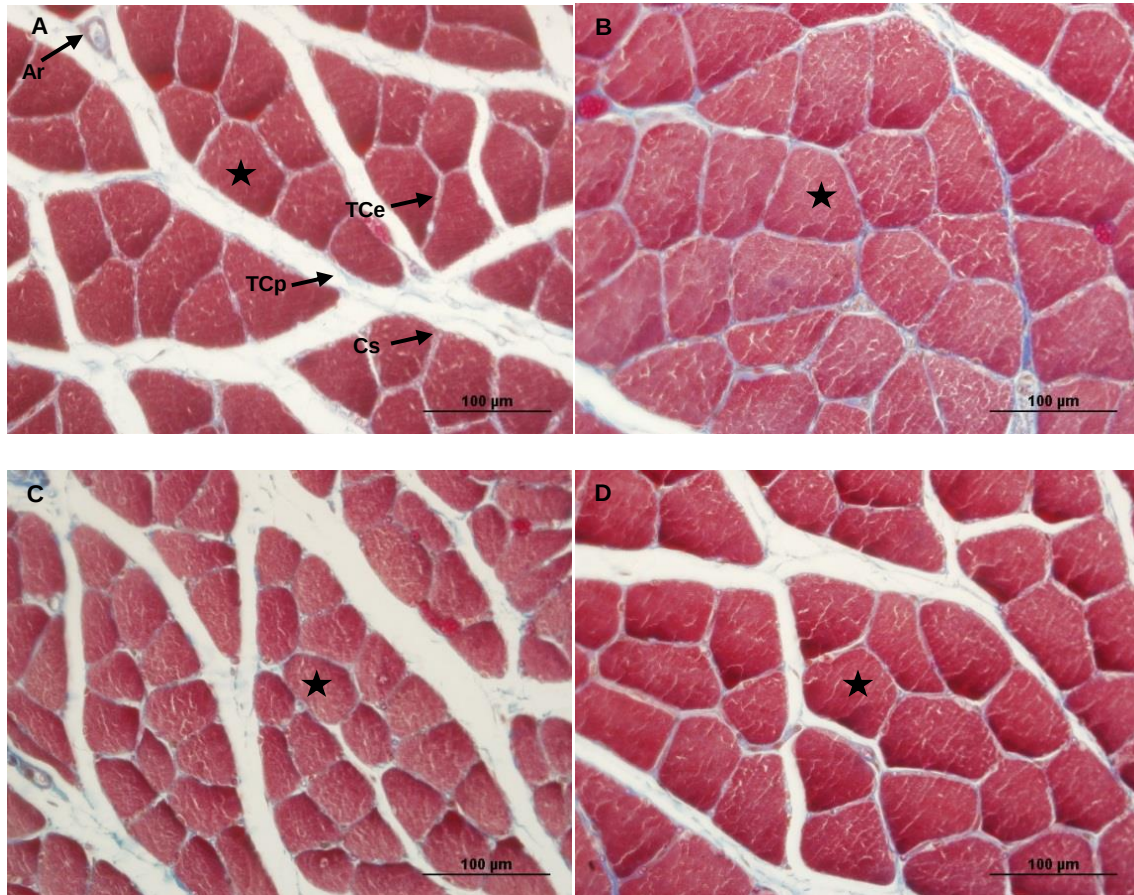


Figura 2: Fotomicrografia da secção transversal do músculo sóleo de ratos Wistar, na objetiva de 40x. Grupo Controle (A), Grupo Exercício (B), Grupo Lesão (C) e Grupo Lesão com Exercício (D). Tecido conjuntivo no perímio (TCp) e tecido conjuntivo no endomísio (Tce), apresentavam características normais em todos os grupos. Capilares sanguíneos (Cs), arteríolas (Ar) e fibra muscular com formato poligonal (estrela). Coloração Tricrômico de Mallory.

Figura 3 – Imunolocalização da AQP1 no músculo sóleo de ratos Wistar

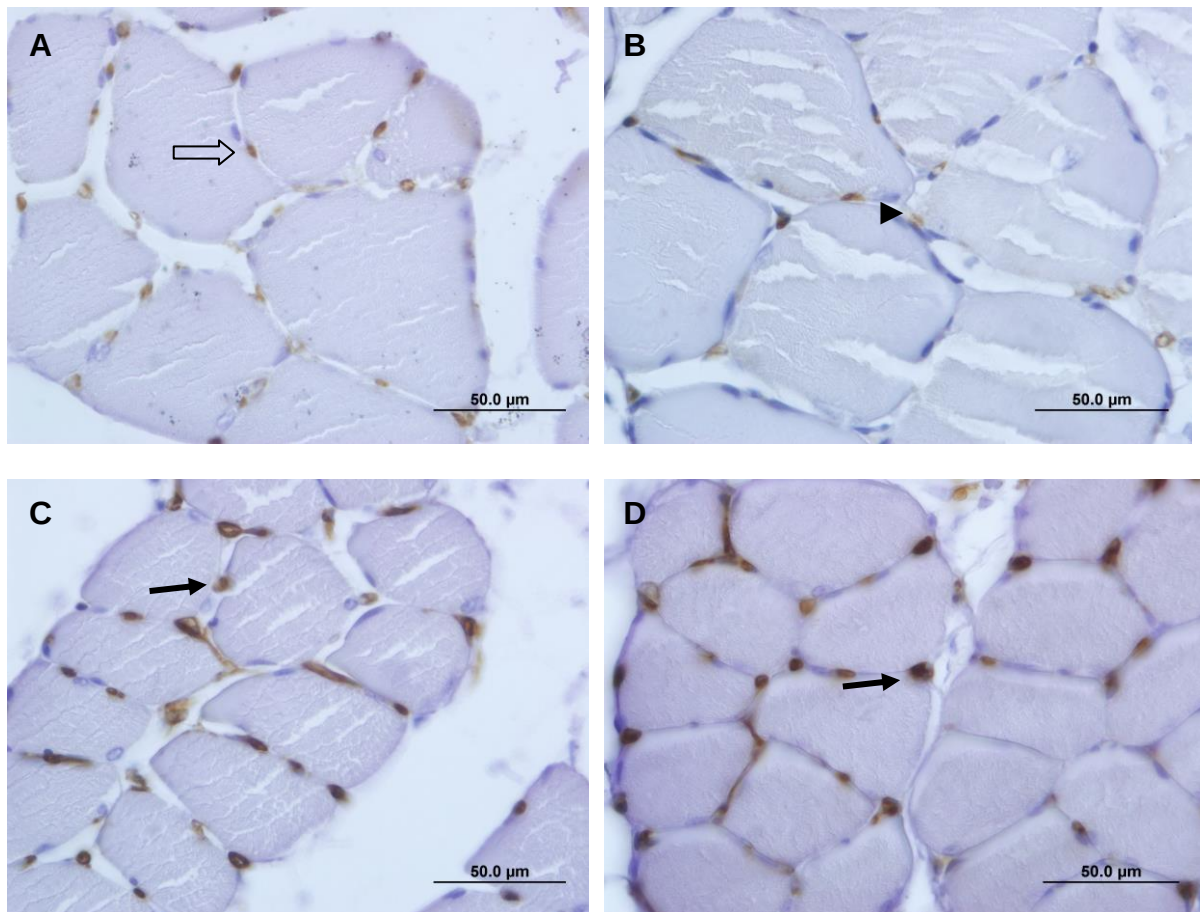


Figura 3: Fotomicrografia da secção transversal do músculo sóleo de ratos Wistar. Imunolocalização de AQP1 em capilares das fibras musculares com reatividades média a forte (seta) no grupo controle (A), com fraca reatividade (cabeça de seta) no grupo exercício (B) e reatividade forte a intensa (seta larga) no grupo lesão (C) e lesão tratado com exercício (D). Contracoloração Hematoxilina e Eosina.

Referências

- Betz WJ, Caldwell JH, Ribchester RR. The effects of partial denervation at birth on the development of muscle fibres and motor units in rat lumbrical muscle. *J Physiol* 1980; 303: 265-279.
- Boonyarom O Inui K. Atrophy and hypertrophy of skeletal muscles: structural and functional aspects. *Acta Physiol* 2006; 2: 77-89.
- Caierão QM, Betini J, Teodori RM, Minamoto VB. O efeito do intervalo da estimulação elétrica no músculo desnervado de rato. *Rev Bras Fisioter* 2008; 12: 143-148.
- Câmera CNS, Brito MVH, Silveira EL, Silva DSG, Simões VRF, Pontes RWF. Histological analysis of low-intensity laser therapy effects in peripheral nerve regeneration in Wistar rats. *Acta Cir Bras* 2011; 26:12-18.
- Camillo AC, Rocha RC, Chopard RP. Structural and microvascular study of soleus muscle of wistar rats after section of the sciatic nerve. *Arq Neuro-Psiquiatr* 2004; 62: 835-838.
- Carlson BM. The biology of long-term denervated skeletal muscle. *European J Transl Myol – BAM* 2014; 24: 5-11.
- Cassilhas RC, Reis IT, Venâncio D, Fernandes J, Tufik S, Mello MT. Animal model for progressive resistance exercise: a detailed description of model and its implications for basic research in exercise. *Rev Motriz* 2013; 19: 178-184.
- Ceylan O, Seyfettinoglu F, Dulgeroglu AM, Avci A, Bayram B, Bora OA. Histomorphological comparison of immobilization and denervation atrophies. *Acta Orthop Traumatol Türc* 2014; 48: 320-325.
- Cheng FC, Sheu ML, Su HL, Chen YJ, Chen CJ, Chiu WT, Sheehan J, Pan HC. The effect of exercise on mobilization of hematopoietic progenitor cells involved in the repair of sciatic nerve crush injury. *J Neurosur* 2013; 118: 594-605.
- Geuna S. The sciatic nerve injury model in pre-clinical research. *J Neurosci Meth* 2015; 243: 39-46.
- Hornberger TAJ, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol* 2004; 29: 16-31.
- Hudlicka O. Microcirculation in skeletal muscle. *Mus, Lig Tend J* 2011; 1: 3-11.
- Junior GMR, Bueno CRS, Heubel A, Bortoluci CHF, Simionato LH, Daré LR, Silva MP, Dias VD. Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *Salus* 2013; 32: 211-225.

Kadi F, Charifi N, Denis C, Lexell J, Andersen JL, Schjerling P, et al. The behaviour of satellite cells in response to exercise: what have we learned from human studies? *Pflugers Arch* 2005; 451: 319-327.

Karalaki M, Fili S, Philippou A, Koutsilieris M. Muscle Regeneration: Cellular and Molecular Events. *In vivo* 2009; 23: 779-796.

Kern H, Hofer C, Modlin M, Forstner C, Raschka-Hogler D, Mayr W, Stohr H. Denervated muscle in humans: limitations and problems of currently used functional electrical stimulation training protocols. *Artif Organs* 2002; 26: 216-218.

Kitchen P, Day RE, Salman MM, Conner MT, Bill RM, Conner AC. Beyond water homeostasis: diverse functional roles of mammalian aquaporins. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1850: 2410-2421.

Kobayashi S, Yoshizawa H, Yamada S. Pathology of lumbar nerve root compression. Part 2: morphological and immunohistochemical changes of dorsal root ganglion. *J Orthop Res* 2004; 22: 180-188.

Lai N, Lade J, Legget K, Yun X, Baksh S, Chau E, Crow MT, Sidhaye V, Wang J, Shimoda LA. The Aquaporin 1 C-Terminal Tail Is Required for Migration and Growth of Pulmonary Arterial Myocytes. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2014; 50: 1010-1020.

Li R, Liu Z, Pan Y, Chen L, Zhang Z, Lu L. Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review. *Cell Biochem. Biophys* 2014; 68: 449-454.

Lima SC, Caierão QM, Durigan JLQ, Schwarzenbeck A.; Silva CA, Minamoto VB, et al. Curto período de imobilização provoca alterações morfométricas e mecânicas no músculo de rato. *Rev Bras Fisioter* 2007; 11: 297-302.

Lutoslawska G. Aquaporins in physiology and pathology. *Trends Sport Sci* 2014; 4:185-194.

Marqueste T, Alliez JR, Alluin O, Jammes Y, Decherchi P. Neuromuscular rehabilitation by treadmill running or electrical stimulation after peripheral nerve injury and repair. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1988-1995.

Morgan JE, Patridge TA. Muscle satellite cells. *Int J Biochem Cell B* 2003; 35: 1151-1156.

Moore KL, Dalley AF. *Anatomia Orientada para a Clínica*. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan 2007. 597 p.

Nascimento V, Krause Neto W, Gonçalves L, Maifrino LBM, Souza RR, Gama EF. Morphoquantitative analysis revealed triceps brachialis muscle hypertrophy by specific resistance training equipment in rats. *J Morpho Sci* 2013; 30: 276-280.

Papadopoulos MC, Saadoun S, Verkman AS. Aquaporins and cell migration. *Pflugers Arch. – Eur. J. Physiol* 2008; 456: 693–700.

Polônio JT, Mazzer N, Barbieri CH, Matielo-Sverzut. Eletroestimulação seletiva mantém estrutura e função do tibial desnervado de ratos. *Acta Ortop Bras* 2010; 18: 85-89.

Possamai F, Siepko CM, André ES. Investigação dos efeitos do exercício terapêutico sobre a regeneração nervosa periférica. *Acta Fisiátr* 2010; 17: 142-147.

Russo TL, Peviani SM, Durigan JLQ, Gigo-Benato D, Delfino GB, Salvini TF. Stretching and electrical stimulation reduce the accumulation of MyoD, myostatin and atrogin-1 in denervated rat skeletal muscle. *J Muscle Res cell motil* 2010; 31: 45-57.

Salvini TF, Durigan JLQ, Peviani SM, Russo TL. Efeitos da eletroestimulação e do alongamento muscular sobre a adaptação do músculo desnervado – implicações para a fisioterapia. *Rev Bras Fisioter* 2012; 16: 175-183.

Shiguemoto GE, Prestes J, Leite RD, Pereira GB, Pontes CL, D'avilla FV, Botero JP, Baldissera V, Nonaka KO, Selistre-de-Araujo HS, Perez SE. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. *Scand J Med Sci Sports* 2012; 22: 607-617.

Sebben AD, Cocolichio F, Schmitt APV, Curra MD, Silva PV, Tres GL, Silva JB. Efeitos de fatores neurotróficos sobre o reparo de nervo periférico. *Sci. Med* 2001; 21: 81-89.

Siva-Couto MA, Gigo-Benato D, Tim CR, Parizotto NA, Salvini TF, Russo TL. Effects of low-level laser therapy after nerve reconstruction in rat denervated soleus muscle adaptation. *Rev Bras Fisioter* 2012; 16: 320-327.

Souza DK, Oliveira JR, Rodrigues H, Cota NB, Carvalho MM, Prestes J, Durigan JLQ, Pereira ECL. Regulação e ativação das células satélites durante a regeneração muscular. *Rev Bras Cienc Mov* 2015; 23: 170-180.

Tanaka S, Tsubaki A, Tachino K. Effect of exercise training after partial denervation in rat soleus muscles. *J Phys Ther Sci* 2005; 17: 97-101.

Wagatsuma A, Tamaki H, Ogita F. Capillary supply and gene expression of angiogenesis-related factors in murine skeletal muscle following denervation. *Exp Physiol* 2005; 90: 403-409.

Wakayama Y. Skeletal muscle regeneration may be enhanced by overexpression of aquaporin 1 in intramuscular capillary endothelial cells. *Med Hypotheses* 2007; 68: 856-859.

Zhang H., Verkman AS. Aquaporin-1 water permeability as a novel determinant of axonal regeneration in dorsal root ganglion neurons. *Exp Neurol* 2015; 265: 152-159.

Zhao H.; Huang H.; Wu J, Huang P. Specialization of mitochondrial and vascular oxidant modulated VEGFR in the denervated skeletal muscle. *Cell Signal* 2016; 25: 2106-2114.

ANEXO A:

Certificado do CEUA da UNIOESTE.

**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA

PARECER DE PROTOCOLO

O protocolo intitulado "Avaliação do exercício resistido, associado ou não a Vanilina, em modelo experimental de compressão do nervo isquiático", sob vossa coordenação, foi avaliado pelo CEUA como **APROVADO** para execução.

ATENÇÃO!

O Certificado Experimental deste Protocolo, somente será emitido após o encerramento das atividades previstas e após o encaminhamento do Relatório Final ao CEUA. Este Parecer **NÃO** tem valor como Certificado Experimental.

Cascavel, 11/04/2014

Dirceu Baumgartner
Coordenador do CEUA
Portaria no 1130/2014-GRE

ANEXO B

A Revista Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports recebe artigos das seguintes categorias:

Instructions **to** **Authors**

Articles accepted for publication will be published in our e-only section - and not in print.

Manuscripts should be submitted at ScholarOne Manuscripts. Instructions for using the system can be found on the site. Furthermore, an author guide is available in the "User Tutorials" area of the site if assistance is needed.

Manuscripts can be submitted as either "original" or "review". In addition, book reviews, abstracts of sports medicine interest, and announcement of consensus statements or meeting reviews and other topics of interest can be submitted to the "sports medicine update."

The submission should include a letter stating that the manuscript contains original material only that has not been previously published, and is not currently under consideration elsewhere, nor will be submitted elsewhere until a final decision has been made by the journal.

Please note that we now accept.doc and docx files.

Copyright

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services and Wiley Open Access.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) or the Austrian Science Fund (FWF) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with your Funder requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please [click here](#).

Open

Access

Open access publishing is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive.

For more information on OnlineOpen including the full list of terms and conditions and the online order form please go [here](#).

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

Manuscript

Preparation

When preparing manuscripts for submission, authors should follow the style of the journal:

1. Manuscripts should be divided into:
 - Title page (including contact name and address including phone, fax and e-mail, and with a title not exceeding 120 characters and a running head of not more than 45 characters)
 - Abstract (less than 250 words)
 - Keywords (3–8 words other than those mentioned in title or abstract)
 - Introduction - Materials and methods (including statement that informed consent and local ethics committee approval has been provided for human studies)
 - Results, discussion, perspective and acknowledgements (if any)
 - References*
 - Tables, figure legends and figures - units should be SI and metric

2. It is mandatory that all manuscripts include a brief perspective paragraph at the end of the discussion in which the findings are put into perspective in the relevant

area of sports medicine. This includes reference to possible previous articles in this and other journals and the potential impact of the present findings. This paragraph should not exceed 200 words.

3. As a general rule, no more than 40 references should be cited in a full text original article (120 in reviews). References* should be cited in alphabetical order, regardless of chronology, and without numbers. In the text references should include the authors and the year of publication in parenthesis, e.g. (Saltin, 1998), except when the authors name is part of the sentence, e.g. "Saltin (1998) showed that...". When several references are cited together they should be in chronological order, separated by semicolons. When a referenced article is written by two authors both names should be included; for three or more authors the first name only is given, followed by "et al.". Unpublished material may be referred to sparingly in the text, by giving the author's name and initials followed by "unpublished observation" or "personal communication"; it should not appear in the list of references. References should be written in accordance with Index Medicus (e.g. Messner K. Meniscal regeneration or meniscal transplantation? Scand J Med Sci Sports 1999; 9: 162–167). References to book material should include book title, author, editors, publisher, publication year, and pages.

4. Tables should be typed on separate sheets numbered with Arabic numerals, and have self-explanatory headings. Authors are strongly recommended to include illustrative figures in their manuscripts instead of large tables. The detailed tables themselves can instead be submitted as 'supporting information'.

5. Figures should have a title, be accompanied by a legend on a separate sheet and be self-explanatory.

Author material archive policy: Please note that unless specifically requested, Wiley-Blackwell will dispose of all hardcopy or electronic material submitted three months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible if you have not yet done so.

Proofs

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working e-mail address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) [here](#).

This will enable the file to be opened, read on screen and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard

copy proofs will be posted if no e-mail address is available. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately.

The **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports** is covered by Wiley-Blackwell's Early View Service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Articles are therefore available as soon as they are ready, rather than having to wait for the next scheduled print issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

Online production tracking is available for your article through Wiley-Blackwell's **Author Services**. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production so they don't need to contact the production editor to check on progress. Visit Author Services for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

* We recommend the use of a tool such as Reference Manager for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for here.

Supporting

Information

Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports Online gives authors the opportunity to include data that would be inappropriate or impractical to include in the printed version. These data may substantially enhance the importance of the research and may also be of benefit to readers. Authors are encouraged to include data such as videos, 3-D structures/images, large tables and any other supporting data too large for print publication. All supporting information must be submitted as 'supplementary files for review' with the original manuscript via ScholarOne Manuscripts. 'Supporting Information' will be made available alongside the online version (only) of the published article. Please note that supporting information will not be copy-edited or typeset, but be made available online in exactly the form it is received and approved. Supporting information guidelines including acceptable file formats and sizes are available here.

Page**Charges**

Any article which exceeds 6 pages (in the final published version) will be charged. Excess pages, over and above 6 pages, must be paid for at a rate of GBP 165 per page. A page contains about 5,400 letters on average, space between words included (but not tables and figures).

Production**Tracking**

Online production tracking is now available for your article through Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article – once it has been accepted – through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit Author Services for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.