



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO**  
**COMPORTAMENTO**

**Ana Camila Nobre de Lacerda Brito Paz**

**UTILIZAÇÃO DE UM BIOFILME DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO COM ÁCIDO**  
**ASCÓRBICO COMO COADJUVANTE NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DO**  
**NERVO CIÁTICO**

**Recife**  
**2022**

**Ana Camila Nobre de Lacerda Brito Paz**

**UTILIZAÇÃO DE UM BIOFILME DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO COM ÁCIDO  
ASCÓRBICO COMO COADJUVANTE NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DO  
NERVO CIÁTICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, Centro de Ciências da Médicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento.

**Linha de Pesquisa:** Neurociências - Pesquisas experimentais: modelos animais.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sílvia Regina Arruda de Moraes.

**Recife**

**2022**

Catálogo na fonte:  
Elaine Freitas, CRB4:1790

P348u Paz, Ana Camila Nobre de Lacerda Brito  
Utilização de um biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico como  
coadjuvante no processo de cicatrização do nervo ciático / Ana Camila Nobre de  
Lacerda Brito Paz . – 2022.  
143 f. : il.

Orientadora: Sílvia Regina Arruda de Moraes.  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de  
Ciências Médicas. Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências  
do Comportamento. Recife, 2022.

Inclui referências e anexos.

1. Ácido ascórbico. 2. Álcool de polivinil. 3. Traumatismos dos nervos  
periféricos. 4. Nanotecnologia. 5. Nervo Isquiático. 6. procedimento  
neurocirúrgico. I. Moraes, Sílvia Regina Arruda de (orientadora). II. Título.

618.97 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2022 - 279)

**Ana Camila Nobre de Lacerda Brito Paz**

**UTILIZAÇÃO DE UM BIOFILME DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO COM ÁCIDO  
ASCÓRBICO COMO COADJUVANTE NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DO  
NERVO CIÁTICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, Centro de Ciências da Médicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento.

**Linha de Pesquisa:** Neurociências - Pesquisas experimentais: modelos animais.

**Aprovada em 26 de Agosto de 2022.**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sílvia Regina Arruda de Moraes (Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daniella Araújo de Oliveira (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Prof. Dr. Márcio Almeida Bezerra (Examinador Externo)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Naianne Kelly Clebis (Examinador Externo)  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

---

Prof. Dr. César Augusto de Souza de Andrade (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dedico este trabalho a meu esposo Diogo Henrique Fernandes da Paz, à minha filha Ana Alice Lacerda Brito da Paz e aos meus avós Naércio Bastos de Brito (*in memoriam*) e Josefa Nascimento de Brito.

## AGRADECIMENTOS

---

**A Deus**, pela sua infinita graça, misericórdia, amor, bondade e por ter me permitido chegar até aqui. Sem Ele nada sou e não teria tido tantas oportunidades na vida;

**Ao meu esposo**, Diogo Henrique Fernandes da Paz, pelo seu amor, cuidado e paciência para me confortar em todos os momentos;

**Aos meus pais**, Filarete Nobre de Lacerda Neto e Christiani Nobre de Lacerda Brito, pelo amor, pela excelente educação e pela confiança em mim depositada;

**Aos meus avós**, Naércio Bastos de Brito (*in memoriam*) e Josefa Nascimento de Brito, por terem me ensinado o verdadeiro amor, ensinado a perseverar nos estudos e terem sido um exemplo de humildade, bondade e serviço ao próximo;

**À minha filha**, Ana Alice Lacerda Brito da Paz, ela que sem saber me auxiliou muito por ter suas noites de sono tranquila e me deixar trabalhar madrugada a dentro e ser meu raio de sol que com seu sorriso e simpatia ilumina todos os meus dias;

**À minha orientadora**, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sílvia Regina Arruda de Moraes, pela confiança, paciência, cuidado, presteza, exemplo, incentivo, por acreditar no meu potencial e me fazer acreditar também e, principalmente pela excelente orientação ao longo desses dez anos e meio;

**Aos docentes e servidores do Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento**;

**Aos integrantes do Laboratório de Plasticidade Neuromuscular do Departamento de Anatomia da UFPE**, pela amizade, colaboração e dedicação nos procedimentos realizados;

**À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo apoio financeiro;

**Aos integrantes do Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturados**, em especial Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Danielly Lima de Oliveira, Prof. Dr. César Augusto Souza de Andrade, Dr.<sup>a</sup> Kalline Lourenço Ribeiro, Dr. Alberto Galdino da Silva Júnior, pela confecção do biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico para a presente pesquisa;

**Ao Biotério de Nutrição da UFPE**, pelo fornecimento dos animais para realização da pesquisa;

**Aos colegas do doutorado**;

**À minha família**, pela compreensão e incentivo;

**Aos meus amigos da Igreja Batista Reformada do Recife;**

E a todos os outros que direta ou indiretamente contribuíram para que eu pudesse finalizar esta tese, com bom aprendizado e aproveitamento.

## RESUMO

Devido aos prejuízos estruturais e funcionais decorrentes de uma ruptura total do nervo (neurotmeze), e, conseqüentemente, ao período prolongado de imobilização após a reparação cirúrgica, o presente estudo tem o objetivo de avaliar se a utilização cirúrgica de um biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico, produzido a partir da técnica de eletrofiação, acelera o processo de cicatrização de uma neurotmeze do nervo ciático em ratos *Wistar*. Foram utilizados 84 ratos, *Wistar*, randomicamente distribuídos em quatro grupos: Grupo Controle (GC; n = 24); Grupo Lesão (GL; n = 24); Grupo Lesão Biofilme (GLB; n = 18) e Grupo Lesão e Biofilme com ácido ascórbico (GLBA; n = 18). Seis nervos ciáticos por grupo foram coletados e avaliados na 1ª, 3ª ou 6ª semana pós-operatório, o GC e do GL também tiveram nervos avaliados no dia da cirurgia. Aos 60 dias de vida os animais dos grupos lesão foram submetidos à neurotmeze do ciático direito, seguida de sua sutura e o nervo foi envolvido ou não pelo biofilme de álcool polivinílico com ou sem o ácido ascórbico em sua estrutura. Foi realizado o índice funcional do nervo ciático um dia antes da cirurgia, na 1ª, 3ª e 6ª semana pós-operatória e, em seguida, os animais foram anestesiados, tiveram o nervo ciático coletado, foi realizada uma avaliação macroscópica da cicatrização e as amostras foram encaminhadas para análise histomorfométrica. Na análise estatística foi utilizado o teste de normalidade *Shapiro-Wilk*, seguido do ANOVA com *post hoc* de *Bonferroni*, para as variáveis paramétricas e utilizado o Teste de *Kruskal-Wallis*, seguido da comparação em pares para variáveis não paramétricas, os resultados expressos em média e desvio padrão ou mediana e intervalos interquartis, respectivamente e o nível de significância foi de 5 %. Todos os grupos apresentaram boa reparação da pele, porém 33,30% do GC apresentaram rompimento de pontos da pele. Além disso, 16,70% dos cotos não estavam alinhados estruturalmente e 33,30% apresentavam neuromas no GL, enquanto todos os cotos estavam alinhados e nenhum apresentava neuroma no GLB. Houve alinhamento estrutural em todos os animais do GLBA. Células de Schwann: GLBA3ªsem > GL3ªsem (p = 0,016), GLB6ªsem > GC6ªsem e GL6ªsem (p < 0,001 e 0,002), GLBA6ªsem < GLB6ªsem (p = 0,031); Área de secção transversa do nervo: GLB1ªsem > GC1ªsem e GL1ªsem (p < 0,001 e p = 0,011), GLB3ªsem > GC3ªsem e G3ªsem L (p = 0,004 e p = 0,042), GLB6ªsem e GLBA6ªsem > GC6ªsem (p = 0,020 e 0,042). Portanto, o biofilme de PVA com ácido ascórbico parece ter acelerado a regeneração

nervosa do ponto de vista macroscópico e microscópico. Além disso, a presente pesquisa forneceu um protocolo de revisão sistemática para avaliar a eficácia da técnica de tubulização com biomateriais no processo de reparação histológica e funcional após uma neurotmeze periférica em ratos adultos jovens e os resultados da revisão sistemática serão úteis para pesquisas científicas em neurocirurgia.

**Palavras-Chave:** ácido ascórbico; álcool polivinílico; lesão do nervo periférico; nanotecnologia; nervo Ciático; procedimento neurocirúrgico.

## ABSTRACT

Due to the structural and functional damage resulting from a total nerve rupture (neurotmesis), and, consequently, to the prolonged period of immobilization after surgical repair, the present study aims to assess whether the surgical use of a polyvinyl alcohol biofilm with Ascorbic acid, produced from the electrospinning technique, accelerates the healing process of a sciatic nerve neurotmesis in Wistar rats. Eighty-four Wistar rats were randomly assigned to four groups: Control Group (CG; n = 24); Lesion Group (LG; n = 24); Biofilm Lesion Group (BLG; n = 18) and Ascorbic Acid Lesion and Biofilm Group (ALBG; n = 18). Six sciatic nerves per group were collected and evaluated at the 1st, 3rd or 6th postoperative week, the CG and LG also had nerves evaluated on the day of surgery. At 60 days of age, the animals in the lesion groups were submitted to neurotmesis of the right sciatic nerve, followed by its suture, and the nerve was involved or not by the polyvinyl alcohol biofilm with or without ascorbic acid in its structure. The functional index of the sciatic nerve was performed one day before surgery, in the 1st, 3rd and 6th postoperative week, and then the animals were anesthetized, had the sciatic nerve collected, a macroscopic evaluation of healing was performed and the samples were sent for histomorphometric analysis. In the statistical analysis, the Shapiro-Wilk normality test was used, followed by ANOVA with Bonferroni's post hoc, for the parametric variables and the Kruskal-Wallis Test was used, followed by the pairwise comparison for non-parametric variables, the results expressed as an average and standard deviation or median and interquartile ranges, respectively, and the significance level was 5%. All groups showed good skin repair, but 33.30% of the CG had broken skin stitches. In addition, 16.70% of the stumps were not structurally aligned and 33.30% had neuromas in the LG, while all the stumps were aligned and none had neuroma in the LBG. There was structural alignment in all ALBG animals. Schwann cells: ALBG3wk > LG3wk ( $p=0.016$ ), LBG6thwk > CG6thwk and LG6thwk ( $p<0.001$  and  $0.002$ ), ALBG6thwk < LBG6thwk ( $p=0.031$ ); Nerve cross-sectional area: LBG1stweek > CG1stweek and LG1stweek ( $p < 0.001$  and  $p = 0.011$ ), LBG3rdweek > CG3thweek and G3rdweek L ( $p=0.004$  and  $p=0.042$ ), LBG6thweek and ALBG6thweek > CG6thweek ( $p = 0.020$  and  $0.042$ ). Therefore, the PVA biofilm with ascorbic acid appears to have accelerated nerve regeneration from a macroscopic and microscopic point of view. In addition, the present research provided a systematic review protocol to evaluate the effectiveness

of the tubulization technique with biomaterials in the histological and functional repair process after peripheral neurotmesis in young adult rats and the results of the systematic review will be useful for scientific research in neurosurgery.

**Keywords:** ascorbic acid; polyvinyl alcohol; peripheral nerve injury; nanotechnology; sciatic nerve; neurosurgical procedure.

## LISTA DE FIGURAS

---

|            |                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1-  | Classificação morfológica dos neurônios.....                                                                                                                                                                                                                                                | 25 |
| Figura 2-  | Estrutura dos nervos.....                                                                                                                                                                                                                                                                   | 26 |
| Figura 3-  | Modelo esquemático das raízes nervosas e divisões do nervo ciático em modelo humano (A) e em ratos (B).....                                                                                                                                                                                 | 27 |
| Figura 4-  | Representação esquemática das lesões nervosas periféricas segundo a escala de Seddon (1943). O endoneuro está sendo representado pela linha verde. As setas vermelhas indicam o local da lesão e a estrutura acometida .....                                                                | 29 |
| Figura 5-  | Degeneração e regeneração de um nervo periférico. A – Nervo intacto; B- Neurotmeze; C – cromatólise, Degeneração Walleriana e Degeneração retrógrada; D – Brotamento do coto proximal; E – Nervo regenerado, porém com segmentos intermodais e com diâmetro axonal reduzidos.....           | 30 |
| Figura 6-  | Técnicas de reparação cirúrgica após uma neurotmeses.....                                                                                                                                                                                                                                   | 33 |
| Figura 7-  | Reparação nervosa utilizando a sutura epineural (A), fascicular ou perineural (B) e epi perineural (C).....                                                                                                                                                                                 | 34 |
| Figura 8-  | Reparação nervosa utilizando a técnica de auto enxerto (A) e aloenxerto.....                                                                                                                                                                                                                | 35 |
| Figura 9-  | Reparação nervosa utilizando a técnica de tubulização.....                                                                                                                                                                                                                                  | 37 |
| Figura 10- | Representação esquemática da técnica de eletrofiação.....                                                                                                                                                                                                                                   | 45 |
| Figura 11- | Equipamentos do Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturados utilizados na produção do biofilme de álcool polivinílico por meio da eletrofiação. (A) Bomba de infusão; (B) Seringa contendo uma solução; (C) Fonte de alta tensão; (D) Placa coletora onde são obtidos os biofilmes..... | 46 |
| Figura 12- | Impressão digital das patas de rato Wistar com as medidas obtidas na pata experimental e normal para a realização do                                                                                                                                                                        | 48 |

|            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|            | Índice Funcional do Ciático segundo De Medinaceli e colaboradores (1982).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
| Figura 13- | Desenho experimental do presente estudo.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 55 |
| Figura 14- | Neurotmes e reparação cirúrgica nos grupos experimentais..                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 55 |
| Figura 15- | Procedimento Cirúrgico: A - Animal na posição anatômica; B - Tricotomia; C - Incisão na pele; D - Disjunção dos músculos glúteo superficial e bíceps femoral; E - Visualização do nervo ciático (seta); F - Isolamento do nervo; G – Neurotmes; H – Neurorrafia (seta); I – Biofilme posicionado (seta); J – Biofilme envolvendo o nervo e suturado; K – Sutura muscular; L – Sutura da pele..... | 58 |
| Figura 16- | Passarela (A) e realização do Índice Funcional do Ciático (B)...                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 59 |
| Figura 17- | Impressão digital do Índice Funcional do Ciático: A – Antes da neurotmes; B – Após a neurotmes há presença de alteração no lado experimental; C – Após a neurotmes com os parâmetros (PL= comprimento da pata; TS = espalhar total dos dedos; IT = espalhar dos dedos intermediários.....                                                                                                         | 59 |

## LISTA DE TABELAS

---

|           |                                                                                       |    |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1- | Classificação das lesões nervosas periféricas segundo a escala de Seddon (1943) ..... | 29 |
| Tabela 2- | Questionário para avaliação macroscópica da reparação cirúrgica .....                 | 60 |

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

---

|              |                                                             |
|--------------|-------------------------------------------------------------|
| AA           | Ácido Ascórbico                                             |
| BIONANO      | Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturados             |
| CAPES        | Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior |
| CEUA         | Comissão de Ética em Uso de Animais                         |
| CS's         | Células de Schwann                                          |
| DAB          | 3"3-Diaminobenzidina                                        |
| FDA          | Food and Drugs Administration                               |
| GC           | Grupo Controle                                              |
| GL           | Grupo Lesão                                                 |
| GLB          | Grupo Lesão Biofilme                                        |
| GLBA         | Grupo Lesão Biofilme com Ácido Ascórbico                    |
| IFC          | Índice Funcional do Ciático                                 |
| IL-1 $\beta$ | Interleucina 1 Beta                                         |
| INOS         | Óxido Nítrico Sintase Induzida                              |
| IT           | "Intermediate Toes", ou Espalhar dos Dedos Intermediários   |
| LAPLAN       | Laboratório de Plasticidade Neuromuscular                   |
| MLTJ         | Muscles, Ligaments and Tendons Journal                      |
| NGF          | Fator de Crescimento Neural                                 |
| PCL          | Policaprolactona                                            |
| PGA          | Ácido Poli Glicólico                                        |
| PL           | "Printlength" ou Comprimento da Pata                        |
| PLA          | Ácido Poli Lático                                           |
| PLGA         | Ácido Poli Lático Glicólico                                 |
| PVA          | Álcool Polivinílico                                         |
| SN           | Sistema Nervoso                                             |
| SNC          | Sistema Nervoso Central                                     |
| SNP          | Sistema Nervoso Periférico                                  |
| TS           | "Total Spread", ou Espalhar Total dos Dedos                 |
| UFPE         | Universidade Federal de Pernambuco                          |
| VEGF         | Fator De Crescimento Do Endotélio Vascular                  |

## SUMÁRIO

---

|            |                                                                                   |           |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>   | <b>APRESENTAÇÃO .....</b>                                                         | <b>20</b> |
| <b>2</b>   | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                                           | <b>22</b> |
| <b>3</b>   | <b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>                                                | <b>24</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Sistema Nervoso Periférico .....</b>                                           | <b>22</b> |
| <b>3.2</b> | <b>Nervo Ciático .....</b>                                                        | <b>26</b> |
| <b>3.3</b> | <b>Tipos de Lesões nos Nervos Periféricos .....</b>                               | <b>28</b> |
| <b>3.4</b> | <b>Importância dos Fatores de Crescimento no Sistema Nervoso Periférico .....</b> | <b>30</b> |
| <b>3.5</b> | <b>Técnicas de Reparação das Neurotmeses .....</b>                                | <b>32</b> |
| 3.5.1      | Reparo direto .....                                                               | 32        |
| 3.5.2      | Enxertos nervosos (auto enxertos e alo enxertos) .....                            | 35        |
| 3.5.3      | Técnica de tubulização .....                                                      | 36        |
| <b>3.6</b> | <b>Fabricação de Biomateriais com a Técnica de Eletrofiação ....</b>              | <b>44</b> |
| <b>3.7</b> | <b>Ácido Ascórbico .....</b>                                                      | <b>47</b> |
| <b>3.8</b> | <b>Métodos de Avaliação da Reparação Cirúrgica do Nervo Ciático .....</b>         | <b>48</b> |
| 3.8.1      | Índice funcional do ciático .....                                                 | 48        |
| 3.8.2      | Análise macroscópica .....                                                        | 49        |
| 3.8.3      | Avaliação histológica e histomorfométrica .....                                   | 50        |
| <b>4</b>   | <b>JUSTIFICATIVA .....</b>                                                        | <b>51</b> |
| <b>5</b>   | <b>OBJETIVOS .....</b>                                                            | <b>52</b> |
| <b>5.1</b> | <b>Geral .....</b>                                                                | <b>52</b> |
| <b>5.2</b> | <b>Específicos .....</b>                                                          | <b>52</b> |
| <b>6</b>   | <b>HIPÓTESES .....</b>                                                            | <b>53</b> |
| <b>7</b>   | <b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                                                  | <b>54</b> |
| <b>7.1</b> | <b>Grupos Experimentais .....</b>                                                 | <b>54</b> |

|     |                                                                                                                                      |    |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 7.2 | Fabricação e Obtenção do Biofilme de Álcool Polivinílico sem e com Ácido Ascórbico .....                                             | 56 |
| 7.3 | Procedimento Cirúrgico para Lesão do Nervo Ciático .....                                                                             | 56 |
| 7.4 | Cuidados Cirúrgicos .....                                                                                                            | 57 |
| 7.5 | Índice Funcional do Ciático (IFC) .....                                                                                              | 57 |
| 7.6 | Coleta do Nervo Ciático .....                                                                                                        | 60 |
| 7.7 | Avaliação macroscópica da reparação cirúrgica .....                                                                                  | 60 |
| 7.8 | Processamento Histológico .....                                                                                                      | 60 |
| 7.9 | Análise Estatística .....                                                                                                            | 61 |
| 8   | FINANCIAMENTO DO PROJETO .....                                                                                                       | 62 |
| 9   | RESULTADOS .....                                                                                                                     | 63 |
| 9.1 | Artigo Original 1 .....                                                                                                              | 63 |
| 9.2 | Artigo Original 2 .....                                                                                                              | 63 |
| 9.3 | Artigo Original 3 .....                                                                                                              | 63 |
| 10  | CONSIDERAÇÕES FINAIS .....                                                                                                           | 64 |
| 11  | RESULTADOS CIENTÍFICOS OBTIDOS .....                                                                                                 | 65 |
| 12  | ATIVIDADES PARALELAS DESENVOLVIDAS PELA ALUNA ..                                                                                     | 67 |
| 13  | DIFICULDADES ENCONTRADAS .....                                                                                                       | 70 |
|     | REFERÊNCIAS .....                                                                                                                    | 71 |
|     | ANEXO A – PARECER DE ALTERAÇÃO DE TÍTULO E METODOLOGIA DA COMISSÃO DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS (CEUA) .....                           | 84 |
|     | ANEXO B – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS .....                                                                     | 85 |
|     | ANEXO C – ARTIGO ORIGINAL 1 – “PROTOCOL OF A NERVE NEUROTOMESIS SCIATIC REPAIR USING POLYVINYL ALCOHOL BIOFILM IN WISTAR RATS” ..... | 86 |
|     | ANEXO D – ARTIGO ORIGINAL 2 – “HISTOMORFOMETRIA DO NERVO CIÁTICO COM BIOFILME DE ÁLCOOL                                              | 98 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                               |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>POLIVINÍLICO E ÁCIDO ASCÓRBICO APÓS UMA NEUROTMESE: ESTUDO EXPERIMENTAL” .....</b>                                                                                                                                                                                         |            |
| <b>ANEXO E – ARTIGO ORIGINAL 3 (PUBLICADO) - “EFFICACY OF TUBING TECHNIQUE WITH BIOMATERIALS COMPARED TO DIRECT COAPTATION TECHNIQUE AFTER PERIPHERAL NEUROTMESES IN NERVE HEALING AND RETURN TO FUNCTIONALITY IN YOUNG ADULT RATS: A SYSTEMATIC REVIEW PROTOCOL” .....</b>   | <b>116</b> |
| <b>ANEXO F – RESUMOS ACEITOS NA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE 2021) .....</b>                                                                                                                                                                       | <b>117</b> |
| <b>ANEXO G – BANCA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO REFERENTE AO TEMA DA PRESENTE PESQUISA (2021) .....</b>                                                                                                                                                                  | <b>119</b> |
| <b>ANEXO H – CO ORIENTAÇÕES DE TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO REFERENTES A PESQUISA DA PRESENTE TESE .....</b>                                                                                                                                                               | <b>120</b> |
| <b>ANEXO I – ARTIGO INTITULADO “STANDARDIZATION OF A TREADMILL EXERCISE INTENSITY PROTOCOL IN RATS WITH DIABETES MELLITUS” PUBLICADO NO JOURNAL OF EXERCISE PHYSIOLOGY ONLINE (2019) .....</b>                                                                                | <b>123</b> |
| <b>ANEXO J – ARTIGO INTITULADO “COMBINED TREADMILL RUNNING AND INSULIN THERAPY FAVORS THE STABILIZATION OF GLYCEMIC METABOLIC PARAMETERS AND AVOIDS INCREASED ACHILLES TENDON RIGIDITY IN DIABETIC RATS” PUBLICADO NO MUSCLES, LIGAMENTS AND TENDONS JOURNAL (2020) .....</b> | <b>124</b> |
| <b>ANEXO K – ARTIGO INTITULADO “TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO FÍSICO EM RATOS COM DIABETES MELLITUS 1 APÓS EXERCÍCIO EM ESTEIRA E INSULINOTERAPIA”, PUBLICADO NA REVISTA BRASILEIRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (2020) .....</b>                                                        | <b>125</b> |

|                                                                                                                                                                                                       |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ANEXO L – ARTIGO INTITULADO “EFEITO DO EXERCÍCIO DE INTENSIDADE MODERADA SOBRE A BIOMECÂNICA DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS DIABÉTICOS”, PUBLICADO NA REVISTA BRASILEIRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA ..... | 126 |
| ANEXO M – CERTIFICADO DE MINISTRANTE E MEMBRO DA COMISSÃO ORGANIZADORA DO CURSO DE DISSECAÇÃO ARTICULAR DO APARELHO LOCOMOTOR-DEPARTAMENTO DE ANATOMIA - UFPE (2018) .....                            | 127 |
| ANEXO N – CO ORIENTAÇÕES DE TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO SEM SER REFERENTE AO TEMA DA PRESENTE TESE .....                                                                                          | 128 |
| ANEXO O – RESUMOS PUBLICADOS EM CONGRESSOS SEM SER REFERENTE AO TEMA DA PESQUISA DA PRESENTE TESE .....                                                                                               | 131 |
| ANEXO P – COMPROVANTE DE REVISORA DE DOIS PERIÓDICOS .....                                                                                                                                            | 135 |
| ANEXO Q – CERTIFICADOS DE PALESTRANTE .....                                                                                                                                                           | 137 |
| ANEXO R – ARTIGO INTITULADO “DO COMPRESSION STOCKINGS IMPROVE THE PERFORMANCE OF STREET RUNNERS?” PUBLICADO NO JOURNAL OF EXERCISE PHYSIOLOGY ONLINE (2018) .....                                     | 139 |
| ANEXO S – ARTIGO INTITULADO “ANALYSIS OF RACE PERFORMANCE ON DIFFERENT FLOORS USING BUMPER TENNIS AND BAREFOOT” PUBLICADO NA MOTRICIDADE (2018) .....                                                 | 140 |
| ANEXO T – CERTIFICADOS DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO NO CENTRO UNIVERSITÁRIO ESTÁCIO DO RECIFE (2019) .....                                                              | 141 |

## 1 APRESENTAÇÃO

---

Essa tese faz parte da linha de pesquisa intitulada Pesquisas experimentais: modelos animais, da área de concentração Neurociências, do Programa de Pós Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco. Os experimentos desenvolvidos nesse estudo também compõem a linha de pesquisa intitulada “Plasticidade neuromuscular: repercussões do diabetes tipo 2 e de lesões nervosas periféricas no aparelho locomotor” do Laboratório de Plasticidade Neuromuscular (LAPLAN), do Departamento de Anatomia, da mesma universidade, sob a coordenação da professora doutora Sílvia Regina Arruda de Moraes.

Os estudos desenvolvidos nesta linha de pesquisa têm como ênfase entender, em modelos experimentais e clínicos as repercussões do uso de terapias inovadoras no processo de reparação dos tecidos nervoso periférico em modelos animais.

Estudos prévios realizados por nosso grupo de pesquisa demonstraram, experimentalmente, que após 60 dias de uma neurotmeze, o segmento do nervo recém-formado tem consideráveis axônios regenerados compatíveis com um nervo intacto, porém apresentam grande imaturidade nas camadas estruturais axonais do nervo (LÓS *et al.*, 2015). Ao utilizar um biopolímero da cana-de-açúcar, observou-se ser um material adequado para ser utilizado na técnica de tubulização, porém não foram encontrados grandes ganhos regenerativos quando comparado aos demais grupos experimentais (DA SILVA *et al.*, 2019).

Pesquisas têm sido realizadas com a finalidade de desenvolver biomateriais para serem aplicados na técnica de tubulização, com o intuito de acelerar o processo de cicatrização do tecido nervoso periférico (CAPKIN *et al.*, 2017; ROQUE *et al.*, 2017; YURIE *et al.*, 2017). Nesse contexto, o álcool polivinílico associado a outros fármacos surge como um material promissor para regeneração de tecidos nervosos (SHOKRGOZAR *et al.*, 2011; SAUDI *et al.*, 2019).

Além disso, o ácido ascórbico tem propriedades cicatrizantes devido a sua regulação sobre a síntese de colágeno tipo I e III (MANELA-AZULAY *et al.*, 2003), os quais parecem estar envolvidos na regeneração dos nervos periféricos (TASSLER; DELLON; CANOUN, 1994; CHERNOUSOV *et al.*, 2008).

Associando, assim os dois recursos acima citados, o presente estudo avaliou a associação do biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico (vitamina C) sobre a

reparação funcional e histomorfométrica após seis semanas da neurotome do nervo ciático em ratos *Wistar*.

Os resultados do presente estudo experimental resultou em três artigos: o artigo 1 intitulado **“Efficacy of tubing technique with biomaterials compared to direct coaptation technique after peripheral neurotmesis in nerve healing and return to functionality in Young adult rats: a systematic review protocol”**, publicado no ano de 2020 no **Systematic Reviews** (Qualis B1 para a área de medicina II), onde foi fornecido um protocolo para uma revisão sistemática que irá avaliar a eficácia dos biomateriais utilizados na técnica de tubulização no processo de cicatrização, recuperação histológica e funcional após neurotome periférica em ratos jovens; o artigo 2 intitulado **“Protocol of a nerve neurotmesis sciatic repair using polyvinyl alcohol biofilm in *Wistar* rats”**, aceito no **Brazilian Neurosurgery Journal** (Qualis B5 para a área de medicina II). Neste estudo, foi produzido e avaliado um protocolo para a técnica de tubulização utilizando biofilme de álcool polivinílico após neurotome do nervo ciático em ratos *Wistar* submetidos à neurotome do nervo ciático seguida de sutura dos cotos nervosos envolvidos pelo biofilme de álcool polivinílico. A avaliação descritiva da técnica cirúrgica foi realizada após o período experimental por meio de um questionário desenvolvido neste estudo; o artigo 3 intitulado **“Biofilme de álcool polivinílico e ácido ascórbico acelera a regeneração nervosa após uma neurotome: estudo experimental”**, o qual está em fase de tradução e escolha da revista. Neste último artigo, foi verificado a aplicabilidade do biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico na recuperação funcional e histomorfométrica do tecido nervoso periférico.

Essa tese foi elaborada atendendo às normas vigentes do Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da UFPE, contendo as seguintes seções: (1) introdução, (2) revisão da literatura, contendo uma síntese dos temas importantes para compreensão do objeto do estudo; (3) Justificativa da pesquisa; (4) hipóteses e (5) objetivos (6) materiais e métodos, (7) resultados, apresentados sob a forma de três artigos originais; (8) considerações finais, sumarização das principais conclusões dos estudos; referências, apêndices e anexos.

## 2 INTRODUÇÃO

---

Os nervos periféricos são alvos constantes de lesões de origem traumática que resulta na interrupção da transmissão de impulsos nervosos e perda ou diminuição da sensibilidade e função muscular no território inervado, afetando indivíduos de todas as idades, podendo resultar na incapacidade do paciente acometido e representando um dos grandes problemas econômicos e sociais na área da saúde (MIRANDA; TORRES, 2016; MALANOTTE *et al.*, 2017).

Após uma lesão nervosa ocorre uma sequência de eventos importantes como: produção imediata de disparos de potenciais de ação, seguida por descargas anormais que podem continuar por um longo período de tempo sobre as fibras nervosas intactas e danificadas; secreção de neuropeptídeos e mediadores pró-inflamatórios no local da lesão e no sistema nervoso central; ativação de nociceptores e sensibilização de nociceptores silenciosos através da liberação de produtos inflamatórios ou da expressão de novos receptores ou canais iônicos; mudanças sobre a expressão gênica e a expressão de vários peptídeos e receptores; brotamento anormal de fibras periféricas e centrais; e mudanças no campo receptivo e modalidades sensoriais das fibras periféricas danificadas e intactas (NAVARRO; VIVO; VALERO-CABRE, 2007).

Em condições experimentais, a recuperação das lesões nervosas periféricas é estudada principalmente através de técnicas de histomorfometria (ROQUE *et al.*, 2017). Apesar dessa técnica ser útil para estudar o processo de regeneração do nervo, elas geralmente não permitem a avaliação da recuperação funcional. Neste sentido, as pesquisas dedicadas ao acompanhamento da reparação de lesões nervosas necessitam conciliar técnicas de avaliações motoras e histomorfométricas.

Sabe-se que o pior quadro de lesão do nervo periférico é aquele em que ocorre ruptura axonal com descontinuidade do endoneuro, podendo ou não ter ruptura do perineuro e epineuro (neurotmese), o qual requer invariavelmente tratamento cirúrgico (MOHAMMADI; AMINI; CHAREHSAZ, 2012; PERRETTA; GREEN, 2017; YOUSEFI *et al.*, 2019). Diante disso, estudos na área de engenharia tecidual têm sido realizados com a finalidade de desenvolver materiais biodegradáveis, biocompatíveis, de baixa citotoxicidade, maleabilidade e tempo adequado de decomposição que possam ser utilizados como suporte, a fim de acelerar o processo de cicatrização do tecido nervoso periférico (CAPKIN *et al.*, 2017; ROQUE *et al.*, 2017; YURIE *et al.*, 2017).

Uma técnica que vem ganhando destaque na área da saúde é a Eletrofiação, a qual é capaz de gerar nanofibras semelhantes aos componentes da matriz extracelular, com diâmetro que pode variar de micrômetros a nanômetros, obtidas pela aplicação de campo elétrico forte em solução de polímero ou massa fundida (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

Outra vantagem da utilização do biofilme proveniente da eletrofiação é a possibilidade da incorporação de fármacos a sua estrutura com subsequente liberação controlada em quantidades pré-definidas em um determinado período de tempo (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Resultados positivos dessa técnica foram observados sobre a cicatrização de feridas em ratos diabéticos quando utilizado sob a forma de nanofibra de álcool polivinílico (PVA) com quitosana (MAJD *et al.*, 2016).

Devido à importância do ácido ascórbico (AA), comumente conhecido como Vitamina C, sobre a cicatrização dos tecidos (MOORES, 2013), a incorporação dessa vitamina ao biofilme pode ser capaz de melhorar o processo cicatricial de uma neurotme, minimizando o comprometimento funcional e, conseqüentemente, favorecendo a população afetada por esse tipo de lesão a um rápido retorno às suas atividades.

No entanto, como este biofilme associado a fármacos ainda não foi utilizado no tecido nervoso periférico pós neurotme, faz-se necessários estudos experimentais com objetivo de verificar sua aplicabilidade na cicatrização desse tecido para posteriormente ser utilizado em humanos. Portanto, por ser a neurotme um problema clínico significativo em todo o mundo, o presente estudo, de caráter inovador, pretende avaliar se a utilização do biofilme de PVA com AA poderá acelerar a reparação funcional e histomorfométrica do nervo ciático em ratos *Wistar*.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

---

#### 3.1 Sistema Nervoso Periférico

O sistema nervoso (SN) é didaticamente distribuído em sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico (SNP) (MOSKOW *et al.*, 2019). O SNC é constituído pelo encéfalo e medula espinal e é responsável pelo processamento e integração de informações e tomada de decisão, enquanto o SNP é responsável pela conexão do SNC com os demais sistemas orgânicos, sendo constituído pelos gânglios periféricos, nervos e terminações nervosas. (TIAN; PRABHAKARAN; RAMAKRISHNA, 2015; WIERINGA *et al.*, 2018).

As duas principais células do SN são os neurônios e as neuroglias (PERRETTA; GREEN, 2017; ZAREH *et al.*, 2019). Os neurônios são células excitáveis e altamente especializadas, possuem os dendritos, um corpo celular e axônio, os quais tem a finalidade de receber, processar e transmitir impulsos nervosos, respectivamente (PERRETTA; GREEN, 2017; DONATO *et al.*, 2019).

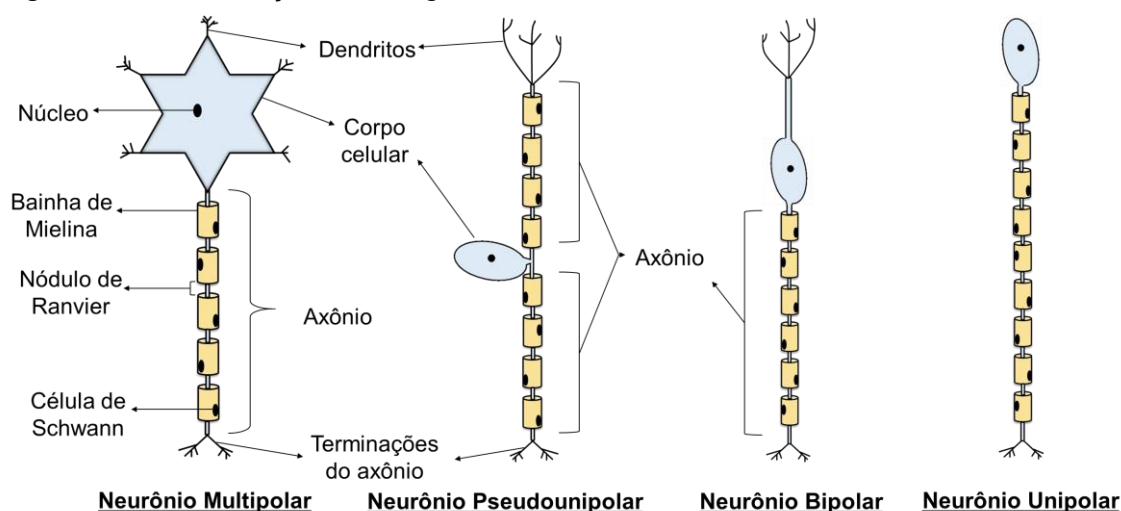
Morfologicamente os neurônios podem ser classificados em neurônios multipolares, os quais apresentam mais de dois prolongamentos celulares e representam a maioria dos neurônios no ser humano; neurônios bipolares, os quais tem um dendrito e um axônio e são encontrados principalmente na vida embrionária, bem como nos gânglios coclear e vestibular, na retina e na mucosa olfatória; neurônios pseudounipolares, os quais apresentam apenas um prolongamento próximo ao corpo celular, mas que se divide em dois, o estímulo captado pelos dendritos, neste tipo de neurônio, passa diretamente para o terminal do axônio, sem passar pelo corpo celular; neurônios unipolares apresentam o corpo celular e o axônio, não existindo dendritos, encontrados apenas no tecido embrionário (Figura 1) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; HEINBOCKEL; CSOKA, 2019).

Já as neuroglias são as células de suporte e nutrição do SN, são mais abundantes que os neurônios e possuem capacidade de divisão. No SNC existem os astrócitos (protoplasmáticos e fibrosos), os quais regulam os neurônios e o ambiente circunvizinho, secretam fatores de crescimento e citocinas relacionadas à imunidade; as micróglias que fagocitam patógenos e resíduos no local da lesão; e os oligodendrócitos que são as células mielinizantes do SNC. Enquanto no SNP há as Células de Schwann (CS's), que são capazes de migrar e fagocitar resíduos de

mielina, bem como estimular a formação de mielina nova, participando, assim, na regeneração do SNP (BRYCE, 2001; HEINBOCKEL; CSOKA, 2019).

A bainha de mielina, por sua vez, é um isolante elétrico formado pela fusão da membrana plasmática da célula de Schwann no SNP ou pelos oligodendrócitos no SNC. Está presente ao redor do axônio exceto nos nódulos de Ranvier (Figura 1), permitindo o aumento da velocidade da condução elétrica, pois os potenciais de ação saltam rapidamente de um nódulo para outro (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; PERRETTA; GREEN, 2017).

**Figura 1** – Classificação morfológica dos neurônios.



**Fonte:** De autoria própria.

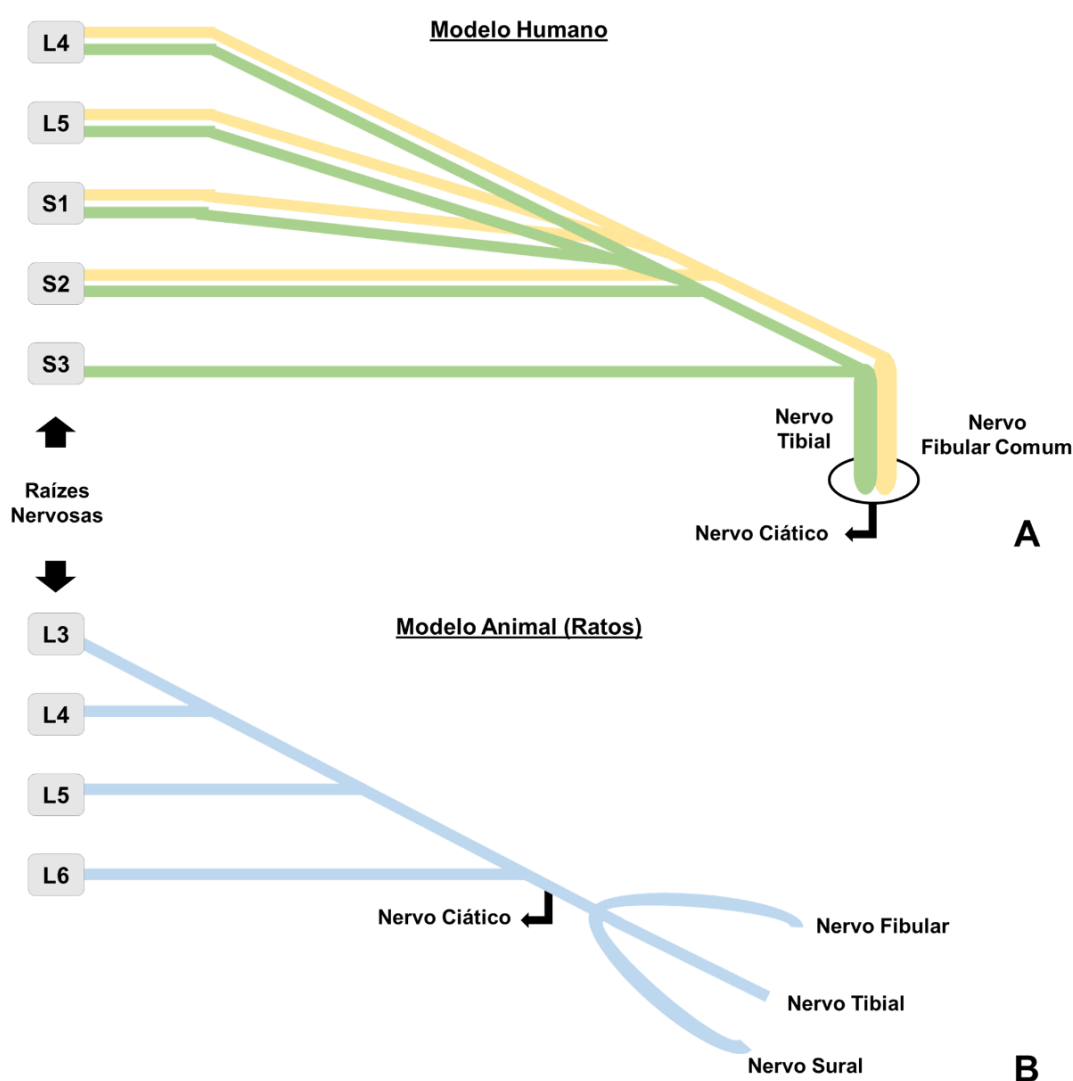
No SNP, funcionalmente, os neurônios são classificados em motores, cuja função é a de controlar os órgãos efetores, tais como glândulas exócrinas e endócrinas e fibras musculares, possuindo seus corpos celulares localizados na medula espinal; ou sensitivos, que recebem estímulos sensoriais do meio ambiente e do próprio organismo e tem seus corpos celulares aglomerados próximo a medula espinal, formando os gânglios sensitivos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Cada axônio juntamente com sua bainha de mielina constitui uma fibra nervosa (Figura 2), podendo ser classificada, a depender da presença ou não desta bainha, em mielínicas ou amielínicas, respectivamente. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; PERRETTA; GREEN, 2017). Cada fibra nervosa é recoberta por uma membrana conjuntiva, o endoneuro, o qual é constituído por tecido conjuntivo frouxo (colágeno tipo III e poucos fibroblastos) formado pelas células de Schwann. O conjunto das fibras



juntos inervam na coxa os músculos semitendíneo, semimembráneo e bíceps femoral. Após penetrar na fossa poplíteia, as suas duas porções se bifurcam e enquanto o nervo tibial inerva todo o compartimento posterior da perna, o nervo fibular inerva o compartimento anterior e lateral da perna (SUAID *et al.*, 2016).

**Figura 3** – Modelo esquemático das raízes nervosas e divisões do nervo ciático em modelo humano (A) e em ratos (B).



Fonte: De autoria própria.

Por outro lado, em ratos, o modelo animal mais comumente utilizado nos estudos experimentais, os nervos são, em sua maioria, formados a partir do segmento medular de L3 a L6 (ASATO *et al.*, 2000). Desde a sua origem no forame isquiático, ele é constituído por um único fascículo que segue um caminho caudal em direção à fossa poplíteia, onde se divide em três ramos: os nervos tibial, fibular comum e sural

(Figura 3B) (SUAID *et al.*, 2016). Neste animal, o nervo tibial inerva os músculos gastrocnêmio medial, gastrocnêmio lateral, tibial, sóleo, flexor longo dos dedos (BADIA *et al.*, 2010), o nervo fibular comum supre os músculos anteriores, bem como os músculos peroneais da pata traseira (HENNIG, 1987) enquanto as fibras motoras do nervo sural inervam os músculos plantares (PEYRONNARD; CHARRON, 1982).

### 3.3 Tipos de Lesões nos Nervos Periféricos

De acordo com a natureza, as lesões são classificadas em traumática, não traumática e cirúrgica (SEBBEN *et al.*, 2011; DODLA *et al.*, 2019).

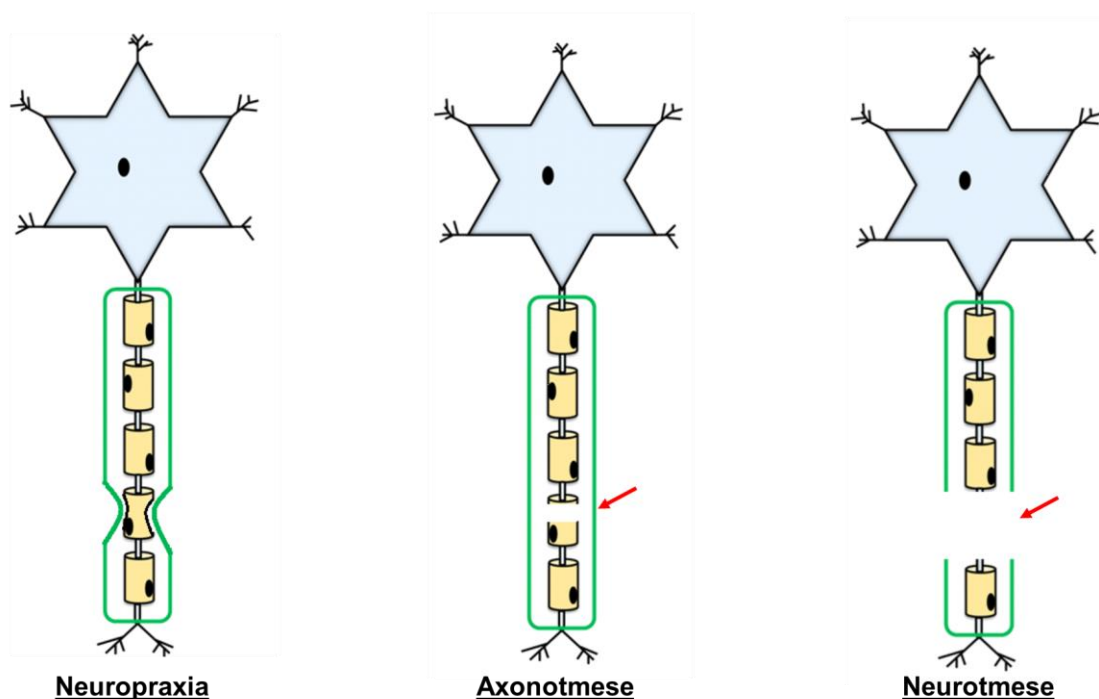
As lesões traumáticas do nervo resultam de colisões, acidentes de veículos a motor, ferimentos a bala, fraturas, lacerações ou outras formas de trauma penetrante, enquanto que as não traumáticas são atribuídas principalmente à compressão e adesão do nervo e as de origem cirúrgica são secundárias à excisão tumoral. (SEBBEN *et al.*, 2011; DODLA *et al.*, 2019).

Com a finalidade de avaliar o grau da lesão nervosa periférica e sua potencialidade de reparo, foram desenvolvidas algumas escalas, como a de Seddon (SEDDON, 1943), de Sunderland (SUNDERLAND, 1951) e Ray (RAY; MACKINNON, 2010), sendo a primeira a mais utilizada, na qual classifica a lesão em neuropraxia, axonotmese ou neurotmeze (Figura 4), conforme o grau de comprometimento dos componentes neurais (SEDDON, 1943).

A neuropraxia é uma lesão leve, com perda de função motora e sensorial temporária devido a preservação estrutural das fibras nervosas; na axonotmese há ruptura dos axônios, mas com preservação dos revestimentos nervosos, sendo considerada moderada; e como lesão mais grave tem-se a neurotmeze, na qual ocorre a ruptura completa do nervo e seus revestimentos, necessitando invariavelmente de tratamento cirúrgico (SEDDON, 1943; MATEJČÍK *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2019) (Tabela 1).

Aproximadamente após 48 horas de uma axonotmese e neurotmeze ocorre uma série de reações no corpo celular e no axônio, tanto no coto proximal quanto distal à lesão que são responsáveis pela regeneração nervosa (Figura 5) (MODRAK *et al.*, 2019).

**Figura 4** – Representação esquemática das lesões nervosas periféricas segundo a escala de Seddon (1943). O endoneuro está sendo representado pela linha verde. As setas vermelhas indicam o local da lesão e a estrutura acometida.



Fonte: De autoria própria.

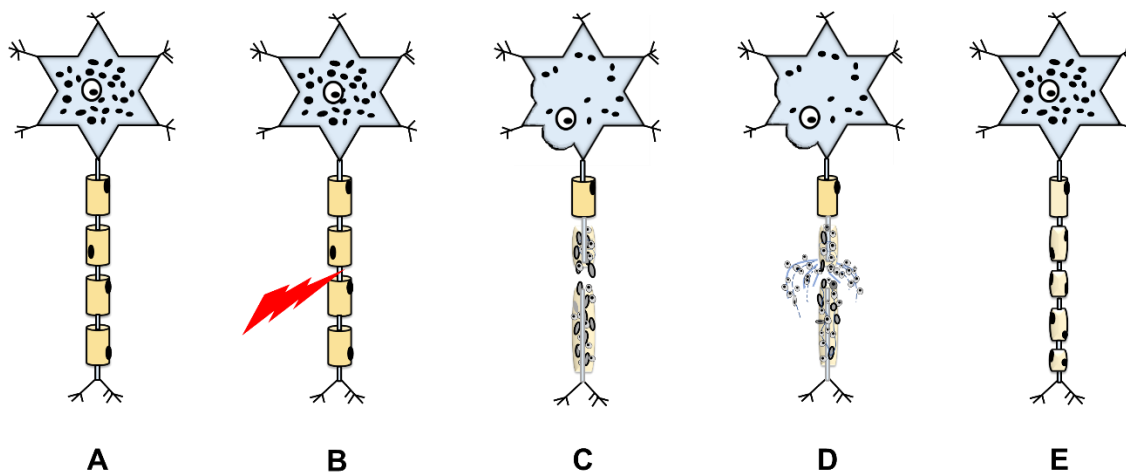
**Tabela 1** – Classificação das lesões nervosas periféricas segundo a escala de Seddon (1943).

| Classificação | Descrição                                                                                                | Etiologia                                                                                                                                                                          | Reparo                    |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Neuropraxia   | Bloqueio fisiológico, transitório, da condução nervosa, sem alterações estruturais.                      | Feridas abertas, tração, lesões contundentes diretas, compressão, medicamentos, congelamento, compressão experimental.                                                             | Espontâneo                |
| Axonotmese    | Axônio cortado com o endoneuro e as células de Schwann intactos, com subsequente degeneração Walleriana. | Feridas abertas, lesões contundentes diretas (fraturas e luxações), tração, compressão repentina ou prolongada, intoxicação química local, congelamento, esmagamento experimental. | Pode ser espontâneo       |
| Neurotmese    | Fragmentação do axônio, endoneuro e membrana basal, podendo haver a presença do epineuro.                | Feridas abertas, lesões contundentes diretas, tração, envenenamento local.                                                                                                         | Invariavelmente cirúrgico |

Fonte: De autoria própria.

No corpo celular ocorre a cromatólise, um processo de aumento do seu volume, vacuolização do citoplasma e dissolução dos corpúsculos de Nissl (Figura 5C). O seguimento distal dos axônios lesionados sofre o processo de Degeneração Walleriana (degeneração anterógrada), onde há a divisão mitótica das CS's a fim de fagocitar a bainha de mielina e formar as Bandas de Bungner, um cordão de CS's essenciais para a promoção de um ambiente propício para o crescimento axonal e para o fornecimento de fatores neurotróficos (Figura 5C). No coto axonal proximal também existe o processo de degeneração (retrógrada) e, em seguida, surgem diversos brotos axonais que avançam entre as CS's (Figura 5D), ao longo do tempo alguns brotos se degeneram enquanto apenas um persiste e cresce distalmente, guiados pelas Bandas de Bugner. Ao final do processo, os comprimentos dos segmentos internodais e o diâmetro no axônio regenerado são menores (Figura 5E) (POPA *et al.*, 2016; MATEJČÍK *et al.*, 2019; MODRAK *et al.*, 2019).

**Figura 5** – Degeneração e regeneração de um nervo periférico. A – Nervo intacto; B- Neurotmeze; C – cromatólise, Degeneração Walleriana e Degeneração retrógrada; D – Brotamento do coto proximal; E – Nervo regenerado, porém com segmentos intermodais e com diâmetro axonal reduzidos.



Fonte: De autoria própria.

### 3.4 Importância dos Fatores de Crescimento no Sistema Nervoso Periférico

Os fatores de crescimento são polipeptídeos que desempenham importante papel na manutenção da sobrevivência celular, na estimulação da migração, proliferação e diferenciação de vários tipos de células envolvidas na regeneração nervosa (PFISTER *et al.*, 2007).

Eles podem ser classificados em fatores neurotróficos e em citocinas, onde os primeiros participam principalmente no desenvolvimento neuronal e na plasticidade do adulto, enquanto as citocinas possuem funções-chave em várias situações patológicas, como trauma, respostas imunológicas e inflamação (KLIMASCHEWSKI; HAUSOTT; ANGELOV, 2013), havendo também evidências do importante papel das citocinas na manutenção das condições fisiológicas do sistema nervoso (DUBOVÝ; JANČÁLEK; KUBEK, 2013).

O primeiro fator neurotrófico descoberto foi o fator de crescimento neural (NGF) (CHIRCHIGLIA *et al.*, 2020), o qual é essencial na vida embrionária na sobrevivência de neurônios durante a diferenciação do sistema nervoso, regula o crescimento do axônio e a formação de sinapses, além de influenciar a síntese de neurotransmissores. Já na vida adulta ele está intimamente relacionado com a plasticidade e regeneração neuronal, visto que a produção local de NGF pelas células de Schwann regula o tamanho do corpo celular, brotamento axonal e arborização dendrítica (MINNONE; DE BENEDETTI; BRACCI-LAUDIERO, 2017).

Outros fatores neurotróficos como as Neurogulinas, Fator Neurotrófico Derivado de Cérebro (BDNF), Neurotrofina 3 (NT-3), a Neurotrofina 4/5 (NT - 4/5), Fator de Crescimento associado a Insulina (IGF), Fator de Crescimento de Fibroblasto (FGF), Fator Neurotrófico Ciliar (CTNF) e moléculas da matriz extracelular como a laminina também darão suporte ao crescimento axonal (IDE, 1996; BOYD; GORDON, 2003; NAVARRO; VIVO; VALERO-CABRE, 2007; GU *et al.*, 2011; RAIMONDO *et al.*, 2011).

Dentre as citocinas destacam-se: o Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleucina 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), IL-1 $\beta$ , Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 18 (IL-18), Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos (GM-CSF) e o Interferon-  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Já em relação as quimiocinas, as mais citadas na literatura são a Proteína Quimioatraente de Monócito 1 (MCP-1) e o Fator Inibidor de Leucemia (LIF). Essas moléculas são liberadas em diversas fases do processo regenerativo, estando envolvidas com o crescimento axonal e com a atração de macrófagos para o local da lesão (KÜRY; STOLL; MÜLLER, 2001; ROTSHENKER, 2011).

Os macrófagos, por sua vez são mediadores essenciais da inflamação e o seu recrutamento para o local da lesão inicia o processo de fagocitose dos fragmentos de axônio e mielina no coto nervoso distal, o qual contribui para o reparo adequado do tecido nervoso. Os macrófagos também promovem a proliferação celular, maturação

celular, resolução da inflamação e angiogênese. Devido sua natureza pró e anti-inflamatória, eles representam um alvo terapêutico para o tratamento da lesão do sistema nervoso periférico (LIU *et al.*, 2019).

### **3.5 Técnicas de Reparação das Neurotmeses**

A depender da idade do paciente, do mecanismo de lesão, da proximidade da lesão com o copo celular, do intervalo de tempo entre a lesão e a cirurgia e, principalmente, da extensão dos danos na matriz extracelular do SNP, os nervos periféricos tem grande capacidade intrínseca de se regenerar (FARONI *et al.*, 2015; TREHAN; MODEL; LEE, 2016; NADI; MIDHA, 2018; MATEJČÍK *et al.*, 2019).

No entanto, após uma neurotmele para que haja o avanço dos axônios do cone de crescimento até o tecido alvo e resulte numa recuperação funcional, o tratamento invariavelmente será cirúrgico (DODLA *et al.*, 2019; YOUSEFI *et al.*, 2019).

Devido ao aumento das lesões nervosas provenientes da Segunda Guerra Mundial, novas técnicas, materiais e instrumentos microcirúrgicos foram desenvolvidos (DODLA *et al.*, 2019), tais como reparo direto, enxertos nervosos (auto enxertos e alo enxertos), tubulização biológica (músculos, vasos sanguíneos, tendões), tubulização natural e tubulização sintética (PATEL; LYON; HUANG, 2018; DODLA *et al.*, 2019; MOSKOW *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019) (Figura 6).

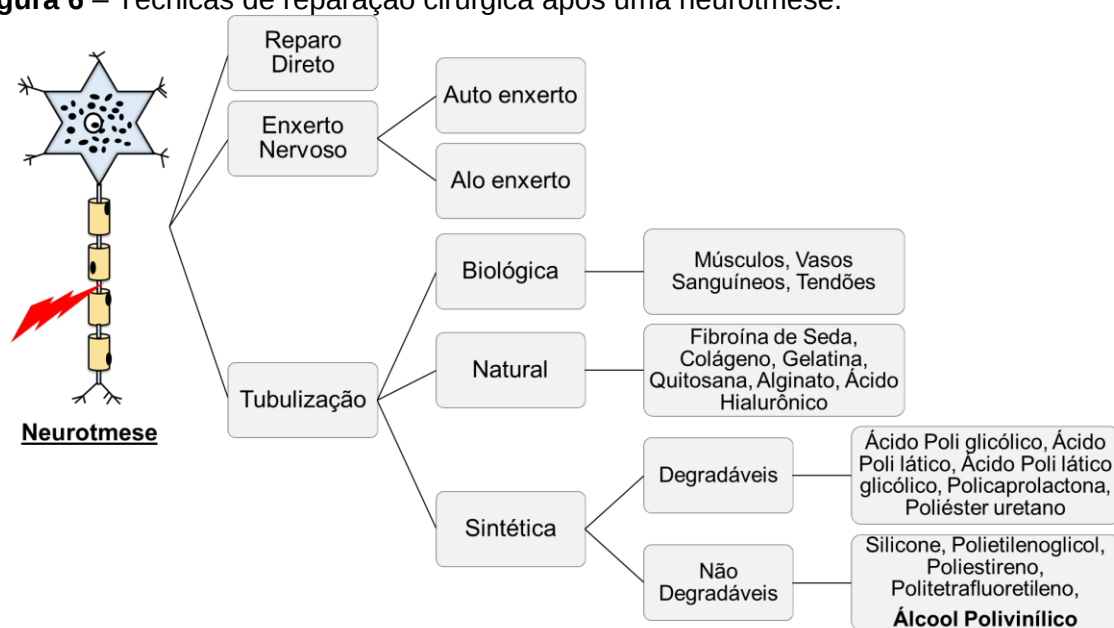
Por outro lado, como ressecções adequadas do tecido nervoso danificado e um reparo sem tensão são os elementos mais importantes no reparo do nervo (PERRETTA; GREEN, 2017), antes da reparação cirúrgica é de extrema importância avaliar as indicações, benefícios e limitações de cada técnica para garantir uma boa recuperação nervosa (DA SILVA *et al.*, 2019).

#### **3.5.1 Reparo direto**

O reparo direto, também denominado de neurorrafia término-terminal, a qual é a sutura do nervo seccionado, foi a primeira técnica cirúrgica desenvolvida para a reparação de lesões do nervo periférico, datando do século XVIII (FLORES; LAVERNIA; OWENS, 2000).

Na literatura são descritos três tipos de sutura para a reparação direta: sutura epineural, fascicular ou perineural e epi perineural (Figura 7) (NADI; MIDHA, 2018; BERIS *et al.*, 2019).

**Figura 6** – Técnicas de reparação cirúrgica após uma neurotmeze.

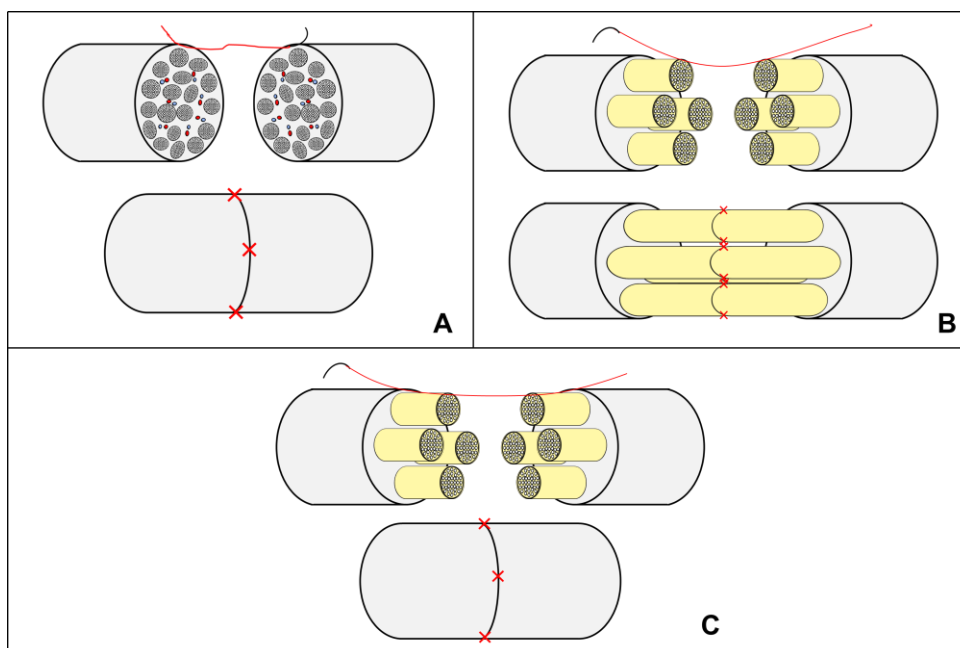


**Fonte:** De autoria própria.

Embora a sutura epineural seja uma intervenção fácil, pode-se notar um direcionamento incorreto das fibras nervosas em regeneração, pois os vasos sanguíneos epineurais são usados como orientação para o alinhamento fascicular. Entretanto, o método fascicular de sutura apresenta mínimo desvio da direção do nervo e consiste em uma técnica com maior tempo de operação e maior reação tecidual no local da sutura. Por outro lado, em alguns casos, utiliza-se a sutura epi perineural, onde a agulha passa pelo epineuro e pelo perineuro do grupo de fascículos nas proximidades ao mesmo tempo, permitindo uma melhor orientação do nervo (HIRASAWA, 1996; BERIS *et al.*, 2019).

Embora a sutura epineural seja uma intervenção fácil, pode-se notar um direcionamento incorreto das fibras nervosas em regeneração, pois os vasos sanguíneos epineurais são usados como orientação para o alinhamento fascicular. Entretanto, o método fascicular de sutura apresenta mínimo desvio da direção do nervo e consiste em uma técnica com maior tempo de operação e maior reação tecidual no local da sutura. Por outro lado, em alguns casos, utiliza-se a sutura epi perineural, onde a agulha passa pelo epineuro e pelo perineuro do grupo de fascículos nas proximidades ao mesmo tempo, permitindo uma melhor orientação do nervo (HIRASAWA, 1996; BERIS *et al.*, 2019).

**Figura 7** – Reparação nervosa utilizando a sutura epineural (A), fascicular ou perineural (B) e epi perineural (C).



Fonte: De autoria própria.

Além disso, com a finalidade de garantir o suprimento sanguíneo ideal, a reparação dos tecidos moles e mínima tensão das extremidades nervosas, o reparo direto deve ser utilizado apenas nas lesões em que há interrupção na continuidade do epineuro, sem perda de tecido nervoso e com pequeno espaço entre os cotos neurais (RICCIO *et al.*, 2019), caso contrário haverá proliferação excessiva de tecido cicatricial fibroso, descolamento de suturas nervosas ou a formação de neuroma no local da reparação, que impedem o correto crescimento axonal, bloqueiam a regeneração axonal e, conseqüentemente, retardam a recuperação funcional do indivíduo (SCHMIDT; LEACH, 2003; RICCIO *et al.*, 2019).

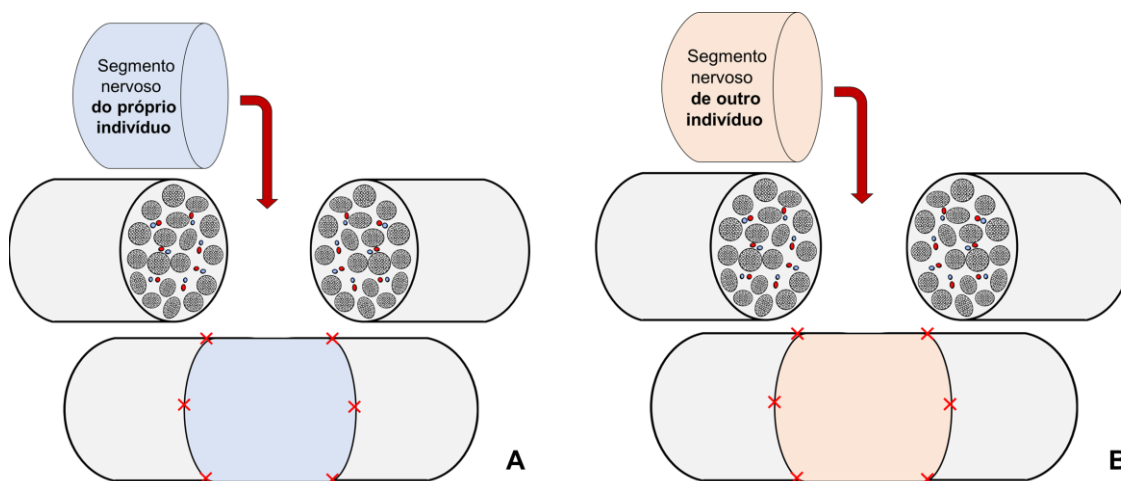
Neuroma é definido como um crescimento localizado ou um tumor de tecido nervoso, proveniente de uma regeneração desorganizada ou incompleta de um nervo após sua lesão. Devido à deposição de tecido cicatricial pelos fibroblastos, os neuromas são firmes, bulbosos, muitas vezes sensíveis à palpação e podem ter dor associada, junto com dormência ou parestesias. A história de lesão nervosa ou cirurgia, dor neuropática, sintomas na distribuição anatômica do nervo e padrões desorganizados de axônios acompanhados de fibroblastos em proliferação, células de Schwann e vasos sanguíneos na análise microscópica são achados característicos de neuroma (ARNOLD *et al.*, 2019; NEUMEISTER; WINTERS, 2020).

### 3.5.2 Enxertos nervosos (auto enxertos e alo enxertos)

Para lacunas nervosas maiores que 2,5 cm, desde o ano de 1870, o auto enxerto nervoso, uma técnica em que um segmento de um outro nervo do próprio indivíduo é usado para preencher uma porção lesada, é considerada o padrão ouro na reparação cirúrgica (Figura 8A) (DELLON; DELLON, 1993; BHANGRA *et al.*, 2016; DODLA *et al.*, 2019).

A seleção do nervo doador é baseada na minimização dos déficits pós-operatório e correspondência de tamanho com a lesão nervosa, sendo mais comumente utilizados os nervos sural, braquial e nervos cutâneos. Nas lesões dos nervos principais da extremidade superior, tais como os nervos axilar, radial, ulnar, mediano e musculocutâneo preconiza-se utilizar o nervo sural como doador, enquanto que para lesões em nervos menores, utiliza-se os nervos cutâneos ipsilaterais da extremidade superior como doadores (WOLFE SCOTT *et al.*, 2011; PEDERSON, 2014).

**Figura 8** – Reparação nervosa utilizando a técnica de auto enxerto (A) e aloenxerto (B).



Fonte: De autoria própria.

Apresenta como vantagem a baixa taxa de rejeição tecidual e a presença das células de Schwann e da lâmina basal do tubo endoneural (BERIS *et al.*, 2019) permitindo o direcionamento do crescimento axonal, e aumentando, assim, as chances de recuperação da função motora (WIERINGA *et al.*, 2018).

Por outro lado, a depender do tamanho do enxerto do nervo doador e do nervo lesado, pode ser necessária a criação de uma ou mais lesões nervosas, o que pode

resultar em perda de função, perda sensorial, formação de neuroma, dor e aumento da sensibilidade ao frio na região doadora, além de ser um procedimento de longa duração e de alto custo (TREHAN; MODEL; LEE, 2016; PERRETTA; GREEN, 2017).

Devido as desvantagens do auto enxerto e dos avanços na pesquisa médica, tem sido crescente a utilização do alo enxerto, o qual consiste num segmento nervoso decelularizado e pré-degradado enzimaticamente proveniente de um outro indivíduo, normalmente cadáveres (Figura 8B) (WIERINGA *et al.*, 2018; MEHEDINTU-IONESCU; STEFANESCU; JECAN, 2019), o qual é suturado aos cotos nervosos, por meio de suturas epineurais (PERRETTA; GREEN, 2017).

A descelularização é um processo que remove ou destrói as células presentes em um tecido, impedindo a forte resposta imunológica que o implante de tecido causaria no hospedeiro e ainda preservando os elementos estruturais do doador (WIERINGA *et al.*, 2018), incluindo a estrutura física do epineuro, fascículos e tubos endoneurais (PERRETTA; GREEN, 2017).

Vários comprimentos e diâmetros estão disponíveis, tornando-os convenientes para os cirurgiões, visto que são preservados por meio do congelamento (PERRETTA; GREEN, 2017; DODLA *et al.*, 2019). No entanto, foi demonstrado que, se os alo enxertos são preservados por muito tempo, a sua capacidade de regeneração fica comprometida (GULATI, 1996; EVANS *et al.*, 1999). Além disso, a fim de evitar rejeição tecidual do tipo corpo estranho os pacientes tem que utilizar drogas imunossupressoras por longos períodos de tempo, tornando-os mais vulneráveis a outras complicações (BELANGER *et al.*, 2016).

### **3.5.3 Técnica de tubulização**

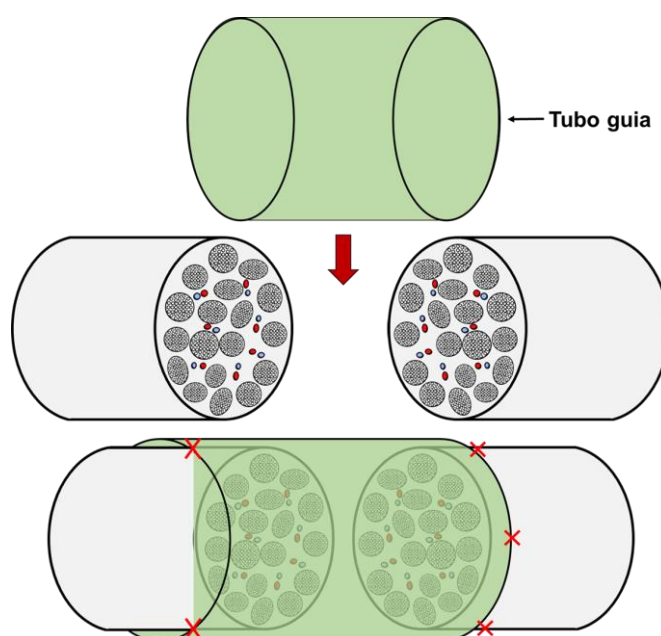
Embora o auto enxerto nervoso seja considerado o padrão ouro na reparação das lesões nervosas, a técnica de tubulização tem sido estudada desde 1980, e consiste na sutura dos cotos neurais no interior do tubo guia (Figura 9) (BRUNELLI *et al.*, 1993).

Os principais benefícios são a orientação adequada dos cotos axonais em direção ao coto distal ou aos tecidos alvos, prevenção de neuromas, difusão de fatores neurotróficos secretados pelo nervo danificado, acúmulo de componentes da matriz extracelular e inibição da infiltração de fibroblastos, reduzindo a formação do tecido cicatricial no local da lesão (ADAMS *et al.*, 2017). Esse processo permite, em última instância, a formação de nova matriz extracelular sobre a qual os fibroblastos, vasos

sanguíneos e células de Schwann podem migrar e fornecer um microambiente adequado para uma regeneração nervosa bem-sucedida (KONOFAS; VER HALEN, 2013).

Diversos materiais são utilizados na confecção dos tubos guia para o processo de regeneração nervosa, dentre eles destacam-se os de origem biológica (músculos, vasos sanguíneos, tendões) e os de origem natural e sintética (MOSKOW *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019).

**Figura 9** – Reparação nervosa utilizando a técnica de tubulização.



**Fonte:** De autoria própria.

Para que haja eficácia funcional, os condutos de origem natural e sintética devem ter uma adequada taxa de degradação (se for baixa ou alta formará tecido cicatricial em excesso ou irá comprimir o nervo regenerado, respectivamente); alta porosidade ( $> 80\%$  - para permitir a passagem de nutrientes para dentro do conduto e inibir a infiltração de tecidos indesejados); uma superfície interna lisa (para que as células de regeneração se fixem nele de forma regular); um diâmetro correspondente ao diâmetro dos cotos distais e proximais e, permitir o preenchimento com fatores biológicos, tais como fatores de crescimento, fibrina e moléculas presentes na matriz extracelular, incluindo fibronectina e colágeno, para melhorar a regeneração axonal (HOUSHYAR; BHATTACHARYYA; SHANKS, 2019).

### **3.5.3.1 Tubulização biológica**

#### **❖ Músculos**

A partir de 1983 deu-se início as primeiras pesquisas utilizando condutos provenientes de músculo esquelético. Essa técnica apresenta a vantagem da ampla disponibilidade deste tecido no corpo humano e de favorecer a regeneração das fibras nervosas, pois por meio da lâmina basal e dos componentes da matriz extracelular muscular há o direcionamento do crescimento do nervo. No entanto, há a desvantagem de se ter um músculo doador, o qual pode ser do próprio paciente ou de um outro indivíduo e, ainda há o risco das fibras nervosas crescerem no tecido muscular (IDE *et al.*, 1983).

Além disso, estudos apontam que a eficácia desta técnica é baixa em lacunas nervosas maiores que três centímetros (MEEK; VAREJÃO; GEUNA, 2004; SIEMIONOW; BOZKURT; ZOR, 2010; RICCIO *et al.*, 2019).

#### **❖ Vasos Sanguíneos**

Embora o primeiro conduto de pequenos segmentos de artérias tenha sido utilizado a partir de 1981, esta técnica não tem sido adotada no cenário clínico (RICCIO *et al.*, 2019), pois a rigidez das paredes arteriais tem sido associada a pressão excessiva nos cotos axonais, levando a hipóxia do nervo e, conseqüentemente, dificuldade na regeneração nervosa (ALEXOPOULOS *et al.*, 2019).

Por outro lado, os condutos de veias autólogas propiciam o crescimento axonal. No entanto, devido a espessura fina das paredes desses vasos, este tipo de conduto apenas pode ser utilizado em lacunas nervosas curtas (< 10mm), pois com a constrição do tecido em regeneração pode haver o colapso destes condutos (DODLA *et al.*, 2019).

A fim de evitar o colabamento dos condutos biológicos e permitir sua utilização em lacunas maiores (PERRETTA; GREEN, 2017; DODLA *et al.*, 2019), tem-se utilizado conduto composto por músculo e veia desnaturados, o qual foi capaz de potencializar os efeitos sobre a recuperação funcional e regeneração das fibras nervosas, quando comparados apenas ao conduto muscular (MOHAMMADI *et al.*, 2016).

#### **❖ Tendões**

Devido ao arranjo longitudinal dos feixes de colágeno, os tendões são capazes de formar enxertos favoráveis para a regeneração do nervo e, ao contrário dos demais condutos naturais, são capazes de preencher lacunas de até um centímetro (BELANGER *et al.*, 2016).

Embora seja um material biológico abundante, com perda limitada de função próximo ao local doador, as desvantagens de se utilizar condutos provenientes do tendão incluem a dissecação cirúrgica extensa, imobilização pós-operatória, formação de cicatrizes, desequilíbrio da função tendínea no local, com consequente perda de força muscular (LOEWENSTEIN; ADKINSON, 2019).

### **3.5.3.2 Tubulização natural**

O desenvolvimento de novos materiais que correspondam ou excedam o desempenho funcional dos auto enxertos e alo enxertos nervosos, bem como da tubulização biológica (DODLA *et al.*, 2019) surgiram com o intuito de impedir as alterações funcionais, a reação tecidual e a fibrose no local da sutura no local doador (DOOLABH; HERTL; MACKINNON, 1996; BIAZAR *et al.*, 2010; ADAMS *et al.*, 2017).

Esses avanços levaram a fabricação de condutos formados por substâncias celulares capazes de fornecer adequada sinalização biomolecular e resposta imunológica (WANG; CAI, 2010; MOSKOW *et al.*, 2019). Além disso, os biomateriais naturais são abundantes e fáceis de obter, têm boa biocompatibilidade e biodegradabilidade e são facilmente absorvidos pelo organismo. No entanto, cada biomaterial natural tem suas próprias desvantagens: alguns são quebradiços e fáceis de fraturar, ou facilmente erodidos em um ambiente úmido, outros são insolúveis em água e em solventes orgânicos comuns, limitando sua aplicação (ZHANG *et al.*, 2019).

Os polímeros naturais mais utilizados para fabricação desses condutos nervosos incluem a fibroína de seda (MAGAZ *et al.*, 2018), colágeno (HOUSHYAR; BHATTACHARYYA; SHANKS, 2019), gelatina (LIU, 2008), quitosana (CHEN, 2019), alginato (YI; XU; GU, 2018) e ácido hialurônico (RAMOS *et al.*, 2018).

#### **❖ Fibroína de Seda**

A fibroína de seda é uma proteína fibrosa natural, produzida pelo *Bombyx mori*, popularmente conhecido como bicho da seda. (VALLES RAMÍREZ, 2016; CHENG *et al.*, 2018). É composta por duas cadeias de polipeptídeos, uma cadeia pesada (~390

kDa), que possui grande quantidade de hexamino e uma cadeia leve (~25 kDa), que possui grandes quantidades de ácido aspártico e glutâmico (QI *et al.*, 2017).

Devido à sua semelhança com a matriz extracelular, a fibroína seda tem sido comumente utilizada na bioengenharia (MAGAZ *et al.*, 2018). Possui boa biocompatibilidade, propriedade biomecânica adequada, boa elasticidade e estabilidade térmica favorável para ser esterilizada. Além disso, apresenta ótimo custo-benefício por ser facilmente encontrada em condições ambientais (FAROKHI *et al.*, 2017).

Embora estudo com animal tenha sido capaz de correlacionar o conduto de seda com o enxerto nervoso autólogo sobre a regeneração nervosa, a pesquisa em modelo humano ainda está em andamento (KORNFELD; VOGT; RADTKE, 2019).

#### ❖ Colágeno

Todos os colágenos são proteínas triméricas formadas pela associação de três cadeias polipeptídicas. Estas podem ser idênticas (homotrímero colágenos) ou diferentes (colágenos heterotrímeros) (LIU *et al.*, 2015; BELLA, 2016). O colágeno tipo 1 foi o primeiro colágeno a ser identificado, é um heterotrímero, com dois  $\alpha 1$ - idênticos cadeias e uma cadeia  $\alpha 2$  na forma molecular de  $[\alpha 1(I)]_2 \alpha 2(I)$  (LIU *et al.*, 2015), é a proteína mais abundante em vertebrado, está presente em muitos órgãos e é um dos principais constituintes dos ossos, tendões, ligamentos e pele (BOU-GHARIOS; ABRAHAM; DE CROMBRUGGHE, 2020). Devido as sua facilidade em ser isolado e purificado, aderência para diferentes tipos de células e eficácia tanto in vitro quanto clinicamente, o colágeno é amplamente utilizado nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética por sua nutrição (LIU *et al.*, 2015; PANAGOPOULOS; MEGALOIKONOMOS; MAVROGENIS, 2017). Vários guias nervosos feitos de colágeno reticulado tipo I foram aprovados pela Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA (Food and Drugs Administration – FDA) e estão disponíveis comercialmente (HOUSHYAR; BHATTACHARYYA; SHANKS, 2019). Entretanto, seu tempo de biodegradação pode variar de 8 meses a 48 meses, podendo levar a compressão do nervo (PANAGOPOULOS; MEGALOIKONOMOS; MAVROGENIS, 2017; ZHANG *et al.*, 2019).

### ❖ Gelatina

A gelatina é uma mistura heterogênea de peptídeos derivados do colágeno, porém desnaturado com destruição das ligações cruzadas entre as cadeias polipeptídicas, facilitando assim a sua fabricação e preservação (LIU *et al.*, 2015; CHEN, 2019). É biodegradável com excelente biocompatibilidade, plasticidade e adesividade. No entanto, por ser solúvel em água e devido as suas características mecânicas, os condutos de gelatina podem se romper durante as suturas, sendo necessário agentes para estabilizar essas propriedades e tornar a gelatina adequada para aplicações biomédicas (LIU, 2008). Na literatura a gelatina tem sido comumente associada a quitosana, tendo efeitos positivos na regeneração do nervo lesado (WANG *et al.*, 2012).

### ❖ Quitosana

A quitosana é um polímero natural catiônico produzido pela N-desacetilação alcalina da quitina, possui ótima biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade baixo custo (CHENG *et al.*, 2003; ISLAM; BHUIYAN; ISLAM, 2017) e excelente atividade antibacteriana, sendo encontrado na parte anterior do corpo dos artrópodes, especialmente crustáceos (WANG; CAI, 2010). Tem sido comprovado que conduto de quitosana é capaz de regenerar o nervo, além disso, pode ser incorporado em sua estrutura outros materiais, como medicamentos e nanopartículas metálicas, com a finalidade de acelerar o processo cicatricial do nervo (CHEN, 2019). No entanto, devido à sua alta temperatura de transição vítrea e à estabilidade térmica relativamente baixa, a quitosana pura não pode ser derretida e geralmente é processada em soluções (WANG; CAI, 2010).

### ❖ Alginato

O alginato é um polissacarídeo linear composto por unidades homopoliméricas de 1,4-ligado (-D- ácido manurônico) (M) e (-L-ácido gulurônico) (G). As unidades M possuem uma conformação linear e flexível; enquanto que as unidades G fornecem segmentos dobrados e conformação estrutural rígida. Os alginatos com alto teor de M também são imunogênicos e mais potentes na indução de citocinas em comparação com alginatos de alto teor de G (FERNANDO *et al.*, 2019; HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ; TÉLLEZ-JURADO; RODRÍGUEZ-LORENZO, 2020).

O alginato é sintetizado a partir de algas marrons ou algas marinhas e é capaz de promover o crescimento das células de Schwann (FAROKHI *et al.*, 2017), possivelmente pela estimulação da liberação de moléculas sinalizadoras a partir dos cotos distais do nervo em regeneração (YI; XU; GU, 2018) e pela sua boa biodegradabilidade, biocompatibilidade e não toxicidade. Em contrapartida, normalmente os condutos de alginato apresentam polímeros sintéticos em sua estrutura, pois sozinho apresenta alta viscosidade, alta taxa de degradação e baixa força mecânica (GOLAFSHAN; KHARAZIHA; FATHI, 2017).

#### ❖ Ácido Hialurônico

O Ácido hialurônico é um componente da matriz extracelular e existe como um glicosaminoglicano de alto peso molecular composto de repetições de dissacarídeo de N-acetil glucosamina e ácido glucurônico, ligados entre si por uma alternância de ligações glicosídicas beta-1,4 e beta-1,3 (FERNANDO *et al.*, 2019), apresenta boa biocompatibilidade e benefícios terapêuticos na regeneração dos neurônios (RAMOS *et al.*, 2018), é um polímero não imunogênico de ocorrência natural e tem sido amplamente utilizado para aplicações de engenharia de tecidos e como conduto oferece ao nervo um ambiente poroso e hidratado por onde moléculas pequenas se difundem (SURI *et al.*, 2011).

#### **3.5.3.3 Tubulização sintética**

Ao contrário dos condutos naturais, os condutos sintéticos podem ter suas propriedades mecânicas, químicas e estruturais modificados para aumentar a regeneração nervosa. Portanto, podem ser incorporadas substâncias em sua estrutura; podem ser produzidos na forma de malha, esponja, tubos sólidos ou porosos. Por outro lado, alguns cuidados devem ser tomados durante a fabricação, o conduto nervoso deve ser atóxico, minimamente imunogênico e de fabricação simples. Além disso, deve orientar a direção do nervo regenerativo, isolar o axônio regenerado do tecido cicatricial e proteger o nervo regenerado contra a compressão circundante (HOUSHYAR; BHATTACHARYYA; SHANKS, 2019). Na literatura, os condutos sintéticos podem ser classificados em materiais não biodegradáveis e biodegradáveis (CHEN, 2019).

#### ❖ Degradáveis

Dentre os condutos sintéticos degradáveis mais utilizados na reparação nervosa, destacam-se o ácido poli glicólico (PGA); ácido poli láctico (PLA), ácido poli láctico glicólico (PLGA), policaprolactona (PCL) e o poliéster uretano (YI; XU; GU, 2018; RICCIO *et al.*, 2019).

Embora tenha sido observado que o conduto de PGA fornece uma melhor orientação das fibras nervosas quando comparado ao reparo direto, o número de estudos com esse conduto na literatura ainda é limitado, necessitando de mais análises para comprovar sua eficácia na regeneração nervosa (ŞENTÜRK *et al.*, 2019).

O PLA tem demonstrado grande utilidade na engenharia de tecido, sendo fabricados condutos para regeneração de nervos, músculos, vasos sanguíneos e até mesmo de tecidos cutâneos. Apresenta grande capacidade de transportar medicamentos em sua estrutura com liberação controlada (SANTORO *et al.*, 2016).

Devido a sua velocidade de degradação controlável e sua biocompatibilidade, o conduto de PGLA pode ser usado como veículo de fármacos de liberação lenta, aumentando ainda mais para o tratamento de lesões nos nervos periféricos (ZHAO *et al.*, 2015).

A PCL apresenta maleabilidade e viscoelasticidade superiores a outros biomateriais sintéticos degradáveis e por isso tem sido bastante utilizado na regeneração de vasos sanguíneos, de nervos, e ossos (WOODRUFF; HUTMACHER, 2010). Em contrapartida um estudo demonstrou que os condutos de poliéster uretano exibiram capacidades de regeneração muito maiores que o PCL (XU *et al.*, 2016).

#### ❖ **Não Degradáveis**

Dentre os condutos sintéticos não degradáveis mais utilizados na reparação nervosa descritos na literatura se destacam o silicone, o polietilenoglicol (PEG) e o álcool polivinílico (PVA), existindo também o poliestireno, o politetrafluoretileno (STOCCO *et al.*, 2018).

O silicone foi o primeiro polímero sintético não-biodegradável utilizado como guia nervoso (SZAL; MILLER, 1975). Devido as suas propriedades elásticas, sua flexibilidade e biocompatibilidade, o conduto de silicone tem sido amplamente utilizado na regeneração nervosa sob condições controladas, podendo inclusive ser inseridas moléculas sinalizadoras em sua estrutura (YI; XU; GU, 2018). Além disso, a sua

transparência auxilia no exame 3D de avaliação do nervo em regeneração (HOUSHYAR; BHATTACHARYYA; SHANKS, 2019).

O segundo conduto não degradável produzido para substituir os condutos naturais foi o PEG (DA SILVA *et al.*, 2019), o qual tem sido capaz de melhorar a recuperação funcional do nervo periférico em modelo animal, devido a sua estabilidade biomecânica, por apresentar poros na constituição do tubo, evitando o colapso do tubo guia (BAMBA *et al.*, 2018).

Um material hidrossolúvel, não degradável e mais recente que tem sido utilizado na literatura para vários fins terapêuticos (ARSLANTUNALI *et al.*, 2014; WELLER, 2019), como para acelerar a regeneração nervosa após uma neurotmeze é o PVA (STOCCO *et al.*, 2018). Quando adicionado alginato, um polímero natural, à estrutura do conduto de PVA, há o aumento da condutividade elétrica, da resistência e da tenacidade deste material, fornecendo assim, uma matriz mais adequada para suportar respostas celulares no local em regeneração (GOLAFSHAN; KHARAZIHA; FATHI, 2017).

Embora os polímeros sintéticos não degradáveis sejam mecanicamente estáveis (SARKER *et al.*, 2018), faz-se necessária uma segunda cirurgia para removê-los, a fim de reduzir as reações imunológicas, as quais podem levar a constrição do nervo, dificultando a sua regeneração (HOUSHYAR; BHATTACHARYYA; SHANKS, 2019).

Diante da grande disponibilidade de condutos artificiais e o baixo nível de evidência metodológico e comparativo destes materiais, a escolha de um conduto ainda representa um desafio, ficando a cargo da experiência do cirurgião (SILVA *et al.*, 2017).

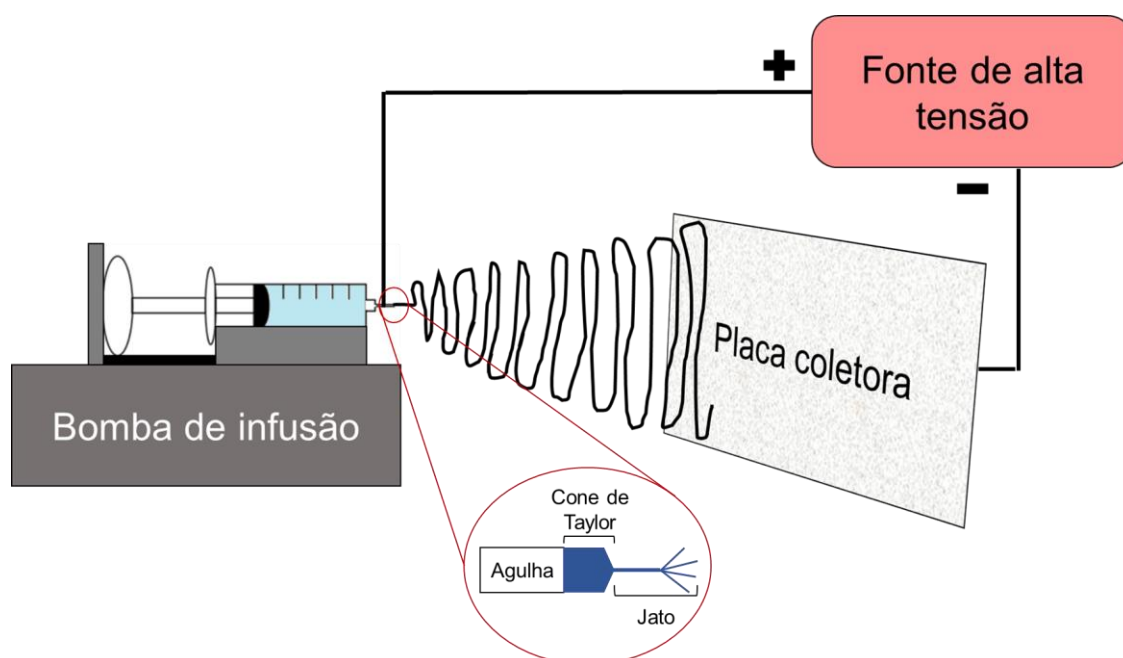
### **3.6 Fabricação de Biomateriais com a Técnica de Eletrofiação**

Muitos métodos foram desenvolvidos para a produção de fibras a partir de polímeros sintéticos, destacando-se a eletrofiação, a qual foi descrita pela primeira vez em 1923. Destaca-se por produzir fibras na faixa nanométrica, as quais são principalmente utilizadas na medicina e na agronomia. Devido ao tamanho das fibras obtidas nesta técnica, elas são frequentemente denominadas de nanofibras (DOSHI; RENEKER, 1993).

A eletrofiação envolve um processo eletrohidrodinâmico, onde uma gota do líquido é colocada em uma seringa e é eletrificada, ao ultrapassar a tensão superficial

dessa solução, a repulsão eletrostática entre as cargas da superfície que apresentam o mesmo sinal elétrico transforma a gota em um cone de Taylor, gerando um jato, o qual segue alongando para produzir a fibras. À medida que o jato é esticado em diâmetros mais finos, ele solidifica rapidamente, levando à deposição de fibras sólidas no coletor aterrado. Os principais equipamentos utilizados incluem: uma bomba de infusão, seringa contendo a solução, fonte de alta tensão, a qual pode ser de corrente contínua ou alternada e a placa coletora onde são obtidos os biofilmes (Figura 10 e 11) (XUE *et al.*, 2019).

**Figura 10** – Representação esquemática da técnica de eletrofiação.

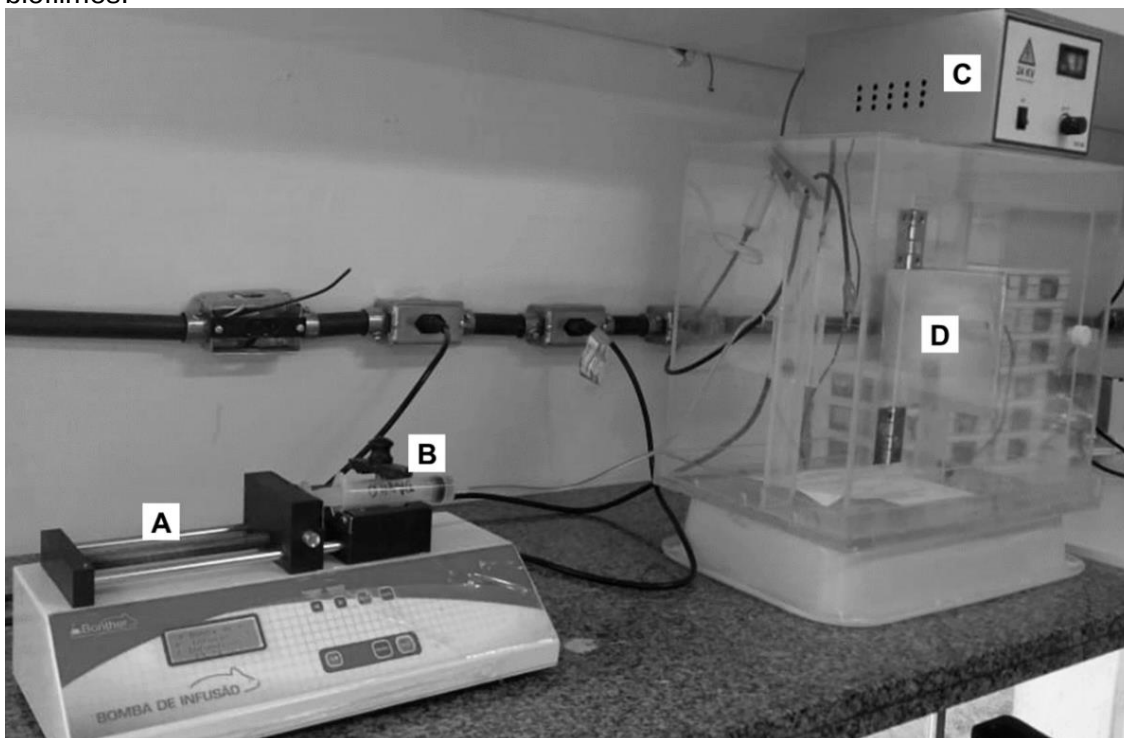


**Fonte:** De autoria própria.

Esta técnica pode ser afetada pelos seguintes fatores: viscosidade, condutividade e tensão superficial da solução; pressão hidrostática no capilar, potencial elétrico da ponta e distância entre a ponta e a tela de coleta; além disso, pelos parâmetros ambientais, tais como temperatura, umidade e ar velocidade na placa coletora (DOSHI; RENEKER, 1993).

Outra vantagem da fabricação de micro e nanofibras pela eletrofiação é a possibilidade da incorporação de fármacos a sua estrutura com subsequente liberação controlada em quantidades pré-definidas em um determinado período de tempo (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

**Figura 11** – Equipamentos do Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturados utilizados na produção do biofilme de álcool polivinílico por meio da eletrofiação. (A) Bomba de infusão; (B) Seringa contendo uma solução; (C) Fonte de alta tensão; (D) Placa coletora onde são obtidos os biofilmes.



Fonte: De autoria própria.

Estudos anteriores têm demonstrado resultados promissores na estimulação da regeneração nervosa funcional e histomorfométrica ao utilizar condutos de poli (L-lactídeo-co-glicolídeo) e poli ( $\epsilon$ -caprolactona) sem fármacos em sua estrutura, provenientes da técnica de eletrofiação (PANSERI *et al.*, 2008; XIE *et al.*, 2014).

Com o álcool polivinílico, estudos tem feito a sua combinação com outros polímeros sintéticos para produzir condutos eletrofiados com melhor maleabilidade, estabilidade mecânica e térmica e biocompatibilidade, demonstrando bons resultados na regeneração de ossos, cartilagens, peles, vasos sanguíneos, nervos, córnea e, também, como veículos para a administração controlada de drogas, proteínas, fatores de crescimento, nanopartículas e até mesmo DNA (GUPTA *et al.*, 2014; KONG; MI, 2016; TEIXEIRA; AMORIM; FELGUEIRAS, 2020).

### 3.7 Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico (AA) é um composto de seis carbonos relacionado à glicose e sua forma biologicamente ativa, a vitamina C, foi isolada pela primeira vez em 1928

pelo bioquímico húngaro e vencedor do prêmio Nobel, Szent-Gyorgyi (IQBAL; KHAN; KHATTAK, 2004).

Esta vitamina é solúvel em água, antioxidante, estimula a produção e ativação de células imunológicas, diferenciação e estimulação de fibroblastos e é um cofator da prolil hidroxilase e lisilhidroxilase as quais catalisam a hidroxilação de resíduos de prolina e lisina do procolágeno, promovendo o dobramento adequado da conformação de tripla hélice do colágeno (DEPHILLIPO *et al.*, 2018; ABDULLAH; JAMIL; ATTIA, 2020; NJUS *et al.*, 2020).

Embora seja essencial para a homeostase de tecidos e órgãos normais, bem como para a regeneração tecidual (MORETTI *et al.*, 2017), ao contrário dos animais, os humanos não a sintetizam, sendo necessária sua ingestão através de dieta (frutas cítricas e muitos vegetais) ou na forma de suplemento (IQBAL; KHAN; KHATTAK, 2004).

Na forma de suplementação exógena, ao longo dos anos a vitamina C tem sido bastante utilizada para acelerar a consolidação óssea após fraturas (DEPHILLIPO *et al.*, 2018), acelerar a recuperação funcional e histológica do tendão de Aquiles após lesão (SOUZA *et al.*, 2019), sepse, doenças de pele, câncer (MORETTI; RODRIGUES, 2020) e como uma nova abordagem terapêutica na leucemia linfocítica crônica (DARWICHE *et al.*, 2020).

No sistema nervoso central, devido a sua função neuromodulatória, o AA elimina espécies reativas de oxigênio produzidas durante a atividade sináptica e o metabolismo neuronal e por isso parece protegê-lo contra os danos comportamentais e neuroquímicos observados em condições psiquiátricas e neurodegenerativas (MORETTI; RODRIGUES, 2020).

No sistema nervoso periférico estudos demonstraram que o AA é essencial na regeneração nervosa em modelos animais, visto que a suplementação dessa vitamina promoveu o crescimento de neuritos em culturas de neurônios do gânglio da raiz dorsal (DRG), aumentou a proliferação e o comportamento de migração em culturas de células de Schwann primárias e aumentou a proliferação e migração dos macrófagos e, portanto, melhorou a recuperação funcional do nervo ciático após uma neuropraxia (LI *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2020).

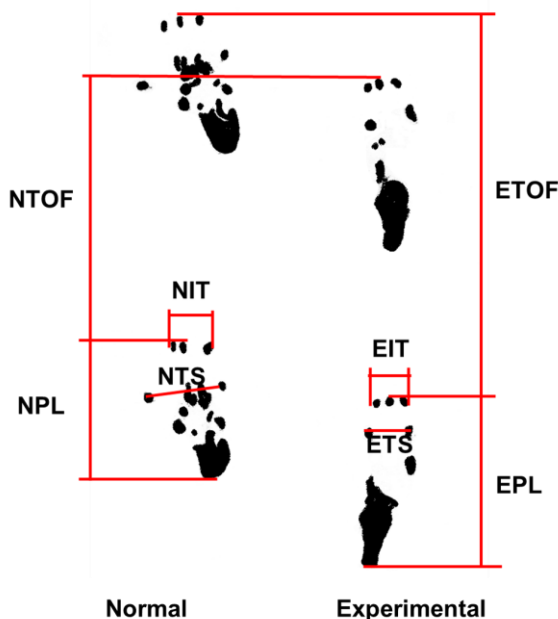
### 3.8 Métodos de Avaliação da Reparação Cirúrgica do Nervo Ciático

A engenharia tecidual vem desenvolvendo estratégias bem-sucedidas para promover a melhora do quadro funcional, histológico e clínico dos nervos após uma lesão (CARRIEL *et al.*, 2014) e, portanto, é de suma importância compreender as ferramentas utilizadas para se avaliar se houve o reparo adequado dessas lesões.

#### 3.8.1 Índice funcional do ciático

Diante da falta de um método quantitativo, confiável e reproduzível para avaliar o desempenho funcional do nervo periférico em ratos após uma lesão, em 1982 foi desenvolvido o primeiro índice funcional do ciático baseado em quatro medidas obtidas em cada pata posterior dos animais (Figura 12), comparando o lado lesionado com o lado sadio através da fórmula matemática desenvolvida naquele trabalho (Equação 1). O valor obtido, arredondado para a unidade mais próxima, foi considerado como um índice da condição funcional do nervo ciático expresso como um déficit percentual, onde zero por cento representa uma função normal, enquanto que -100% representa a perda de função resultante de uma neurotome do nervo ciático. (DE MEDINACELI; FREED; WYATT, 1982).

**Figura 12** – Impressão digital das patas de rato *Wistar* com as medidas obtidas na pata experimental e normal para a realização do Índice Funcional do Ciático segundo De Medinaceli e colaboradores (1982).



Fonte: De autoria própria.

Em 1989, foram desenvolvidas três fórmulas a fim de avaliar de forma independente a regeneração funcional dos nervos ciático (Equação 2), tibial (Equação 3) e peroneal (Equação 4) (BAIN; MACKINNON; HUNTER, 1989), a qual é a mais utilizada até hoje nas pesquisas em modelo animal (YAZAR *et al.*, 2020).

$$IFC = [(ETO - NTO)/NTO + (NPL - EPL)/EPL + (ETS - NTS)/NTS + (EIT - NIT)/NIT] \times 220/4 \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:

E = experimental;

N = normal;

TOF = “Distance to Opposite Foot”, ou distância ao pé oposto, é a projeção ortogonal da distância entre a extremidade do terceiro dedo de uma pata até a extremidade do terceiro dedo da pata contralateral na pegada seguinte;

PL= “printlength”, ou comprimento da pata, é a distância linear entre os dois pontos mais extremos da pegada, no sentido longitudinal, que é sempre maior na pata lesada;

TS = “total spread”, ou espalhar total dos dedos, é distância linear entre os dois pontos mais extremos da pegada, no sentido transversal, devendo coincidir com a marca dos dois dedos mais extremos;

IT = “intermediate toes”, ou espalhar dos dedos intermediários, é a distância linear entre os dois dedos intermediários.

$$IFC = [(-38,3 \cdot [(EPL - NPL) \cdot NPL^{-1}] + 109,5 \cdot [(ETS - NTS) \cdot NTS^{-1}] + 13,3 \cdot [(EIT - NIT) \cdot NIT^{-1}] - 8,8] \quad \text{Eq. 2}$$

$$IFT = [(-37,2 \cdot [(EPL - NPL) \cdot NPL^{-1}] + 104,4 \cdot [(ETS - NTS) \cdot NTS^{-1}] + 45,6 \cdot [(EIT - NIT) \cdot NIT^{-1}] - 8,8] \quad \text{Eq. 3}$$

$$IFP = [(174,93 \cdot [(EPL - NPL) \cdot NPL^{-1}] + 80,3 \cdot [(ETS - NTS) \cdot NTS^{-1}] - 13,4] \quad \text{Eq. 4}$$

### 3.8.2 Análise macroscópica

Avaliação macroscópica da reparação nervosa tem sido descrita desde 1979, onde foi verificado que os nervos são predominantemente longitudinais e, portanto, estreitamente relacionados com as artérias, veias e vasos linfáticos, bem como com músculos e suas fáscias (KLINE, 1979).

Desde então, após lesões nervosas seguidas de reparação cirúrgica tem sido avaliada a cicatrização tanto da pele e dos músculos ao redor do nervo (PETERSEN *et al.*, 1996; SANLI; DINCEL; Umay, 2019), bem como verificando o alinhamento dos cotos nervosos (ISAACS *et al.*, 2016; AKHTER *et al.*, 2019) e a presença de neuroma (CHALLONER *et al.*, 2019), visto que estes parâmetros fornecem dados importantes

tanto da eficácia da técnica cirúrgica como da fase de cicatrização que o tecido se encontra (AKHTER et al., 2019).

No entanto, ao longo do tempo os estudos avaliam apenas um destes parâmetros classificando-os em níveis (CHEN et al., 1994; SIEMIONOW et al., 2017) e não foi encontrado relatos na literatura que tenha demonstrado uma análise macroscópica mais ampla, apresentando dados qualitativos da reparação cirúrgica de uma lesão nervosa periférica, fornecendo uma visão mais ampla da reparação de todos os tecidos envolvidos na reparação cirúrgica do nervo acometido.

### **3.8.3 Avaliação histológica e histomorfométrica**

A histologia teve início no final do século XVI, quando Thomas Mouffet usou lupas para sua pesquisa sobre sarna (SINGER, 1914). No entanto, até meados do século XX as avaliações eram descritas de forma qualitativa, quando então os estudos começaram a quantificar esses achados (HOLMES; YOUNG, 1942; ABERCROMBIE; JOHNSON, 1946; GUTMANN; HOLUBÁŘ, 1950) e esta técnica foi denominada de histomorfometria, a qual é bastante utilizada até dias atuais (CARRIEL et al., 2014).

Os estudos histológicos de nervos periféricos iniciaram em 1949 (GATENBY; MOUSSA, 1949) e apenas no final da década de 50 essa técnica foi utilizada para avaliar os nódulos de ranvier de axônios do nervo ciático (UZMAN; NOGUEIRA-GRAF, 1957). Ao longo dos anos essa técnica foi se destacando como ferramenta de avaliação das lesões nervosas periféricas do nervo ciático, servindo para a investigação, dentre outros aspectos, da *vasa nervorum*, do número de fibras mielínicas, da densidade de fibras mielínicas, da espessura da bainha de mielina e do diâmetro axonal, permitindo avaliar o grau de regeneração nervosa deste tecido (CARRIEL et al., 2014; LÓS et al., 2015; DA SILVA et al., 2019).

Visando uma maior especificidade dos métodos histológicos, em 1940, surgiu a técnica de imuno-histoquímica, baseada no princípio de ligação específica antígeno-anticorpo para localizar antígenos (como por exemplo proteínas) em tecidos (BURNETT; GUICHARD; BARALE, 1997).

#### 4 JUSTIFICATIVA

---

Devido a lesão do nervo ciático ser um grande problema de origem socioeconômica, atingindo principalmente indivíduos jovens em idade produtiva, estudos têm buscado alternativas de tratamento cirúrgico a fim de acelerar a reparação do nervo.

Sabe-se que o enxerto nervoso é o padrão ouro na reparação do pior tipo de lesão nervosa, a neurotmele. No entanto, devido a necessidade de expor o paciente a uma nova lesão para se obter uma amostra de um nervo, caso seja um auto enxerto, ou devido a possibilidade de rejeição caso seja um alo enxerto, a técnica de tubulização vem ganhando destaque, visto que fornece orientação nervosa aos brotos em crescimento, previne neuromas, reduz a formação de tecido cicatricial no local da lesão e apresenta a possibilidade desses condutos serem fabricados utilizando-se de diversos materiais biocompatíveis de origem biológica, natural ou sintética.

Visando a biocompatibilidade para produção desses condutos, a técnica de eletrofiação parece ser uma boa alternativa, visto que é capaz de produzir biofilmes em escala nanométrica, por meio de carga elétrica aplicada a solução com substâncias com características semelhantes a matriz celular e com fármacos que podem ser liberados gradativamente no tecido a qual está inserido.

Sabe-se que o álcool polivinílico é um polímero sintético de baixa adsorção de proteínas, biocompatibilidade, alta solubilidade em água e resistência química, o qual apresenta bons resultados na cicatrização de feridas de pacientes diabéticos e como implante na substituição de cartilagem em lesões ortopédicas. Aliado a isso, devido as propriedades cicatrizantes do ácido ascórbico, acredita-se que a utilização de um biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico, produzido pela técnica de eletrofiação, poderá acelerar a reparação nervosa de uma neurotmele no nervo ciático.

Diante disto, foi inicialmente desenvolvida em ratos, visto que é o modelo animal mais utilizado em pesquisa experimental de lesão nervosa, para avaliação da aplicabilidade em acelerar a reparação funcional e histológica do nervo periférico, para posteriormente ser aplicada na clínica.

## 5 OBJETIVOS

---

### 5.1 Geral

Analisar experimentalmente a aplicação do biofilme de Álcool Polivinílico com Ácido Ascórbico como coadjuvante ao processo de cicatrização do nervo ciático de ratos pós neurotmease.

### 5.2 Específicos

❖ Examinar morfológicamente, o processo de regeneração do nervo, através da análise histomorfométrica a quantificação das células de Schwann, quantificação dos axônios e mensuração da área de secção transversa do nervo de ratos submetidos neurotmease, suturados e envoltos pelo biofilme de Álcool Polivinílico com Ácido Ascórbico;

❖ Verificar a recuperação funcional do nervo por meio da avaliação do Índice Funcional do Ciático de ratos submetidos à lesão, suturados e envoltos pelo biofilme de Álcool Polivinílico com Ácido Ascórbico;

❖ Observar o alinhamento dos cotos nervosos, a absorção do biofilme e a qualidade da sutura externa e interna, por meio de uma avaliação macroscópica no dia da coleta do nervo ciático.

## 6 HIPÓTESES

---

❖ O uso de biofilme de Álcool Polivinílico contendo ácido ascórbico (substância cicatrizante), utilizado no processo cirúrgico de reparação da neurotmeze não favorece o processo de cicatrização e, portanto, não melhora a microestrutura e o retorno da funcionalidade do nervo ciático de ratos;

❖ O uso de biofilme de Álcool Polivinílico contendo ácido ascórbico (substância cicatrizante), utilizado no processo cirúrgico de reparação da neurotmeze favorece o processo de cicatrização, melhorando a microestrutura e é capaz de restaurar a funcionalidade do nervo ciático de ratos.

## 7 MATERIAIS E MÉTODOS

---

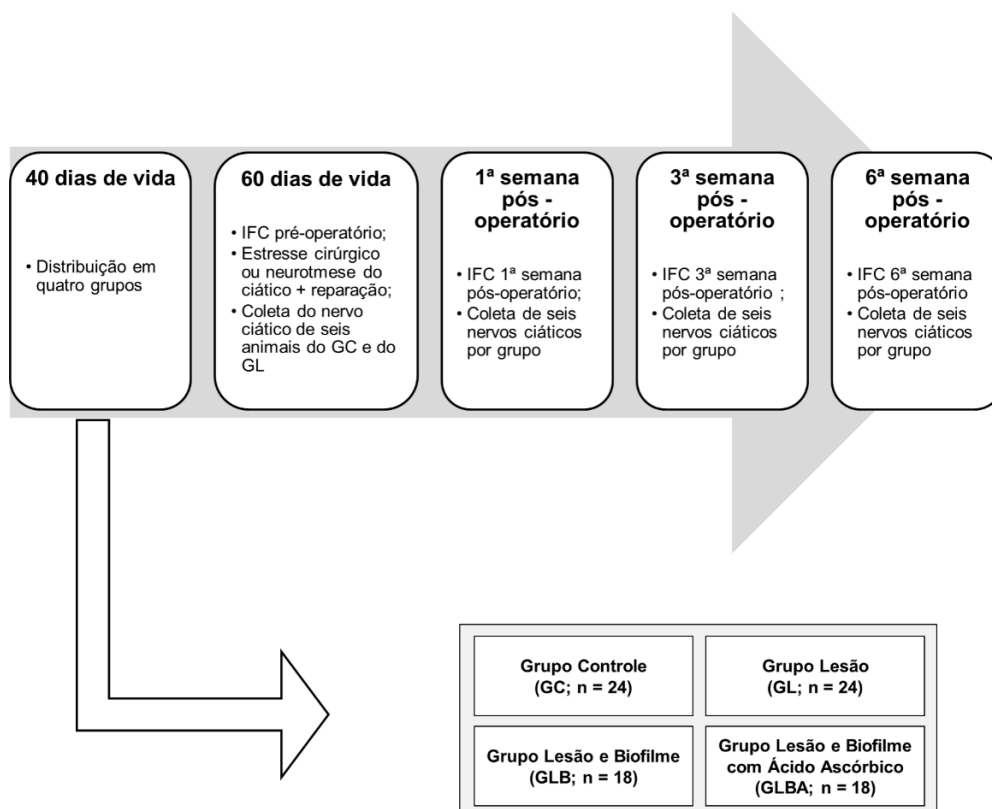
O estudo foi executado de março/2018 até maio/2022, no Laboratório de Plasticidade Neuromuscular (LAPLAN) do Departamento de Anatomia, no Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturados (BIONANO), Departamento de Bioquímica (UFPE) e no laboratório de histomorfometria do Departamento de Anatomia (UFPE). Foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) sob o Processo de nº 23076.052306/2017-10 (Anexo A e B) e o manejo e os cuidados dos animais se fizeram de acordo com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animal.

O número amostral foi definido por conveniência baseado em estudos anteriores que avaliaram o IFC, bem como a histologia do nervo ciático em ratos *Wistar* submetidos à neurotmesa (MOSAHEBI *et al.*, 2002; YU *et al.*, 2019). Portanto, a amostra foi composta por 84 ratos da linhagem *Wistar*, obtidos no Biotério de Criação José Paulino do Departamento de Nutrição e mantidos em temperatura de  $23^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ , submetidos a ciclos de claro/escuro invertido (12 horas) com dieta (Purina®) e água ad libitum, no Biotério de Experimentação Animal do Departamento de Anatomia, ambos da UFPE.

### 7.1 Grupos Experimentais

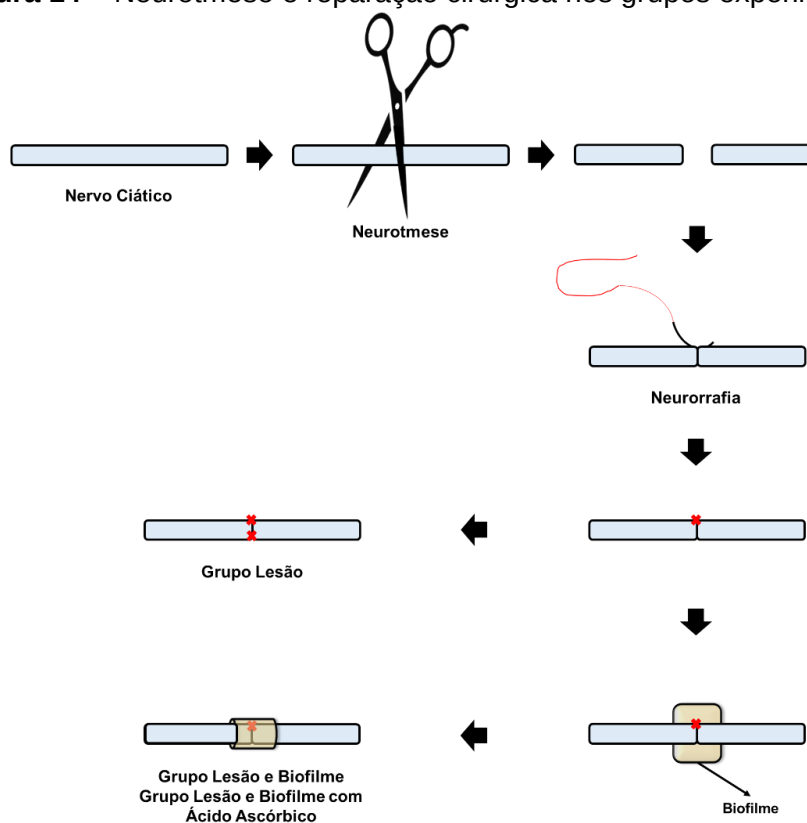
Aos 40 dias de vida, os animais foram aleatorizados (*Software Random Allocation versão 2.0*) em quatro grupos: Grupo Controle (GC;  $n = 24$ ), ratos que não sofreram a neurotmesa; Grupo Lesão (GL,  $n = 24$ ) ratos que sofreram lesão completa no ponto médio do nervo ciático com subsequente sutura; Grupo Lesão e Biofilme (GLB;  $n = 18$ ), ratos que sofreram lesão e tiveram a sutura envolvida pelo biofilme; Grupo Lesão e Biofilme com ácido ascórbico (GLBA;  $n = 18$ ), ratos que sofreram lesão e tiveram a sutura envolvida pelo biofilme com o ácido ascórbico em sua estrutura. Os nervos ciáticos foram coletados e avaliados na 1ª, 3ª ou 6ª semana pós-operatório ( $n = 6$  por grupo a cada período). Além destas coletas, seis nervos do GC e do GL também foram avaliados no dia da cirurgia (Figura 13 e 14).

**Figura 13** – Desenho experimental do presente estudo.



Fonte: De autoria própria.

**Figura 14** – Neurotome e reparação cirúrgica nos grupos experimentais.



Fonte: De autoria própria.

## **7.2 Fabricação e Obtenção do Biofilme de Álcool Polivinílico sem e com Ácido Ascórbico**

Os biofilmes foram produzidos pelo BIONANO para a presente pesquisa. Para a produção dos biofilmes de PVA sem AA, foram utilizadas soluções de PVA a 16 % e de Alginato a 2 % na concentração de 3:1 e, nos biofilmes com AA, foram acrescentados a estas soluções 0,5 g de AA.

Ambos os tipos de soluções foram colocados em seringas e submetidos à eletrofiação por 8 horas e 5 horas, respectivamente. Após a obtenção dos biofilmes, foram submetidos ao processo de cross-linking por 24 horas, os quais foram imersos em solução de 98,9% de Metanol, 1% de Glutaraldeído e Ácido Clorídrico. Em seguida, passaram por cinco banhos de água deionizada, foram colocados para secar a 8°C de três a sete dias, foram cortados em tamanhos de 10 mm x 10 mm e 10 mm x 5 mm, respectivamente e, em seguida, foram esterilizados no ultravioleta por 30 minutos.

## **7.3 Procedimento Cirúrgico para Lesão do Nervo Ciático**

Na idade de 60 dias, todos os animais foram anestesiados intraperitonealmente com uma solução de cloridrato de Xilazina (Anasedan®) (20 mg.Kg<sup>-1</sup>) e Cloridrato de Ketamina (Dopalen®) (100 mg.Kg<sup>-1</sup>), 0,05 mL e 0,1 mL para cada 100 g de peso corporal do animal.

Após sedação, foi realizada a tricotomia na região glútea direita e, em seguida, a área foi limpa com o antisséptico Clorexidina. O animal foi encaminhado para o local estéril, colocado na posição anatômica e iniciado o procedimento cirúrgico.

Foi realizada uma incisão na pele da região póstero-superior da pata direita, iniciando um centímetro abaixo do trocânter maior do fêmur, tendo direção diagonal e terminando próximo à fossa poplítea, ao nível da inserção dos músculos ísquiotibiais. O nervo ciático foi exposto após a disjunção dos músculos glúteo superficial e bíceps femoral. Com auxílio do Estereomicroscópio (LEICA zoom 2000/ 10,5 - 45 X), o nervo ciático foi visualizado, e foi colocada uma tentacânula sob o nervo para seu isolamento com os tecidos adjacentes.

Nos animais dos grupos lesão foi realizada a neurotmeze com tesoura cirúrgica a 5 mm proximal da divisão dos três ramos principais do nervo ciático (tibial, fibular comum e sural), seguida da coaptação direta das extremidades nervosas, com alinhamento fascicular e sutura com monofilamento 7-0 CATGUT (ETHICON) em

cerca de 3 pontos do epineuro (WU *et al.*, 2016), enquanto que no GLBA e GLB além da sutura, a mesma foi envolvida com o biofilme de álcool polivinílico com e sem o ácido ascórbico em sua estrutura, respectivamente (Figura 15).

Os animais do GC apenas foram submetidos à incisão longitudinal da pele, disjunção dos músculos acima descritos e visualização do nervo ciático. Em seguida, foi realizada a sutura muscular e da pele com monofilamento 4-0 Nylon (Somerville) para promover o mesmo estresse cirúrgico que os demais grupos.

#### **7.4 Cuidados Cirúrgicos**

Todos os instrumentais cirúrgicos utilizados foram previamente esterilizados.

Após a aplicação dos anestésicos, foi aplicado o analgésico Cloridrato de Tramadol (5 % - 100 mg.Kg<sup>-1</sup> de peso animal, diluído em soro fisiológico á 0,9 % - 1:1), por via subcutânea, sendo reaplicado a cada 12 horas durante três dias.

Ao final da cirurgia, foi realizada a antibioticoterapia tópica (Rifamicina SV sódica – 10 mg.mL<sup>-1</sup>; Sulfato de Neomicina + Bacitrina – 5 mg.g<sup>-1</sup> + 250 UI.g<sup>-1</sup>) e foi aplicado, por via subcutânea, o antibiótico Enrofloxacin (10 % - 5 mg.Kg<sup>-1</sup> de peso animal), por 4 dias a cada 24 horas e do anti-inflamatório Meloxicam (0,2 % - 0,1 mL.Kg<sup>-1</sup> de peso animal), por 2 dias, a cada 24 horas.

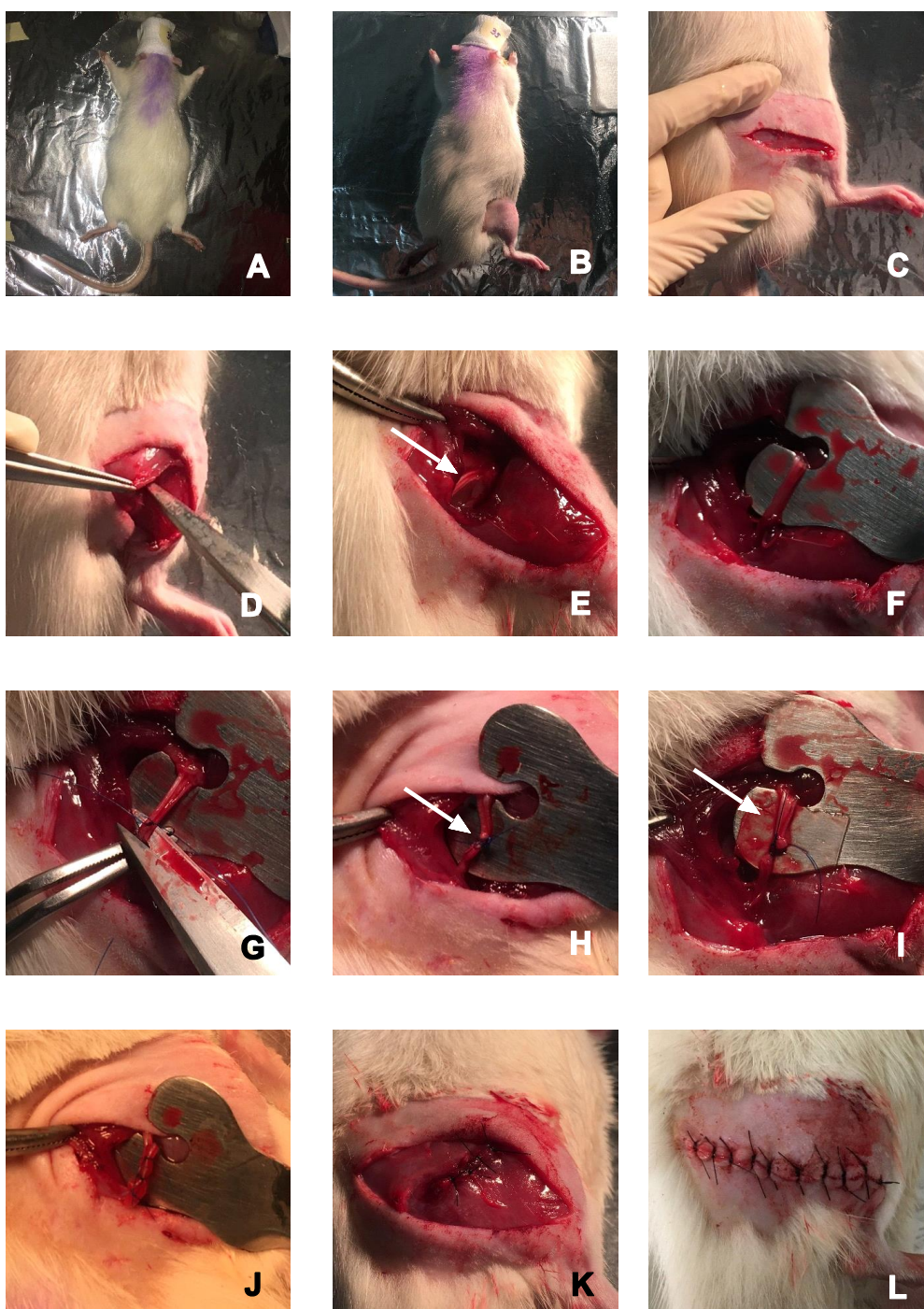
#### **7.5 Índice Funcional do Ciático (IFC)**

Para a avaliação funcional da recuperação da marcha do animal, o IFC foi aplicado nos animais no pré-operatório (um dia antes do procedimento cirúrgico) 1<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> semana pós-operatório. Os ratos tiveram suas patas pintadas com tinta preta e foram colocados em uma passarela construída anteriormente em nosso grupo de pesquisa com medidas de 10 cm de largura e 60 de comprimento para deambularem sobre um papel branco (LIRA, 2013) (Figura 16).

A partir das impressões e com o auxílio do software Image J® (versão 1.52a, Wayne Rasband, National Institutes of Health USA), três parâmetros foram aferidos tanto na pata lesada (experimental) quanto na pata intacta (normal) (comprimento da pata, espalhar total dos dedos e espalhar dos dedos intermediários) e foi calculado o IFC através da Equação 2 (BAIN; MACKINNON; HUNTER, 1989). Os resultados foram expressos em percentual negativo da função normal, em que 0 (zero) corresponde à função normal, ou ausência de deficiência, e -100 (menos cem)

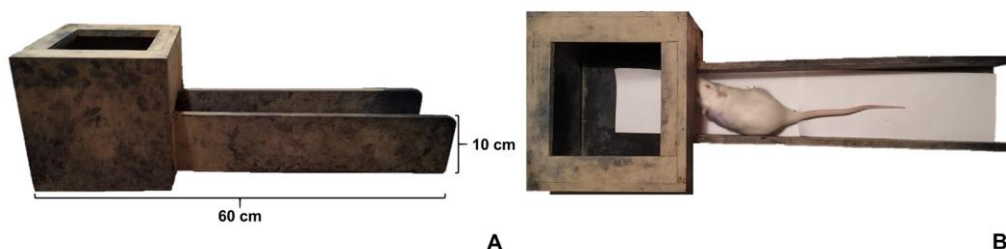
corresponde à disfunção total (Figura 17).

**Figura 15** – Procedimento Cirúrgico: A - Animal na posição anatômica; B - Tricotomia; C - Incisão na pele; D - Disjunção dos músculos glúteo superficial e bíceps femoral; E - Visualização do nervo ciático (seta); F - Isolamento do nervo; G - Neurotmesa; H - Neurorrafia (seta); I - Biofilme posicionado (seta); J - Biofilme envolvendo o nervo e suturado; K - Sutura muscular; L - Sutura da pele.



Fonte: De autoria própria.

**Figura 16** – Passarela (A) e realização do índice Funcional do Ciático (B).



Fonte: De autoria própria.

$$IFC = -38,3 \cdot [(EPL - NPL) \cdot NPL^{-1}] + 109,5 \cdot [(ETS - NTS) \cdot NTS^{-1}] + 13,3 \cdot [(EIT - NIT) \cdot NIT^{-1}] - 8,8 \quad \text{Eq. 2}$$

Onde:

E = experimental;

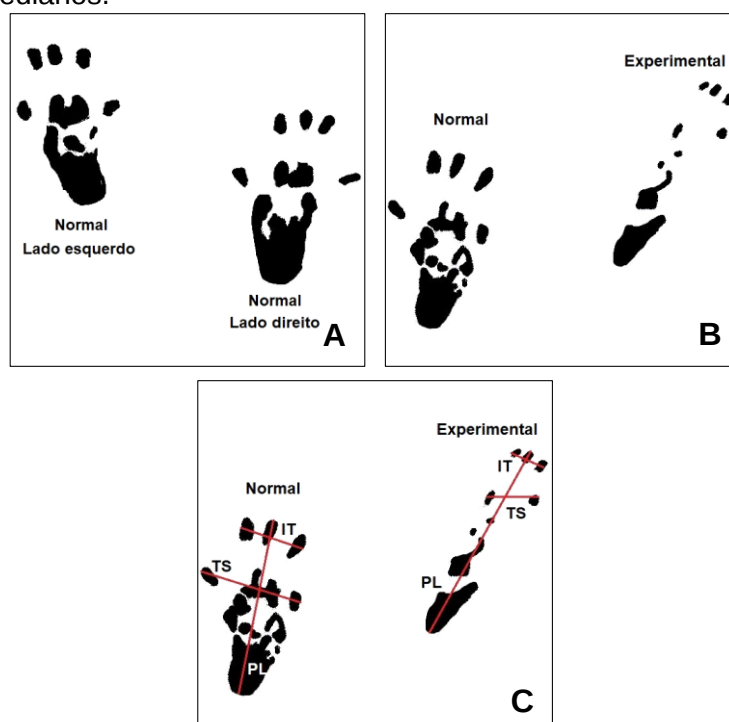
N = normal;

PL= “printlength”, ou comprimento da pata, é a distância entre os dois pontos mais extremos da pegada, no sentido longitudinal, que é sempre maior na pata lesada;

TS = “total spread”, ou espalhar total dos dedos, é distância entre os dois pontos mais extremos da pegada, no sentido transversal, devendo coincidir com a marca dos dois dedos mais extremos;

IT = “intermediate toes”, ou espalhar dos dedos intermediários, é a distância entre os dois dedos intermediários.

**Figura 17** – Impressão digital do Índice Funcional do Ciático: A – Antes da neurotome; B – Após a neurotome há presença de alteração no lado experimental; C – Após a neurotome com os parâmetros (PL= comprimento da pata; TS = espalhar total dos dedos; IT = espalhar dos dedos intermediários).



Fonte: De autoria própria.

## 7.6 Coleta do Nervo Ciático

De acordo com o dia de coleta do nervo ciático, 1º dia, 1ª, 3ª ou 6ª semana pós-operatório, os animais tiveram seus pesos corpóreos aferidos, em seguida anestesiados com solução de Xilazina (Anasedan®) (20 mg.Kg<sup>-1</sup>) e Cloridrato de Ketamina (Dopalen®) (100 mg.Kg<sup>-1</sup>), 0,05 mL e 0,1 mL para cada 100 g de peso animal, o nervo ciático direito foi visualizado e foi realizada a análise macroscópica e, em seguida foi dissecado, coletado e encaminhado para o processamento histológico. Ainda sob efeito de anestésicos, os animais receberam uma dosagem via intracardíaca de 1 mL de Cloreto de Potássio a 10% (KCl), para sua eutanásia.

## 7.7 Avaliação macroscópica da reparação cirúrgica

A avaliação macroscópica foi realizada após o período experimental nos animais que sofreram a secção nervosa, sendo avaliada conforme questionário elaborado (Tabela 2) e os dados foram expressos em frequência.

**Tabela 2** – Questionário para avaliação macroscópica da reparação cirúrgica

|                                              |         |         |                   |
|----------------------------------------------|---------|---------|-------------------|
| 1. A lesão da pele foi bem reparada?         | ( ) Sim | ( ) Não | ( ) Não se aplica |
| 2. Os pontos da pele romperam?               | ( ) Sim | ( ) Não | ( ) Não se aplica |
| 2.1. Se sim, foi realizada uma nova sutura   | ( ) Sim | ( ) Não | ( ) Não se aplica |
| 3. A sutura muscular foi bem reparada?       | ( ) Sim | ( ) Não | ( ) Não se aplica |
| 4. Os cotos estão alinhados estruturalmente? | ( ) Sim | ( ) Não | ( ) Não se aplica |
| 5. O biofilme foi absorvido?                 | ( ) Sim | ( ) Não | ( ) Não se aplica |
| 5.1. Se não, o biofilme estava no local?     | ( ) Sim | ( ) Não | ( ) Não se aplica |
| 6. Há neuromas?                              | ( ) Sim | ( ) Não | ( ) Não se aplica |

Fonte: De autoria própria.

## 7.8 Processamento Histológico

Os nervos foram fixados por 48 horas na solução de Fluido Modificado de Davison (MDF), constituída por 50 % de água destilada, 30 % de Formaldeído PA, 15 % de Álcool Etílico PA e 5 % de Ácido acético glacial.

Passadas às 48 horas, as amostras foram lavadas em água corrente e foram desidratadas em soluções crescentes de álcool (70 %, 80 %, 90 % e 100 %), diafanizadas em xilol (I e II) e incluídas em parafina líquida (I e II) (60°C). Por fim, os nervos foram emblocados individualmente, com parafina específica para este fim (56°-58°C), de modo que a extremidade do nervo foi direcionada para a área de corte.

Os nervos foram cortados transversalmente com 4 µm de espessura e suas lâminas histológicas foram preparadas e foram encaminhadas para análise

histomorfométrica.

As amostras foram desparafinizadas com banhos de xilol, hidratadas em soluções de concentrações decrescentes de álcool (100%, 95%, 80% e 70%) e corados com Hematoxilina-Eosina e fotografadas imagens de 3 campos microscópicos por animal (Olympus – BX50: AUMENTOS 4x e 40x), conectado a uma vídeo-câmera (Samsung – SHC-410 NAD). Com auxílio de um computador acoplado ao microscópio óptico, através do software TV TunerApplication foram avaliados os seguintes parâmetros:

- Quantificação das células de Schwann;
- Quantificação dos axônios;
- Mensuração da área de secção transversa do nervo;

## 7.9 Análise Estatística

Com os dados obtidos, foi construído um banco de dados no Microsoft Excel (Versão Microsoft Office Professional Plus 2016, Microsoft Corporation) e posteriormente analisados através do software IBM SPSS Statistics (versão 20, IBM Corporation, 2011).

Para a avaliação qualitativa obtida através do questionário de avaliação da macroscopia do nervo ciático, os dados foram expressos em frequência.

Para os dados obtidos no IFC e histomorfometria foi realizado o teste de normalidade *Kolmogorov-Smirnov*. As variáveis com distribuição normal tiveram seus dados apresentados em média e desvio padrão e empregado o ANOVA, seguido do Teste de *Bonferroni*. Para as variáveis não normais, os dados foram apresentados em mediana e intervalos interquartis e foi utilizado Teste de *Kruskal-Wallis*, seguido da comparação em pares e o nível de significância adotado foi de 5%. Para construção dos gráficos foi utilizado o software GraphPad Prism (versão 7, 2016).

## 8 FINANCIAMENTO DO PROJETO

---

Este estudo não recebeu financiamento para seu desenvolvimento de pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco ou de outras agências de financiamento públicas ou privadas. No entanto, a aluna recebeu bolsa da *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (Brasil - CAPES – Código de Financiamento 001) para se dedicar exclusivamente ao doutorado.

## 9 RESULTADOS

---

Os resultados estão apresentados sob a forma de três artigos originais.

### 9.1 Artigo Original 1

Artigo de protocolo da técnica cirúrgica intitulado **“Protocol of a nerve neurotmesis sciatic repair using polyvinyl alcohol biofilm in *Wistar* rats”** aceito para publicação no Brazilian Neurosurgery (ANEXO C).

### 9.2 Artigo Original 2

Artigo intitulado **“Biofilme de álcool polivinílico e ácido ascórbico acelera a regeneração nervosa após uma neurotmeze: estudo experimental”** o qual está em fase de tradução e escolha da revista (ANEXO D).

### 9.3 Artigo Original 3

Artigo de protocolo de revisão sistemática intitulado **“Efficacy of tubing technique with biomaterials compared to direct coaptation technique after peripheral neurotmesis in nerve healing and return to functionality in young adult rats: a systematic review protocol”** publicado no Systematic Reviews (ANEXO E)

## 10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

O presente estudo estabeleceu um protocolo cirúrgico para a técnica de tubulização usando um biofilme de álcool polivinílico de alta reprodutibilidade após uma neurotmele do nervo ciático, tendo em vista a estabilidade mecânica, direcionamento dos cotos nervosos, cicatrização muscular, a baixa frequência de rompimento da pele e o baixo nível de complexidade da técnica, podendo ser utilizado em estudos futuros que avaliem outros biomateriais para reparo de nervo em ratos.

Aliado a isto, o protocolo de revisão sistemática resultará em um estudo que verificará a eficácia dos biomateriais utilizados nesta técnica no processo de cicatrização após neurotmele em ratos adultos jovens, auxiliando assim grupos experimentais na escolha do conduto mais adequado em estudo futuros;

Os dados obtidos por meio do artigo da histomorfometria indicam que, embora seis semanas não tenha sido suficiente para que o biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico acelerasse o retorno da funcionalidade, do ponto de vista macroscópico e microscópico ele parece ter contribuído para a regeneração nervosa precoce, visto que houve nestes animais um melhor alinhamento dos cotos, baixa porcentagem de neuromas e um aumento das células responsáveis pela regeneração. No entanto, para que isso possa ser visto no número de axônios e no retorno a funcionalidade, seria necessário um estudo com um seguimento de tempo maior.

## 11 RESULTADOS CIENTÍFICOS OBTIDOS

---

❖ Contribuiu para a compreensão dos efeitos do uso de biofilme de PVA com AA sobre o processo de cicatrização e propriedades histológicas do nervo ciático em ratos submetidos à neurotmeze.

❖ Produção de artigos científicos que já foram ou serão publicados em revistas indexadas internacionais ou nacionais pertinentes às áreas específicas (PRODUÇÃO CIENTÍFICA):

A doutoranda tem um artigo publicado no Systematic review journal (B1) intitulado **“Efficacy of tubing technique with biomaterials compared to direct coaptation technique after peripheral neurotmesis in nerve healing and return to functionality in young adult rats: a systematic review protocol”** (Anexo E);

O artigo intitulado **“Protocol of a nerve neurotmesis sciatic repair using polyvinyl alcohol biofilm in *Wistar* rats”** foi aceito em Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia (B5) (Anexo C);

Além disso, um artigo foi confeccionado e está em fase de tradução e escolha da revista, intitulado **“Biofilme de álcool polivinílico e ácido ascórbico acelera a regeneração nervosa após uma neurotmeze: estudo experimental”** (Anexo D).

❖ Gerou e divulgou material científico sobre o tema da pesquisa em congressos nacionais e internacionais e no meio acadêmico (EVENTOS):

Foram **aceitos dois resumos na Federação de Sociedades de Biologia Experimental 2021 (FeSBE 2021)** (Anexo F) intitulados **“Uso do biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico na recuperação funcional do nervo ciático em ratos *Wistar*”** (Co autora) e **“Avaliação da técnica cirúrgica de reparação de uma neurotmeze do nervo ciático utilizando um biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico: estudo experimental”**.

Dois alunos foram orientados em projetos de iniciação científica PIBIC/FACEPE 2019-2020 e PIBITI/UFPE 2019-2020, intitulados **“Uso do biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico na recuperação funcional do nervo ciático em ratos *Wistar*.”**; **“Avaliação da técnica cirúrgica de reparação de uma neurotmeze do nervo ciático utilizando um biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico: estudo experimental.”**, respectivamente.

Estes mesmos alunos tiveram a bolsa renovada nos respectivos programas de iniciação científica (2020-2021) com projetos intitulados **“Avaliação histomorfométrica do reparo nervoso do nervo ciático com biofilme de álcool polivinílico e ácido ascórbico em ratos *Wistar*”** e **“Reparação do nervo ciático com auxílio de um biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico após uma neurotmesa”**. Além deles uma nova aluna foi orientada em projeto de iniciação científica PIBIC/FACEPE 2020-2021 com projeto intitulado **“Protocolo de reparação de uma neurotmesa do nervo ciático utilizando o biofilme de álcool polivinílico e ácido ascórbico em ratos *Wistar*”**.

Foi **banca de trabalho de conclusão de curso** do aluno Romero Andion Sobrinho com o trabalho intitulado **“Reparação do nervo ciático com auxílio de um biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico após uma neurotmesa: estudo experimental” (2021)**, orientado pela professora Sílvia Regina Arruda de Moraes (Anexo G).

**Co-orientou três trabalhos de conclusão de curso intitulados** (Anexo H):

1. Paulo César da Silva Queiroz. Avaliação da aplicação do biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico na reparação cirúrgica da neurotmesa do nervo ciático em ratos *wistar*. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. (Universidade Federal de Pernambuco).

2. Estela Batista Santos. Uso do biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico na recuperação funcional do nervo ciático em ratos *Wistar* após três semanas de uma neurotmesa. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Universidade Federal de Pernambuco).

3. Héli da Cristina Cirilo da Silva. Protocolo de reparação de uma neurotmesa do nervo ciático utilizando o biofilme de álcool polivinílico e ácido ascórbico em ratos *wistar*. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Universidade Federal de Pernambuco).

❖ Na consolidação dos resultados deste estudo, almeja-se uma nova estratégia terapêutica baseada em tecnologias farmacológicas, além da criação de uma linha de pesquisa no estudo da utilização desta forma de terapia no âmbito do tratamento inicial e tardio de lesões nervosas. Neste sentido, tem-se realizado parceria com o Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturados (BIONANO) do Departamento de Bioquímica (UFPE).

## 12 ATIVIDADES PARALELAS DESENVOLVIDAS PELA ALUNA

---

### ❖ Em conjunto com a orientadora sem ser referente ao tema da pesquisa de doutorado:

A doutoranda publicou juntamente com a orientadora quatro artigos:

1. **Brito, A. C. N. L.**; Martins, W. A.; Queiroz, P. C. S. ; Santos, S. E. V. ; De Souza, R. F. ; Matos, D.G. ; Vancea, D.M.M. ; Esteves, A. C. F. ; Moraes, S. R. A. . **Standardization of a Treadmill Exercise Intensity Protocol in Rats with Diabetes Mellitus**. Journal of exercise physiology online, v. 22, p. 5-16, 2019. (Anexo I);

2. **Brito, A. C. N. L.**; Martins, W. A. ; Queiroz, P. C. S. ; Santos, S. E. V. ; Santos, T. M. ; De Souza, R. F. ; Pereira, D. D. ; Santos, M. T. G. ; Esteves, A. C. F. ; Moraes, S. R. A. **Combined treadmill running and insulin therapy favors the stabilization of glycemic metabolic parameters and avoids increased Achilles tendon rigidity in diabetic rats**. Muscles, ligaments and tendons journal, v. 10, p. 442-450, 2020. (Anexo J);

3. Martins, W. A. ; Silva, H. C. C. ; **Brito, A. C. N. L.** ; Moraes, S. R. A. . **Tolerância ao exercício físico em ratos com diabetes mellitus 1 após exercício em esteira e insulinoaterapia**. Revista brasileira de iniciação científica, v. 7, p. 264-280, 2020 (Anexo K).

4. Santos, S. E. V.; Queiroz, P. C. S.; **Brito, A. C. N. L.**; Moraes, S. R. A. **Efeito do exercício de intensidade moderada sobre a biomecânica do tendão de Aquiles em ratos diabéticos**”. Revista brasileira de iniciação científica, v.8, e21031, p. 1-17, 2021 (Anexo L).

Está co-orientando o aluno **Paulo César da Silva Queiroz** no mestrado do Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, com a pesquisa intitulada “**Avaliação dos níveis de ansiedade, depressão e atividade física em sobreviventes da covid-19**” (2020 – Atual).

Também ministrou com a orientadora o Curso de curta duração intitulado de **Curso de Dissecção Articular do Aparelho Locomotor**, 2018 (Anexo M).

**Co-orientou três trabalhos de conclusão de curso** (Anexo N):

1. Sara Emanuely Veríssimo Santos. Efeito do exercício de intensidade moderada em esteira sobre a biomecânica do tendão de aquiles em ratos diabéticos:

um estudo experimental. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. (Universidade Federal de Pernambuco).

2. Wilayane Alves Martins. Tolerância ao exercício físico em ratos com diabetes mellitus 1 após exercício em esteira e insulinoaterapia. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. (Universidade Federal de Pernambuco).

3. Douglas Sousa Matos. Avaliação do equilíbrio estático e dinâmico e do risco de quedas em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso. (Universidade Federal de Pernambuco)

Além disso, quatro **resumos publicados em anais de congresso** (Anexo O), dos quais dois foram premiados:

1. Santos, S. E. V.; **Brito, A. C. N. L.**; Martins, W. A.; Queiroz, P. C. S.; Teixeira, M.F.H.B.I.; Esteves, A. C. F.; Moraes, S. R. A. Biomecânica do tendão de aquiles em ratos diabéticos 1 após exercício em esteira e insulina. In: VII Congresso Pernambucano de Fisioterapia Respiratória, Cardiovascular e Terapia Intensiva da ASSOBRAFIR/ VII COPEFIR, 2019, Recife (1º lugar do congresso). Anais do VII Congresso Pernambucano de Fisioterapia Respiratória, Cardiovascular e Terapia Intensiva da ASSOBRAFIR/ VII COPEFIR, 2019.

2. Martins, W. A.; **Brito, A. C. N. L.**; Queiroz, P. C. S.; Santos, S. E. V.; Vancea, D.M.M.; Moraes, S. R. A. Tolerância ao exercício físico de ratos diabéticos 1 após insulinoaterapia e exercício em esteira. In: VII Congresso Pernambucano de Fisioterapia Respiratória, Cardiovascular e Terapia Intensiva da ASSOBRAFIR/ VII COPEFIR, 2019, Recife (2º lugar do congresso). Anais do VII Congresso Pernambucano de Fisioterapia Respiratória, Cardiovascular e Terapia Intensiva da ASSOBRAFIR/ VII COPEFIR, 2019.

3. Martins, W. A.; **Brito, A. C. N. L.**; Queiroz, P. C. S.; Esteves, A. C. F.; Moraes, S. R. A. Efeito do exercício de intensidade moderada em esteira sobre as propriedades biomecânicas do tendão de Aquiles de ratos diabéticos tipo 1 tratados com insulina. In: 10º Congresso Internacional de Fisioterapia, 2018, Fortaleza. Revista Brasileira de Crescimento e Desenvolvimento Humano, 2018.

4. Queiroz, P. C. S.; **Brito, A. C. N. L.**; Martins, W. A.; Vancea, D.M.M.; Moraes, S. R. A. Efeito da associação do exercício físico de intensidade moderada em esteira com insulinoaterapia sobre o condicionamento físico de ratos diabéticos tipo 1. In: 10º Congresso Internacional de Fisioterapia, 2018, Fortaleza. Revista Brasileira de Crescimento e Desenvolvimento Humano, 2018.

❖ **Atividades paralelas desenvolvidas pelo aluno com outras parcerias**

A aluna é **revisora de dois periódicos**: MLTJ Muscles, Ligaments and Tendons Journal desde 2020 e Systematic Reviews Journal (Anexo P).

Proferiu a palestras intituladas “**Aspectos éticos na pesquisa**” junto à disciplina Ética Profissional em Educação Física do curso de Bacharelado em Educação Física da Universidade Federal de Pernambuco em 2019, e a palestra “**Utilização de tecnologias inovadoras no ensino de anatomia do aparelho locomotor**” na disciplina de Anatomia 06 do Curso de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco no ano de 2019 (Anexo Q).

**Publicou dois artigos científicos intitulados:**

1. DE SOUZA, R. F.; Ferreira, A.R.P.; Matos, D.G.; Silva, E.P.; Silva, T.C.; Zanzona, A.F; Junior, H.A.; Schemly, P.A.L.S.; BRITO, A. C. N. L.; AIDAR, F. J. **Do compression stockings improve the performance of street runners?** Journal of Exercise Physiology Online, v. 21, p. 277-285, 2018 (Anexo R).

2. De Souza, R. F.; Rezende, P.E.N.; Matos, D.G.; Silva, R.A.B.; Schemly, P.A.L.S.; BRITO, A. C. N. L.; Gomes, J.H.; AIDAR, F. J. **Analysis of race performance on different floors using bumper tennis and barefoot.** Motricidade, v. 14, p. 142-147, 2018 (Anexo S).

Também participou de três **bancas de Trabalho de Conclusão de Curso** em 2019 (Anexo T):

1. Tácia Cavalcanti da Cruz. Frequência do nível de dor e incapacidade funcional em trabalhadores de escritório portadores de cervicalgia: um estudo transversal. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) - Centro Universitário Estácio do Recife.

2. Albérico Ostton da Silva e Líria de Lima Silva. Avaliação do equilíbrio e risco de quedas no indivíduo com diabetes mellitus tipo 2: uma revisão de literatura. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) - Centro Universitário Estácio do Recife.

3. Izabelly Karina S. Rodrigues e Hellen Tamirys A. de França. Efeitos da fisioterapia aquática no índice glicêmico, frequência cardíaca e pressão arterial em mulheres portadoras de diabetes mellitus tipo II: estudo antes e depois. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) - Centro Universitário Estácio do Recife.

### **13 DIFICULDADES ENCONTRADAS**

---

Em decorrência de ajustes do material com o procedimento experimental, houve um atraso na obtenção do biofilme no ano de 2018. Além disso, devido a pandemia da COVID-19, houve um atraso nas avaliações histomorfométricas.

## REFERÊNCIAS

---

- ABDULLAH, M.; JAMIL, R. T.; ATTIA, F. N. Vitamin C (ascorbic acid). **StatPearls [Internet]**, 2020.
- ABERCROMBIE, M.; JOHNSON, M. J. J. o. a. Quantitative histology of Wallerian degeneration: I. Nuclear population in rabbit sciatic nerve. **Journal of Anatomy**, 80, n. Pt 1, p. 37, 1946.
- ADAMS, A. M.; VANDUSEN, K. W.; KOSTROMINOVA, T. Y.; MERTENS, J. P. *et al.* Scaffoldless tissue-engineered nerve conduit promotes peripheral nerve regeneration and functional recovery after tibial nerve injury in rats. **Neural Regen Res**, 12, n. 9, p. 1529-1537, Sep 2017.
- AKHTER, E. T.; ROTTERMAN, T. M.; ENGLISH, A. W.; ALVAREZ, F. J. Sciatic Nerve Cut and Repair Using Fibrin Glue in Adult Mice. **J Bio-protocol**, 9, n. 18, 2019.
- ALEXOPOULOS, G.; PAVLIDIS, L.; TSAGARAKIS, M.; DELIMPALTAS, A. *et al.* Can ReGeneraTing Agents Improve Functional Recovery of Transected Peripheral Nerve through a Nerve Gap Bridged with an Artery Graft? **J Reconstr Microsurg Open**, 4, n. 01, p. e47-e53, 2019.
- ARNOLD, D. M. J.; WILKENS, S. C.; COERT, J. H.; CHEN, N. C. *et al.* Diagnostic Criteria for Symptomatic Neuroma. **Ann Plast Surg**, 82, n. 4, p. 420-427, Apr 2019.
- ARSLANTUNALI, D.; DURSUN, T.; YUCEL, D.; HASIRCI, N. *et al.* Peripheral nerve conduits: technology update. **Med Devices (Auckl)**, 7, p. 405, 2014.
- ASATO, F.; BUTLER, M.; BLOMBERG, H.; GORDH, T. Variation in rat sciatic nerve anatomy: implications for a rat model of neuropathic pain. **J Peripher Nerv Syst**, 5, n. 1, p. 19-21, Mar 2000.
- BADIA, J.; PASCUAL-FONT, A.; VIVÓ, M.; UDINA, E. *et al.* Topographical distribution of motor fascicles in the sciatic-tibial nerve of the rat. **Muscle & Nerve**, 42, n. 2, p. 192-201, 2010.
- BAIN, J.; MACKINNON, S.; HUNTER, D. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. **Plastic and reconstructive surgery**, 83, n. 1, p. 129-138, 1989.
- BAMBA, R.; RILEY, D. C.; KIM, J. S.; CARDWELL, N. L. *et al.* Evaluation of a Nerve Fusion Technique With Polyethylene Glycol in a Delayed Setting After Nerve Injury. **J Hand Surg Am**, 43, n. 1, p. 82 e81-82 e87, Jan 2018.
- BELANGER, K.; DINIS, T. M.; TAOURIRT, S.; VIDAL, G. *et al.* Recent strategies in tissue engineering for guided peripheral nerve regeneration. **Macromolecular Bioscience**, 16, n. 4, p. 472-481, 2016.

BELLA, J. Collagen structure: new tricks from a very old dog. **Biochemical Journal**, 473, n. 8, p. 1001-1025, 2016.

BERIHU, B. A.; DEBEB, Y. G. Anatomical variation in bifurcation and trifurcations of sciatic nerve and its clinical implications: in selected university in Ethiopia. **BMC Res Notes**, 8, p. 633, Nov 2 2015.

BERIS, A.; GKIATAS, I.; GELALIS, I.; PAPADOPOULOS, D. *et al.* Current concepts in peripheral nerve surgery. **Eur J Orthop Surg Traumatol**, 29, n. 2, p. 263-269, Feb 2019.

BHANGRA, K. S.; BUSUTTL, F.; PHILLIPS, J. B.; RAHIM, A. A. Using stem cells to grow artificial tissue for peripheral nerve repair. **Stem cells international**, 2016, 2016.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnol Adv**, 28, n. 3, p. 325-347, May-Jun 2010.

BIAZAR, E.; KHORASANI, M. T.; MONTAZERI, N.; POURSHAMSIAN, K. *et al.* Types of neural guides and using nanotechnology for peripheral nerve reconstruction. **Int J Nanomedicine**, 5, p. 839-852, Oct 21 2010.

BOU-GHARIOS, G.; ABRAHAM, D.; DE CROMBRUGGHE, B. Type I collagen structure, synthesis, and regulation. *In: Principles of bone biology*: Elsevier, 2020. p. 295-337.

BOYD, J. G.; GORDON, T. Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. **Molecular neurobiology**, 27, n. 3, p. 277-323, 2003.

BRUNELLI, G. A.; BATTISTON, B.; VIGASIO, A.; BRUNELLI, G. *et al.* Bridging nerve defects with combined skeletal muscle and vein conduits. **Microsurgery**, 14, n. 4, p. 247-251, 1993.

BRYCE, S. Elementos Fundamentais do Sistema Nervoso 3: circulação e células não-nervosas. *In: Neurociências para Fisioterapeutas*. 2 ed., 2001. v. 2, p. 64.

BURNETT, R.; GUICHARD, Y.; BARALE, E. Immunohistochemistry for light microscopy in safety evaluation of therapeutic agents: an overview. **J Toxicology**, 119, n. 1, p. 83-93, 1997.

CAPKIN, S.; AKHISAROGLU, M.; ERGUR, B. U.; BACAKOGLU, A. A. A biological tube technique for the repair of peripheral nerve defects using 'stuffed nerves'. **Ulus Travma Acil Cerrahi Derg**, 23, n. 1, p. 7-14, Jan 2017.

CARRIEL, V.; GARZÓN, I.; ALAMINOS, M.; CORNELISSEN, M. Histological assessment in peripheral nerve tissue engineering. **Neural regeneration research**, 9, n. 18, p. 1657, 2014.

CHALLONER, T.; POWER, D. M.; BEALE, S.; NIJRAN, A. *et al.* Pathogenesis, clinical evaluation and non-surgical management of symptomatic neuromas: A literature review. **Journal of Musculoskeletal Surgery**, 3, n. 1, p. 15, 2019.

CHEN, L.-E.; SEABER, A. V.; URBANIAK, J. R.; MURRELL, G. A. Denatured muscle as a nerve conduit: a functional, morphologic, and electrophysiologic evaluation. **Journal of reconstructive microsurgery**, 10, n. 03, p. 137-144, 1994.

CHEN, Y., 2019, **Chitosan composites nerve conduits**. EDP Sciences. 01006.

CHENG, G.; DAVOUDI, Z.; XING, X.; YU, X. *et al.* Advanced silk fibroin biomaterials for cartilage regeneration. **ACS Biomaterials Science Engineering** 4, n. 8, p. 2704-2715, 2018.

CHENG, M.; DENG, J.; YANG, F.; GONG, Y. *et al.* Study on physical properties and nerve cell affinity of composite films from chitosan and gelatin solutions. **Biomaterials**, 24, n. 17, p. 2871-2880, Aug 2003.

CHERNOUSOV, M. A.; YU, W. M.; CHEN, Z. L.; CAREY, D. J. *et al.* Regulation of Schwann cell function by the extracellular matrix. **Glia**, 56, n. 14, p. 1498-1507, 2008.

CHIRCHIGLIA, D.; CHIRCHIGLIA, P.; PUGLIESE, D.; MAROTTA, R. The Legacy of Rita Levi-Montalcini: From Nerve Growth Factor to Neuroinflammation. **The Neuroscientist**, 26, n. 1, p. 16-20, 2020.

DA SILVA, I. B.; LÓZ, D. B.; DE ANDRADE, R. F.; DO COUTO SOARES MACIEL, C. *et al.* Sugarcane Biopolymer as a Guide Tube in the Regeneration of Peripheral Nerves in Rats. **International Journal of Morphology**, 37, n. 1, 2019.

DARWICHE, W.; GOMILA, C.; OULED-HADDOU, H.; NAUDOT, M. *et al.* Ascorbic acid (vitamin C) synergistically enhances the therapeutic effect of targeted therapy in chronic lymphocytic leukemia. **Journal of Experimental Clinical Cancer Research** 39, n. 1, p. 1-17, 2020.

DE MEDINACELI, L.; FREED, W. J.; WYATT, R. J. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. **Experimental neurology**, 77, n. 3, p. 634-643, 1982.

DELLON, E. S.; DELLON, A. L. The first nerve graft, Vulpian, and the nineteenth century neural regeneration controversy. **The Journal of hand surgery**, 18, n. 2, p. 369-372, 1993.

DEPHILLIPO, N. N.; AMAN, Z. S.; KENNEDY, M. I.; BEGLEY, J. *et al.* Efficacy of vitamin C supplementation on collagen synthesis and oxidative stress after musculoskeletal injuries: a systematic review. **Orthopaedic journal of sports medicine**, 6, n. 10, p. 2325967118804544, 2018.

DODLA, M. C.; ALVARADO-VELEZ, M.; MUKHATYAR, V. J.; BELLAMKONDA, R. V. Peripheral nerve regeneration. *In: Principles of Regenerative medicine*: Elsevier, 2019. p. 1223-1236.

DONATO, A.; KAGIAS, K.; ZHANG, Y.; HILLIARD, M. A. Neuronal sub-compartmentalization: a strategy to optimize neuronal function. **Biol Rev Camb Philos Soc**, 94, n. 3, p. 1023-1037, Jun 2019.

DOOLABH, V. B.; HERTL, M. C.; MACKINNON, S. E. The role of conduits in nerve repair: a review. **Reviews in the Neurosciences**, 7, n. 1, p. 47-84, 1996.

DOSHI, J.; RENEKER, D. H., 1993, **Electrospinning process and applications of electrospun fibers**. IEEE. 1698-1703.

DUBOVÝ, P.; JANČÁLEK, R.; KUBEK, T. Role of inflammation and cytokines in peripheral nerve regeneration. *In: International review of neurobiology*: Elsevier, 2013. v. 108, p. 173-206.

EVANS, P. J.; MACKINNON, S. E.; MIDHA, R.; WADE, J. A. *et al.* Regeneration across cold preserved peripheral nerve allografts. **Microsurgery**, 19, n. 3, p. 115-127, 1999.

FAROKHI, M.; MOTTAGHITALAB, F.; SHOKRGOZAR, M. A.; KAPLAN, D. L. *et al.* Prospects of peripheral nerve tissue engineering using nerve guide conduits based on silk fibroin protein and other biopolymers. **International Materials Reviews**, 62, n. 7, p. 367-391, 2017.

FARONI, A.; MOBASSERI, S. A.; KINGHAM, P. J.; REID, A. J. Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives. **Adv Drug Deliv Rev**, 82-83, p. 160-167, Mar 2015.

FERNANDO, I. P. S.; LEE, W.; HAN, E. J.; AHN, G. Alginate-based nanomaterials: fabrication techniques, properties, and applications. **Chemical Engineering Journal**, p. 123823, 2019.

FLORES, A. J.; LAVERNIA, C. J.; OWENS, P. W. Anatomy and physiology of peripheral nerve injury and repair. **Am J Orthop (Belle Mead NJ)**, 29, n. 3, p. 167-173, Mar 2000.

GATENBY, J. B.; MOUSSA, T. A. XVII.—THE DORSAL ROOT GANGLION CELL OF THE KITTEN WITH SUDAN DYES AND THE ZERNICKE MICROSCOPE. **Journal of the Royal Microscopical Society**, 69, n. 4, p. 185-199, 1949.

GOLAFSHAN, N.; KHARAZIHA, M.; FATHI, M. Tough and conductive hybrid graphene-PVA: Alginate fibrous scaffolds for engineering neural construct. **Carbon**, 111, p. 752-763, 2017.

GU, X.; DING, F.; YANG, Y.; LIU, J. Construction of tissue engineered nerve grafts and their application in peripheral nerve regeneration. **Progress in neurobiology**, 93, n. 2, p. 204-230, 2011.

GULATI, A. K. Peripheral nerve regeneration through short- and long-term degenerated nerve transplants. **Brain Res**, 742, n. 1-2, p. 265-270, Dec 2 1996.

GUPTA, K. C.; HAIDER, A.; CHOI, Y.-r.; KANG, I.-k. Nanofibrous scaffolds in biomedical applications. **Biomaterials research**, 18, n. 1, p. 1-11, 2014.

GUTMANN, E.; HOLUBÁŘ, J. The degeneration of peripheral nerve fibres. **Journal of neurology, neurosurgery, psychiatry** 13, n. 2, p. 89, 1950.

HEINBOCKEL, T.; CSOKA, A. B. Introductory Chapter: The Chemical Basis of Neural Function and Dysfunction. *In*: **Neurochemical Basis of Brain Function and Dysfunction**: IntechOpen, 2019.

HENNIG, R. Section of fibular nerve affects activity pattern and contractile properties of soleus motor units in adult rats. **Acta physiologica scandinavica**, 130, n. 1, p. 143-151, 1987.

HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, A. C.; TÉLLEZ-JURADO, L.; RODRÍGUEZ-LORENZO, L. M. Alginate hydrogels for bone tissue engineering, from injectables to bioprinting: A review. **Carbohydrate Polymers**, 229, p. 115514, 2020.

HIRASAWA, Y. Peripheral nerve suture. **Journal of Orthopaedic Science**, 1, n. 3, p. 214-229, 1996.

HOLMES, W.; YOUNG, J. Nerve regeneration after immediate and delayed suture. **Journal of Anatomy**, 77, n. Pt 1, p. 63, 1942.

HOUSHYAR, S.; BHATTACHARYYA, A.; SHANKS, R. Peripheral Nerve Conduit: Materials and Structures. **ACS Chem Neurosci**, 10, n. 8, p. 3349-3365, Aug 21 2019.

IDE, C. Peripheral nerve regeneration. **Neurosci Res**, 25, n. 2, p. 101-121, Jun 1996.

IDE, C.; TOHYAMA, K.; YOKOTA, R.; NITATORI, T. *et al.* Schwann cell basal lamina and nerve regeneration. **Brain Res**, 288, n. 1-2, p. 61-75, Dec 12 1983.

IQBAL, K.; KHAN, A.; KHATTAK, M. Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health-a review. **Pakistan Journal of Nutrition**, 3, n. 1, p. 5-13, 2004.

ISAACS, J.; SAFA, B.; EVANS, P. J.; GREENBERG, J. Technical assessment of connector-assisted nerve repair. **The Journal of hand surgery**, 41, n. 7, p. 760-766, 2016.

ISLAM, S.; BHUIYAN, M. R.; ISLAM, M. Chitin and chitosan: structure, properties and applications in biomedical engineering. **Journal of Polymers the Environment** 25, n. 3, p. 854-866, 2017.

JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, J. Tecido nervoso. **Junqueira J, Carneiro F. Histologia Básica: Texto & Atlas. 12th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan**, p. 149-175, 2013.

KLIMASCHEWSKI, L.; HAUSOTT, B.; ANGELOV, D. N. The pros and cons of growth factors and cytokines in peripheral axon regeneration. **Int Rev Neurobiol**, 108, p. 137-171, 2013.

KLINE, D. G. Macroscopic and microscopic concomitants of nerve repair. **Neurosurgery**, 26, n. CN\_suppl\_1, p. 582-606, 1979.

KONG, B.; MI, S. Electrospun scaffolds for corneal tissue engineering: A review. **Materials**, 9, n. 8, p. 614, 2016.

KONOFAOS, P.; VER HALEN, J. P. Nerve repair by means of tubulization: past, present, future. **J Reconstr Microsurg**, 29, n. 3, p. 149-164, Mar 2013.

KORNFELD, T.; VOGT, P. M.; RADTKE, C. Nerve grafting for peripheral nerve injuries with extended defect sizes. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, 169, n. 9-10, p. 240-251, 2019.

KÜRY, P.; STOLL, G.; MÜLLER, H. W. Molecular mechanisms of cellular interactions in peripheral nerve regeneration. **Current opinion in neurology**, 14, n. 5, p. 635-639, 2001.

LI, L.; LI, Y.; FAN, Z.; WANG, X. *et al.* Ascorbic acid facilitates neural regeneration after sciatic nerve crush injury. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, 13, p. 108, 2019.

LI, L.; XU, Y.; WANG, X.; LIU, J. *et al.* Ascorbic acid accelerates Wallerian degeneration after peripheral nerve injury. **Neural Regeneration Research**, 16, n. 6, p. 1078, 2020.

LIRA, K. D. S. d. **Avaliação do ultrassom terapêutico associado à terapia de células mononucleares da medula óssea na reinervação do tecido muscular**. 2013. -, Universidade Federal de Pernambuco.

LIU, B. S. Fabrication and evaluation of a biodegradable proanthocyanidin-crosslinked gelatin conduit in peripheral nerve repair. **Journal of Biomedical Materials Research**, 87, n. 4, p. 1092-1102, 2008.

LIU, D.; NIKOO, M.; BORAN, G.; ZHOU, P. *et al.* Collagen and gelatin. **Annu Rev Food Sci Technol**, 6, p. 527-557, 2015.

LIU, P.; PENG, J.; HAN, G.-H.; DING, X. *et al.* Role of macrophages in peripheral nerve injury and repair. **Neural regeneration research**, 14, n. 8, p. 1335, 2019.

LOEWENSTEIN, S. N.; ADKINSON, J. M. Tendon Transfers for Peripheral Nerve Palsies. **Clin Plast Surg**, 46, n. 3, p. 307-315, Jul 2019.

LÓS, D. B.; NOVAES, K. A.; DE MIRANDA, F. B. C.; DE LIRA, K. D. S. *et al.* Regenerative capacity and histomorphometric changes in rat sciatic nerve following experimental neurotmesis. **Int. J. Morphol**, 33, n. 2, p. 777-781, 2015.

MAGAZ, A.; FARONI, A.; GOUGH, J. E.; REID, A. J. *et al.* Bioactive Silk-Based Nerve Guidance Conduits for Augmenting Peripheral Nerve Repair. **Adv Healthc Mater**, 7, n. 23, p. e1800308, Dec 2018.

MAJD, S. A.; KHORASGANI, M. R.; MOSHTAGHIAN, S. J.; TALEBI, A. *et al.* Application of Chitosan/PVA Nano fiber as a potential wound dressing for streptozotocin-induced diabetic rats. **International journal of biological macromolecules**, 92, p. 1162-1168, 2016.

MALANOTTE, J. A.; KAKIHATA, C. M. M.; KARVAT, J.; BRANCALHAO, R. M. C. *et al.* Jumping in aquatic environment after sciatic nerve compression: nociceptive evaluation and morphological characteristics of the soleus muscle of Wistar rats. **Einstein (Sao Paulo)**, 15, n. 1, p. 77-84, Jan-Mar 2017.

MANELA-AZULAY, M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; PEREZ, M. d. A.; FILGUEIRA, A. L. *et al.* Vitamina C. **Anais brasileiros de dermatologia**, 78, n. 3, p. 265-272, 2003.

MATEJČÍK, V.; HAVIAROVÁ, Z.; KURUC, R.; ŠTEŇO, A. *et al.* Injuries of the Peripheral Nerves. *In: Intraspinal Variations of Nerve Roots*: Springer, 2019. p. 15-24.

MEEK, M. F.; VAREJÃO, A. S.; GEUNA, S. Use of skeletal muscle tissue in peripheral nerve repair: review of the literature. **Tissue engineering**, 10, n. 7-8, p. 1027-1036, 2004.

MEHEDINTU-IONESCU, M.; STEFANESCU, O.; JECAN, R. C. Nervous Regeneration Allograph Type of Periferic Nerv. **Modern Medicine**, 26, n. 2, p. 58, 2019.

MINNONE, G.; DE BENEDETTI, F.; BRACCI-LAUDIERO, L. NGF and Its Receptors in the Regulation of Inflammatory Response. **Int J Mol Sci**, 18, n. 5, May 11 2017.

MIRANDA, G. E.; TORRES, R. Y. Epidemiology of Traumatic Peripheral Nerve Injuries Evaluated with Electrodiagnostic Studies in a Tertiary Care Hospital Clinic. **P R Health Sci J**, 35, n. 2, p. 76-80, Jun 2016.

MODRAK, M.; TALUKDER, M. A. H.; GURGENASHVILI, K.; NOBLE, M. *et al.* Peripheral nerve injury and myelination: Potential therapeutic strategies. **J Neurosci Res**, Oct 13 2019.

MOHAMMADI, J.; DELAVIZ, H.; MOHAMMADI, B.; DELAVIZ, H. *et al.* Comparison of repair of peripheral nerve transection in predegenerated muscle with and without a vein graft. **BMC neurology**, 16, n. 1, p. 237, 2016.

MOHAMMADI, R.; AMINI, K.; CHAREHSAZ, S. Homeopathic treatment for peripheral nerve regeneration: an experimental study in a rat sciatic nerve transection model. **Homeopathy**, 101, n. 3, p. 141-146, Jul 2012.

MOORES, J. Vitamin C: a wound healing perspective. **British journal of community nursing**, 18, n. Sup12, p. S6-S11, 2013.

MORETTI, M.; FRAGA, D. B.; RODRIGUES, A. L. S. J. C. N.; THERAPEUTICS. Preventive and therapeutic potential of ascorbic acid in neurodegenerative diseases. **CNS Neuroscience Therapeutics**, 23, n. 12, p. 921-929, 2017.

MORETTI, M.; RODRIGUES, A. L. S. Ascorbic acid as an antioxidant and applications to the central nervous system. *In*: **Pathology**: Elsevier, 2020. p. 159-167.

MOSAHEBI, A.; FULLER, P.; WIBERG, M.; TERENCEHI, G. Effect of allogeneic Schwann cell transplantation on peripheral nerve regeneration. **Experimental neurology**, 173, n. 2, p. 213-223, 2002.

MOSKOW, J.; FERRIGNO, B.; MISTRY, N.; JAISWAL, D. *et al.* Review: Bioengineering approach for the repair and regeneration of peripheral nerve. **Bioact Mater**, 4, n. 1, p. 107-113, Mar 2019.

NADI, M.; MIDHA, R. Management of Peripheral Nerve Injuries. *In*: **Principles of Neurological Surgery**: Elsevier, 2018. p. 832-841. e832.

NAVARRO, X.; VIVO, M.; VALERO-CABRE, A. Neural plasticity after peripheral nerve injury and regeneration. **Prog Neurobiol**, 82, n. 4, p. 163-201, Jul 2007.

NEUMEISTER, M. W.; WINTERS, J. N. Neuroma. **Clin Plast Surg**, 47, n. 2, p. 279-283, Apr 2020.

NJUS, D.; KELLEY, P. M.; TU, Y.-J.; SCHLEGEL, H. B. Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. **Free Radical Biology Medicine**, 2020.

PANAGOPOULOS, G. N.; MEGALOIKONOMOS, P. D.; MAVROGENIS, A. F. The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration. **Orthopedics**, 40, n. 1, p. e141-e156, Jan 1 2017.

PANSERI, S.; CUNHA, C.; LOWERY, J.; DEL CARRO, U. *et al.* Electrospun micro- and nanofiber tubes for functional nervous regeneration in sciatic nerve transections. **BMC Biotechnol**, 8, p. 39, Apr 11 2008.

PATEL, N. P.; LYON, K. A.; HUANG, J. H. An update-tissue engineered nerve grafts for the repair of peripheral nerve injuries. **Neural Regen Res**, 13, n. 5, p. 764-774, May 2018.

PEDERSON, W. C. Median nerve injury and repair. **The Journal of hand surgery**, 39, n. 6, p. 1216-1222, 2014.

PERRETTA, D.; GREEN, S. Bridging the Gap in Peripheral Nerve Repair. **Bull Hosp Jt Dis (2013)**, 75, n. 1, p. 57-63, Jan 2017.

PETERSEN, J.; RUSSELL, L.; ANDRUS, K.; MACKINNON, M. *et al.* Reduction of extraneural scarring by ADCON-T/N after surgical intervention. **Neurosurgery**, 38, n. 5, p. 976-984, 1996.

PEYRONNARD, J. M.; CHARRON, L. Motor and sensory neurons of the rat sural nerve: a horseradish peroxidase study. **Muscle Nerve**, 5, n. 8, p. 654-660, Oct 1982.

PFISTER, L. A.; PAPALOÏZOS, M.; MERKLE, H. P.; GANDER, B. Nerve conduits and growth factor delivery in peripheral nerve repair. **Journal of the Peripheral Nervous System**, 12, n. 2, p. 65-82, 2007.

POPA, V. I.; RACASAN, O. F.; MARGINA, A. C.; CORTAN, S. *et al.* Advances in Peripheral Nerve Regeneration: Materials, Methods, Techniques. **Modern Medicine**, 23, n. 4, p. 258, 2016.

QI, Y.; WANG, H.; WEI, K.; YANG, Y. *et al.* A review of structure construction of silk fibroin biomaterials from single structures to multi-level structures. **International journal of molecular sciences**, 18, n. 3, p. 237, 2017.

RAIMONDO, S.; FORNARO, M.; TOS, P.; BATTISTON, B. *et al.* Perspectives in regeneration and tissue engineering of peripheral nerves. **Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger**, 193, n. 4, p. 334-340, 2011.

RAMOS, C. M.; BARGUES, M. J. M.; ROCA, F. G.; DOBLADO, L. R. *et al.*, 2018, **Electrical stimulation increases schwann cells proliferation inside hyaluronic acid conduits**. IEEE. 1-2.

RAY, W. Z.; MACKINNON, S. E. Management of nerve gaps: autografts, allografts, nerve transfers, and end-to-side neurorrhaphy. **Experimental neurology**, 223, n. 1, p. 77, 2010.

RICCIO, M.; MARCHESINI, A.; PUGLIESE, P.; DE FRANCESCO, F. Nerve repair and regeneration: Biological tubulization limits and future perspectives. **Journal of cellular physiology**, 234, n. 4, p. 3362-3375, 2019.

ROQUE, J. S.; POMINI, K. T.; BUCHAIM, R. L.; BUCHAIM, D. V. *et al.* Inside-out and standard vein grafts associated with platelet-rich plasma (PRP) in sciatic nerve repair. A histomorphometric study. **Acta Cir Bras**, 32, n. 8, p. 617-625, Aug 2017.

ROTSCHENKER, S. Wallerian degeneration: the innate-immune response to traumatic nerve injury. **J Neuroinflammation**, 8, p. 109, Aug 30 2011.

SANLI, E.; DINCEL, G. C.; UMay, E. Effect of local and systemic dimethylsulfoxide on peripheral nerve repair: A controlled randomized experimental study. **Journal of Investigative Surgery**, p. 1-12, 2019.

SANTORO, M.; SHAH, S. R.; WALKER, J. L.; MIKOS, A. G. Poly(lactic acid) nanofibrous scaffolds for tissue engineering. **Adv Drug Deliv Rev**, 107, p. 206-212, Dec 15 2016.

SARKER, M.; NAGHIEH, S.; MCINNES, A. D.; SCHREYER, D. J. *et al.* Regeneration of peripheral nerves by nerve guidance conduits: Influence of design, biopolymers, cells, growth factors, and physical stimuli. **Progress in neurobiology**, 171, p. 125-150, 2018.

SAUDI, A.; AMINI, S.; AMIRPOUR, N.; KAZEMI, M. *et al.* Promoting neural cell proliferation and differentiation by incorporating lignin into electrospun poly (vinyl alcohol) and poly (glycerol sebacate) fibers. **Materials Science Engineering: C** 104, p. 110005, 2019.

SCHMIDT, C. E.; LEACH, J. B. Neural tissue engineering: strategies for repair and regeneration. **Annual review of biomedical engineering** 5, n. 1, p. 293-347, 2003.

SEBBEN, A. D.; COCOLICHIO, F.; SCHMITT, A. P.; CURRA, M. D. *et al.* Effect of neurotrophic factors on peripheral nerve repair [Abstract in English]. **Scientia Medica**, 21, n. 2, p. 81-89, 2011.

SEDDON, H. Three types of nerve injury. **Brain**, 66, n. 4, p. 237-288, 1943.

ŞENTÜRK, M.; ÇAKIR, M.; TEKIN, A.; KÜÇÜKKARTALLAR, T. *et al.* Comparison of primary repair and repair with polyglycolic acid coated tube in recurrent laryngeal nerve cuts (an experimental study). **The American Journal of Surgery**, 2019.

SHOKRGOZAR, M. A.; MOTTAGHITALAB, F.; MOTTAGHITALAB, V.; FAROKHI, M. Fabrication of porous chitosan/poly (vinyl alcohol) reinforced single-walled carbon nanotube nanocomposites for neural tissue engineering. **Journal of biomedical nanotechnology**, 7, n. 2, p. 276-284, 2011.

SIEMIONOW, M.; BOBKIEWICZ, A.; CWYKIEL, J.; UYGUR, S. *et al.* Epineural sheath jacket as a new surgical technique for neuroma prevention in the rat sciatic nerve model. **J Annals of plastic surgery**, 79, n. 4, p. 377-384, 2017.

SIEMIONOW, M.; BOZKURT, M.; ZOR, F. Regeneration and repair of peripheral nerves with different biomaterials: review. **Microsurgery**, 30, n. 7, p. 574-588, Oct 2010.

SILVA, J. B.; MARCHESE, G.; CAUDURO, C.; DEBIASI, M. J. H. S. *et al.* Nerve conduits for treating peripheral nerve injuries: A systematic literature review. **J Hand Surgery Rehabilitation** 36, n. 2, p. 71-85, 2017.

SINGER, C. Notes on the early history of microscopy. **J Proceedings of the Royal Society of Medicine**, 7, n. Sect\_Hist\_Med, p. 247-279, 1914.

SOUZA, M.; MORAES, S.; DE PAULA, D.; MACIEL, A. *et al.* Local treatment with ascorbic acid accelerates recovery of post-sutured Achilles tendon in male Wistar rats. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, 52, n. 9, 2019.

STOCCO, E.; BARBON, S.; LORA, L.; GRANDI, F. *et al.* Partially oxidized polyvinyl alcohol conduit for peripheral nerve regeneration. **Scientific reports**, 8, n. 1, p. 1-14, 2018.

SUAID, C. A.; SANTOS, A. P.; DE OLIVEIRA YAMANE, O.; FAZAN, V. P. S. *et al.* Aspects of the macro and microscopic anatomy of the sciatic nerve in wistar rats. **Int. j. morphol**, 34, n. 3, p. 877-884, 2016.

SUNDERLAND, S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. **Brain**, 74, n. 4, p. 491-516, 1951.

SURI, S.; HAN, L. H.; ZHANG, W.; SINGH, A. *et al.* Solid freeform fabrication of designer scaffolds of hyaluronic acid for nerve tissue engineering. **Biomed Microdevices**, 13, n. 6, p. 983-993, Dec 2011.

SZAL, G. J.; MILLER, T. Surgical repair of facial nerve branches. An analysis of different sheathing and suturing techniques. **Arch Otolaryngol**, 101, n. 3, p. 160-165, Mar 1975.

TASSLER, P.; DELLON, A.; CANOUN, C. Identification of elastic fibres in the peripheral nerve. **Journal of Hand Surgery**, 19, n. 1, p. 48-54, 1994.

TEIXEIRA, M. A.; AMORIM, M. T. P.; FELGUEIRAS, H. P. Poly (Vinyl Alcohol)-Based Nanofibrous Electrospun Scaffolds for Tissue Engineering Applications. **Polymers**, 12, n. 1, p. 7, 2020.

TIAN, L.; PRABHAKARAN, M. P.; RAMAKRISHNA, S. Strategies for regeneration of components of nervous system: scaffolds, cells and biomolecules. **Regen Biomater**, 2, n. 1, p. 31-45, Mar 2015.

TREHAN, S. K.; MODEL, Z.; LEE, S. K. Nerve Repair and Nerve Grafting. **Hand Clin**, 32, n. 2, p. 119-125, May 2016.

UZMAN, B. G.; NOGUEIRA-GRAF, G. Electron microscope studies of the formation of nodes of Ranvier in mouse sciatic nerves. **The Journal of Cell Biology**, 3, n. 4, p. 589-598, 1957.

VALLES RAMÍREZ, S. M. **Avaliação dos efeitos da idade da fibroína de seda nas suas propriedades durante o processamento**. 2016. 84 f. Dissertation -, Universidade Estadual de Campinas.

VICENTE, E.; VIOTTO, M.; BARBOSA, C.; VICENTE, P. Study on anatomical relationships and variations between the sciatic nerve and piriform muscle. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, 11, n. 3, p. 227-232, 2007.

WANG, C. Y.; LIU, J. J.; FAN, C. Y.; MO, X. M. *et al.* The effect of aligned core-shell nanofibres delivering NGF on the promotion of sciatic nerve regeneration. **J Biomater Sci Polym Ed**, 23, n. 1-4, p. 167-184, 2012.

WANG, M. L.; RIVLIN, M.; GRAHAM, J. G.; BEREDJIKLIAN, P. K. Peripheral nerve injury, scarring, and recovery. **Connect Tissue Res**, 60, n. 1, p. 3-9, Jan 2019.

WANG, S.; CAI, L. Polymers for fabricating nerve conduits. **International Journal of Polymer Science**, 2010, 2010.

WELLER, W. J. Emerging Technologies in Upper Extremity Surgery: Polyvinyl Alcohol Hydrogel Implant for Thumb Carpometacarpal Arthroplasty and Processed Nerve

Allograft and Nerve Conduit for Digital Nerve Repairs. **Orthop Clin North Am**, 50, n. 1, p. 87-93, Jan 2019.

WIERINGA, P. A.; GONCALVES DE PINHO, A. R.; MICERA, S.; VAN WEZEL, R. J. A. *et al.* Biomimetic Architectures for Peripheral Nerve Repair: A Review of Biofabrication Strategies. **Adv Healthc Mater**, 7, n. 8, p. e1701164, Apr 2018.

WOLFE SCOTT, W.; HOTCHKISS ROBERT, N.; PEDERSON WILLIAM, C.; KOZIN SCOTT, H. Green's operative hand surgery. **Arthroplasty arthodesis of the wrist**, p. 429-741, 2011.

WOODRUFF, M. A.; HUTMACHER, D. W. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. **Progress in polymer science**, 35, n. 10, p. 1217-1256, 2010.

WU, R.; WANG, L.; CHEN, F.; HUANG, Y. *et al.* Evaluation of artificial nerve conduit and autografts in peripheral nerve repair in the rat model of sciatic nerve injury. **Neurol Res**, 38, n. 5, p. 461-466, May 2016.

XIE, J.; MACEWAN, M. R.; LIU, W.; JESURAJ, N. *et al.* Nerve guidance conduits based on double-layered scaffolds of electrospun nanofibers for repairing the peripheral nervous system. **ACS Appl Mater Interfaces**, 6, n. 12, p. 9472-9480, Jun 25 2014.

XU, K.; NIU, Y.; ZHU, Y.; LIU, X. *et al.* Scaffolds of biodegradable block polyurethanes for nerve regeneration. *In: Advances in Polyurethane Biomaterials*: Elsevier, 2016. p. 599-629.

XUE, J.; WU, T.; DAI, Y.; XIA, Y. Electrospinning and electrospun nanofibers: Methods, materials, and applications. **Chemical reviews**, 119, n. 8, p. 5298-5415, 2019.

YAZAR, U.; ÇAKIR, E.; BOZ, C.; ÇOBANOĞLU, Ü. *et al.* Electrophysiological, functional and histopathological assessments of high dose melatonin on regeneration after blunt sciatic nerve injury. **Journal of Clinical Neuroscience**, 2020.

YI, S.; XU, L.; GU, X. Scaffolds for peripheral nerve repair and reconstruction. **Experimental neurology**, p. 112761, 2018.

YOUSEFI, F.; ARAB, F. L.; NIKKHAH, K.; AMIRI, H. *et al.* Novel approaches using mesenchymal stem cells for curing peripheral nerve injuries. **Life sciences**, 2019.

YU, A. P.; SHEN, Y. J.; QIU, Y. Q.; LI, J. *et al.* Comparative effects of implanted electrodes with differing contact patterns on peripheral nerve regeneration and functional recovery. **Neurosci Res**, 145, p. 22-29, Aug 2019.

YURIE, H.; IKEGUCHI, R.; AOYAMA, T.; KAIZAWA, Y. *et al.* The efficacy of a scaffold-free Bio 3D conduit developed from human fibroblasts on peripheral nerve regeneration in a rat sciatic nerve model. **PLoS One**, 12, n. 2, p. e0171448, 2017.

ZAREH, M.; MANSHAEI, M. H.; ADIBI, M.; MONTAZERI, M. A. Neurons and astrocytes interaction in neuronal network: A game-theoretic approach. **Journal of theoretical biology**, 470, p. 76-89, 2019.

ZHANG, P. X.; HAN, N.; KOU, Y. H.; ZHU, Q. T. *et al.* Tissue engineering for the repair of peripheral nerve injury. **Neural Regen Res**, 14, n. 1, p. 51-58, Jan 2019.

ZHAO, Q.; LI, Z. Y.; ZHANG, Z. P.; MO, Z. Y. *et al.* Polylactic-co-glycolic acid microspheres containing three neurotrophic factors promote sciatic nerve repair after injury. **Neural Regen Res**, 10, n. 9, p. 1491-1497, Sep 2015.

## ANEXO A – PARECER DE ALTERAÇÃO DE TÍTULO E METODOLOGIA DA COMISSÃO DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS (CEUA)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE**  
**CENTRO DE BIOCIÊNCIAS - CB**  
**COMISSÃO DE ÉTICA DE USO ANIMAL - CEUA**



### PARECER

Certificamos que a proposta intitulada **"Utilização de biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico como coadjuvante no processo de cicatrização do nervo ciático"**, registrada com o nº 23076.052306/2017-10 do processo, sob a responsabilidade da **Prof. Sílvia Regina Arruda de Moraes**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), em reunião no dia 02/07/2019.

|                                     |                                                                           |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| Finalidade                          | ( ) Ensino (x) Pesquisa Científica                                        |
| Vigência da autorização             | 03/2018 - 03/2022                                                         |
| Espécie/linhagem/raça               | Rato novergicus, wistar                                                   |
| Nº de animais                       | 182                                                                       |
| Peso/Idade                          | 100-180g/40 dias                                                          |
| Sexo                                | Macho (182)                                                               |
| Origem: Biotério de Criação         | Biotério José Paulino do Departamento de Nutrição da UFPE.                |
| Destino: Biotério de Experimentação | Biotério de Experimentação Animal do Departamento de Anatomia - CB/ UFPE. |

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva  
Vice-Presidente CEUA/UFPE  
SIAPE 2345691

Reconhecer e Empreender para o Futuro  
Centro de Biociências - UFPE  
Av. Moraes Rego, S/N. Cidade Universitária, Recife (PE), 50670-420.

## ANEXO B – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
50670-420 / Recife - PE - Brasil

telefones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351

fax: (55 81) 2126 8350  
www.ccb.ufpe.br

Recife, 07 de março de 2018.

Ofício nº 05/118

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.<sup>a</sup> Silva Regina Arruda de Moraes**

Departamento de Anatomia

Centro de Biociências

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.052306/2017-10

Certificamos que a proposta intitulada “**Aplicação do Biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico como potencializador da cicatrização do nervo ciático após neurotme em ratos wistar.**”, registrada com o nº 23076.052306/2017-10, sob a responsabilidade de **Prof.<sup>a</sup> Silva Regina Arruda de Moraes** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 07/03/2018.

|                         |                                                              |
|-------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Finalidade              | ( ) Ensino (X) Pesquisa Científica                           |
| Vigência da autorização | 04 anos                                                      |
| Espécie/linhagem/raça   | Rattus norvegicus albinus, Wistar                            |
| Nº de animais           | 184                                                          |
| Peso/Idade              | 100-180g/ 40 dias                                            |
| Sexo                    | Machos                                                       |
| Origem                  | Biotério José Paulino do Departamento de Nutrição – CCS/UFPE |

Atenciosamente,

Prof. Dr. Pedro V. Carelli  
Presidente da CEUA / CCS - UFPE  
SIAPE 1801584

## ANEXO C – ARTIGO ORIGINAL 1 – “PROTOCOL OF A NERVE NEUROTOMESIS SCIATIC REPAIR USING POLYVINYL ALCOHOL BIOFILM IN WISTAR RATS”

Artigo de protocolo da técnica cirúrgica aceito no Brazilian Neurosurgery

26/05/2022 18:17

Gmail - Your Submission



Ana Camila Brito <britoanacamila@gmail.com>

### Your Submission

**Brazilian Neurosurgery** <em@editorialmanager.com>  
 Responder a: Brazilian Neurosurgery <ana.bluhm@thieme.com.br>  
 Para: Ana Camila Brito <britoanacamila@gmail.com>

13 de outubro de 2021 15:41

Ref.: Ms. No. BNS-D-21-00072R1  
 PROTOCOL OF A NERVE NEUROTOMESIS SCIATIC REPAIR USING POLYVINYL ALCOHOL BIOFILM IN WISTAR RATS  
 Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia/Brazilian Neurosurgery

Dear Mrs Brito,

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia/Brazilian Neurosurgery.

It was accepted on Oct 06, 2021

Comments from the Editor and Reviewers can be found below.

Thank you for submitting your work to this journal.

With kind regards

Paula Di Sessa Vavlis, Bachelor  
 Editorial Assistant  
 Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia/Brazilian Neurosurgery

Comments from the Editors and Reviewers:

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/bns/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

## Protocol of a nerve neurotmesis sciatic repair using polyvinyl alcohol biofilm in *Wistar* rats

Protocolo de reparação de uma neurotmele do nervo ciático utilizando o biofilme de álcool polivinílico em ratos *Wistar*

Ana Camila Nobre de Lacerda Brito<sup>a\*</sup>; Maria Danielly Lima de Oliveira<sup>b</sup>; César Augusto Souza de Andrade<sup>b</sup>; Héli da Cristina Cirilo da Silva<sup>c</sup>; Paulo César da Silva Queiroz<sup>d</sup>; Sara Emanuely Veríssimo Santos<sup>d</sup>; Wilayane Alves Martins<sup>d</sup>; Estela Batista Santos<sup>c</sup>; Romero Andion de Medeiros Sobrinho<sup>c</sup>; Kalline Lourenço Ribeiro<sup>e</sup>; Alberto Galdino da Silva Júnior<sup>e</sup>; Sílvia Regina Arruda de Moraes<sup>f</sup>.

<sup>a</sup>Doctoral Student at the Postgraduate Program in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil, [britoanacamila@gmail.com](mailto:britoanacamila@gmail.com);

<sup>b</sup>Professor, Department of Biochemistry, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil, [m\\_danielly@yahoo.com.br](mailto:m_danielly@yahoo.com.br); [csrandrade@gmail.com](mailto:csrandrade@gmail.com);

<sup>c</sup>Graduating in Physiotherapy, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil, [helidacristinafisio@gmail.com](mailto:helidacristinafisio@gmail.com), [estela-santos-@hotmail.com](mailto:estela-santos-@hotmail.com), [romeroandion2@gmail.com](mailto:romeroandion2@gmail.com);

<sup>d</sup>Physiotherapist, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil, [paulocesariq@hotmail.com](mailto:paulocesariq@hotmail.com), [saraemanuely18@gmail.com](mailto:saraemanuely18@gmail.com), [wilayanemartiins@gmail.com](mailto:wilayanemartiins@gmail.com);

<sup>e</sup>Doctoral Student at the Postgraduate Program in Therapeutic Innovation, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil, [kalline\\_farmajp@hotmail.com](mailto:kalline_farmajp@hotmail.com), [albertogaldino16@gmail.com](mailto:albertogaldino16@gmail.com);

<sup>f</sup>Professor, Department of Anatomy, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil, [sramoraes@gmail.com](mailto:sramoraes@gmail.com).

\*Corresponding author: Federal University of Pernambuco, Neuromuscular Plasticity Laboratory, Department of Anatomy, Professor Moraes Rego avenue, 1235, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, CEP: 50670-901, Brazil. Telephone: +55 81 2126-8496. Email: [britoanacamila@gmail.com](mailto:britoanacamila@gmail.com).

## ABSTRACT

**Background:** Animal models are commonly used to assess the use of new materials in order to be used in the surgical repair of a nerve injury. However, there is not published surgical repair protocol for a sciatic nerve neurotmesis in rats. **Objective:** Produce and evaluate a protocol for the tubing technique using a polyvinyl alcohol biofilm after a sciatic nerve neurotmesis. **Methods:** Eighteen rats were randomized into three groups (n=6 per group): Control Group-CG, Neurotmesis Group-NG, and Neurotmesis Biofilm Group-NBG. The NG and NBG animals were submitted to neurotmesis of the sciatic nerve at 60 days of life, followed by suture of the nerve stumps; in the NBG animals had the suture involved by PVA biofilm. A descriptive evaluation of the surgical technique was carried out after the experimental period. The *Shapiro-Wilk* normality test was used for body weight and ANOVA with Bonferroni post hoc ( $p < 0.05$ ) was applied. **Results:** All groups showed good repair of the skin and muscle sutures, however 33.30% of the CG presented disruption of skin points. Furthermore, 16.70% the stumps were not structurally aligned and 33.30% had neuromas in the NG, while all stumps were aligned and none had neuroma in the NBG. **Conclusions:** The present study was able to produce a protocol with high reproducibility in view of the mechanical stability, targeting of the nerve stumps, muscle healing, the low frequency of skin breakage and the low complexity level of the technique, and can be used in future studies which should evaluate other biomaterials for nerve repair in rats.

**Keywords:** Biofilm; Neurosurgical procedure; Peripheral nerve injuries; Rats; Sciatic nerve.

## RESUMO

**Introdução:** Modelos animais são comumente utilizados para avaliar o uso de novos materiais a fim de serem usados no reparo cirúrgico de lesões nervosas. No entanto, não há protocolo de reparo cirúrgico publicado para neurotmele do nervo ciático em ratos. **Objetivo:** Produzir e avaliar um protocolo para a técnica de tubulização usando um biofilme de álcool polivinílico após uma neurotmele do nervo ciático. **Métodos:** Dezoito ratos foram randomizados em três grupos (n=6 por grupo): Grupo Controle-CG, Grupo Neurotmele-NG e Grupo Neurotmele Biofilme-NGB. Os animais do NG e do NGB foram submetidos à neurotmele do nervo ciático aos 60 dias de vida, seguida de sutura dos cotos do nervo; no NGB os animais tiveram a sutura envolvida por biofilme PVA. Após o período experimental foi realizada avaliação descritiva da técnica cirúrgica. Para o peso corporal foi utilizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk e aplicada ANOVA com post hoc de Bonferroni ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** Todos os grupos apresentaram bom reparo de suturas de pele e suturas musculares, porém 33,30% do CG apresentou rompimento dos pontos da pele. Além disso, 16,70% dos cotos não estavam estruturalmente alinhados e 33,30% apresentavam neuromas no NG, enquanto todos os cotos estavam alinhados e nenhum apresentava neuroma no NGB. **Conclusões:** O presente estudo foi capaz de produzir um protocolo com alta reprodutibilidade tendo em vista a estabilidade mecânica, direcionamento dos cotos nervosos, cicatrização muscular, a baixa frequência de rompimento da pele e o baixo nível de complexidade da técnica, podendo ser utilizado em estudos futuros que avaliem outros biomateriais para reparo de nervo em ratos.

Palavras-chave: Biofilme; Procedimento neurocirúrgico; Lesões nervosa periféricas; Ratos; Nervo ciático.

## INTRODUCTION

The gold standard in repairing neurotmesis has been the autogenous free nerve graft. However, the surgical tubing technique which consists of suturing the neural stumps inside the guide tube has been studied since 1980 (1), bringing some benefits such as the prevention of neuromas, adequate guidance for aligning the stumps, inhibition of fibroblast infiltration, and consequently reduced scar tissue formation in the injured site (2). This ultimately promotes the formation of a new extracellular matrix and therefore successful nerve regeneration (3).

Several materials are made to serve as guide tubes for the nerve regeneration process, among which those of biological origin (muscles, blood vessels, tendons) and those of natural and synthetic origin stand out (4, 5). Materials of synthetic origin can have their mechanical, chemical and structural properties modified to increase the nerve regeneration through incorporating substances in its structure or its production in the form of mesh, sponge, solid or porous tubes. The nervous conduit must be non-toxic with sufficient strength and flexibility, but without pressing the nerve, minimally immunogenic and simple to manufacture. In addition, it must guide the direction of the regenerative nerve, isolate the regenerated axon from the scar tissue and protect the regenerated nerve against surrounding compression (6). Synthetic conduits in the literature can be classified into non-biodegradable and biodegradable materials (7).

Although models for crush injury (neuropraxia) already exist and have been described in the literature (8), and there is wide availability of artificial conduits (9) which are initially tested on animals (mostly rats) to be later applied in clinic (10), there are no standardized protocols which evaluate the behavior of these materials in experimental nerve repair models of a neurotmesis using the tubing technique.

Therefore, this study aims to establish a surgical protocol for nerve repair of a neurotmesis using the sciatic nerve tubing technique in *Wistar* rats, using a polyvinyl alcohol conduit and a water-soluble, non-biodegradable polymer as a model. This model is well-accepted in the biomedical environment and has already been described in the literature for other therapeutic purposes (11, 12).

## MATERIAL AND METHODS

The study was carried out at the Neuromuscular Plasticity Laboratory of the Anatomy Department and the Nanostructured Biodevices Laboratory (BIONANO) of the Biochemistry Department at the Federal University of Pernambuco (UFPE). The sample consisted of 18 male *Wistar* rats, maintained at a temperature of  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , subjected to inverted light/dark cycles (12 hours) with diet (Purina®) and water *ad libitum*. The animals were randomized (*Software Random Allocation* version 2.0) at 40 days of age into three groups: a) the Control Group (CG,  $n = 6$ ), rats that which did not undergo neurotmesis; b) Neurotmesis group (NG,  $n = 6$ ), rats which underwent a complete lesion in the midpoint of the sciatic nerve with subsequent suture; c) Neurotmesis and Biofilm Group (NBG,  $n = 6$ ), rats underwent injury and had the suture covered the biofilm. The sciatic nerves were then analyzed in the 6<sup>th</sup> postoperative week.

### ***Manufacturing and Obtaining Polyvinyl Alcohol Biofilm***

PVA biofilms were produced by Bionano laboratory using 16% PVA and 2% Alginate solutions in a 3:1 concentration.

The solutions were placed in syringes and subjected to electrospinning for 8 hours. The biofilms were subsequently submitted to the cross-linking process for 24

hours, which were immersed in a solution of 98.9% Methanol, 1% Glutaraldehyde and Hydrochloric Acid. Next, they went through five deionized water baths, placed to dry at 8°C for three to seven days, cut to 10 mm x 10 mm sizes, and then they were sterilized under ultraviolet light for 30 minutes.

### ***Surgical Procedure for Sciatic Nerve Injury***

All animals were intraperitoneally anesthetized at the age of 60 days with a 0.05 mL and 0.1 mL Xylazine hydrochloride (Anasedan®) (20 mg.Kg<sup>-1</sup>) and Ketamine Hydrochloride solution (Dopalen®) (100 mg.Kg<sup>-1</sup>), for each 100 g of the animal's body weight, which was previously measured. Trichotomy was then performed after sedation on the right gluteal region and then the area was cleaned with chlorhexidine antiseptic. The animal was sent to the sterile location, placed in the anatomical position and the surgical procedure was started. A longitudinal incision was made in the skin of the postero-superior region of the right paw, starting one centimeter below the greater trochanter of the femur in a diagonal direction and ending near the popliteal fossa at the level of the hamstring muscles. The sciatic nerve was exposed after disjoining the superficial gluteal and biceps femoris muscles. The sciatic nerve was visualized using a Stereomicroscope (LEICA zoom 2000/10.5 - 45 X), and a tentacle was placed under the nerve for its isolation with the adjacent tissues.

Neurotmesis was performed in the animals of the injury groups with surgical scissors 5 mm proximal to the division of the three main branches of the sciatic nerve (tibial, common fibular and sural), followed by direct coaptation of the nerve extremities with fascicular alignment and monofilament suture 7-0 CATGUT (ETHICON) in about three points of the epineurium (13). In addition, the suture was covered with polyvinyl alcohol biofilm in the NBG. The animals in the CG only suffered a longitudinal skin incision, disjunction of the muscles described above and visualization of the sciatic nerve. Then, muscle and skin suture with 4-0 Nylon monofilament (Somerville) was performed to promote the same surgical stress as in the other groups (Figure 1).

### ***Surgical Care***

After applying the anesthetics, the analgesic Tramadol Hydrochloride (5% -100 mg/kg of animal weight, diluted in 0.9% saline - 1:1) was applied subcutaneously, being reapplied every 12 hours for three days. Topical antibiotic therapy (Rifamycin SV sodium - 10 mg/ml; Neomycin sulfate + Bacitracin - 5 mg/g + 250 IU/g) was performed at the end of the surgery, Enrofloxacin antibiotic (10% - 5mg/Kg of animal weight) was then administered for four days every 24 hours and the Meloxicam anti-inflammatory (0.2% - 0.1 mL/Kg of animal weight) was applied subcutaneously for two days every 24 hours. All surgical instruments used in the procedure were previously sterilized.

### ***Macroscopic analysis of the surgical technique and euthanasia of animals***

The animals had their body weights measured in the sixth postoperative week, and then anesthetized again with 0.05 ml and 0.1 ml Xylazine (Anasedan®) (20 mg.Kg<sup>-1</sup>) and Ketamine Hydrochloride solution (Dopalen®) (100 mg.Kg<sup>-1</sup>) for each 100 g of animal weight. The right sciatic nerve was visualized to have an evaluation of the performed surgical technique and a macroscopic analysis was subsequently performed. The evaluation was carried out after the experimental period according to the developed questionnaire (Table 1). The animals received an intracardiac dosage of 1 mL of Potassium Chloride (KCl) while still under the effect of anesthetics for their euthanasia.

### **Statistical analysis**

A database was built in Microsoft Excel (Version Microsoft Office Professional Plus 2016, Microsoft Corporation) using the obtained data, and later analyzed using the IBM SPSS Statistics software (version 20, IBM Corporation, 2011). The data were expressed in frequency for the qualitative evaluation obtained through the sciatic nerve macroscopy evaluation questionnaire. The data were then expressed as mean and standard deviation and the Shapiro-Wilk normality test was performed to evaluate body weight, and ANOVA was subsequently used followed by the Bonferroni test as the data were normal. A significance level of 5% was adopted ( $p < 0.05$ ).

### **RESULTS**

Table 2 represents the sample characterization before the surgical intervention, in which a similarity was observed between the groups at the beginning of the study.

Table 3 shows the percentage of responses related to the questionnaire for the descriptive evaluation of surgical repair. The animals of all groups had their skin and muscle sutures well repaired, however skin stitches were broken in two animals in the CG (33.30%), and a new suture was performed after surgery. There was no absorption of the muscle suture in any of the groups.

Although the biofilm was not absorbed in the NBG, all the stumps were structurally aligned six weeks after surgery, and there were no neuromas. However, 16.70% of the animals in the NG had misalignment of the stumps and 33.30% had neuromas.

### **DISCUSSION**

As neurotmesis is the most severe traumatic injury that can affect the peripheral nervous system and requires surgical treatment (14), the present study experimentally evaluated the repair and surgical recovery of a neurotmesis submitted to the application of a PVA biofilm.

The skin suture rupture in two animals in the CG may have been a consequence of the animals moving freely, increasing the tissue reaction induced by the suture itself with softening of the surrounding tissues, delaying the onset of fibroplasia (15). Despite this, the surgical technique was effective, since perfect asepsis and respect for the force lines of the tissue are necessary in order for the suture to effectively heal with natural approach of the edges and without exaggerated tension, thus avoiding infection, ischemia or scarring necrosis (16), and all animals in the study had good suture repair of both the skin and the muscle.

However, the muscle suture thread was not absorbed in all animals, as Nylon monofilament (Somerville) is a non-absorbable synthetic and inorganic thread which loses 30% of its original tensile strength in two years, being the choice for this study due to non-reactive tissue and ability to stretch even with its permanence in the body, reducing the risk of infection and tissue stiffness (15).

Due to the results observed in the structural alignment of the nerve stumps, the biofilms used promoted nerve stability after injury, while there was no alignment in 16.70% of the animals in the NG. This corroborates a recent study which stated that the suture technique by itself does not guarantee mechanical stability, requiring other strategies for better repair such as biofilm or those already used in research of suture association with glue or fibrin conduit (17).

On the other hand, biofilms were not absorbed after six weeks of surgery to repair neurotmesis. This is similar to previous findings with the use of a nervous conduit composed of PVA in the injury of the sciatic nerve, demonstrating the presence of the material 12 weeks after injury, being surrounded by fibrin capsule and connective tissue, the result of its biodegradation (18).

The presence of neuromas in NG is possibly related to a disorganized or incomplete regeneration of a nerve after its injury, due to the deposition of scar tissue by fibroblasts (19, 20). On the other hand, the absence of this structure in NBG reiterates one of the main benefits of the tubulization technique in nerve repair, which are the proper orientation of the axonal stumps towards the distal stump or target tissues, prevention of neuromas, diffusion of neurotrophic factors released by the damaged nerve, accumulation of extracellular matrix components and inhibition of fibroblast infiltration, reducing the formation of scar tissue at the injury site (2).

## CONCLUSION

The present study was able to establish a surgical protocol for nerve repair of a neurotmesis using the sciatic nerve tubing technique in *Wistar* rats, using a polyvinyl alcohol conduit and a water-soluble, non-biodegradable polymer as a model. Allied to this, as the structural alignment and the absence of neuroma are parameters considered for faster nerve repair (21), it is believed that the tubing technique tested in the present study proved to be effective in the sciatic nerve repair process from a macroscopic point of view.

Therefore, following the guidelines of this protocol, it is proposed to carry out new studies that assess the histological and functional repair of the sciatic nerve, as well as the inclusion of a group that had a distance between the stumps, also evaluating axonal growth within this biofilm.

## REFERENCES

1. Brunelli GA, Battiston B, Vigasio A, Brunelli G, Marocolo D. Bridging nerve defects with combined skeletal muscle and vein conduits. *Microsurgery*. 1993;14(4):247-51.
2. Adams AM, VanDusen KW, Kostrominova TY, Mertens JP, Larkin LM. Scaffoldless tissue-engineered nerve conduit promotes peripheral nerve regeneration and functional recovery after tibial nerve injury in rats. *Neural Regen Res*. 2017;12(9):1529-37.
3. Konofaos P, Ver Halen JP. Nerve repair by means of tubulization: past, present, future. *Journal of reconstructive microsurgery*. 2013;29(3):149-64.
4. Moskow J, Ferrigno B, Mistry N, Jaiswal D, Bulsara K, Rudraiah S, et al. Review: Bioengineering approach for the repair and regeneration of peripheral nerve. *Bioact Mater*. 2019;4(1):107-13.
5. Zhang PX, Han N, Kou YH, Zhu QT, Liu XL, Quan DP, et al. Tissue engineering for the repair of peripheral nerve injury. *Neural Regen Res*. 2019;14(1):51-8.
6. Houshyar S, Bhattacharyya A, Shanks R. Peripheral Nerve Conduit: Materials and Structures. *ACS Chem Neurosci*. 2019;10(8):3349-65.
7. Chen Y, editor Chitosan composites nerve conduits. *E3S Web of Conferences*; 2019: EDP Sciences.
8. Ronchi G, Nicolino S, Raimondo S, Tos P, Battiston B, Papalia I, et al. Functional and morphological assessment of a standardized crush injury of the rat median nerve. *J Neurosci Methods*. 2009;179(1):51-7.

9. Silva JB, Marchese G, Cauduro C, Debiasi MJHS, Rehabilitation. Nerve conduits for treating peripheral nerve injuries: A systematic literature review. 2017;36(2):71-85.
10. Asato F, Butler M, Blomberg H, Gordh T. Variation in rat sciatic nerve anatomy: implications for a rat model of neuropathic pain. Journal of the peripheral nervous system : JPNS. 2000;5(1):19-21.
11. Arslantunali D, Dursun T, Yucel D, Hasirci N, Hasirci VJMD. Peripheral nerve conduits: technology update. 2014;7:405.
12. Weller WJ. Emerging Technologies in Upper Extremity Surgery: Polyvinyl Alcohol Hydrogel Implant for Thumb Carpometacarpal Arthroplasty and Processed Nerve Allograft and Nerve Conduit for Digital Nerve Repairs. Orthop Clin North Am. 2019;50(1):87-93.
13. Wu R, Wang L, Chen F, Huang Y, Shi J, Zhu X, et al. Evaluation of artificial nerve conduit and autografts in peripheral nerve repair in the rat model of sciatic nerve injury. Neurological research. 2016;38(5):461-6.
14. Mohammadi R, Amini K, Charehsaz S. Homeopathic treatment for peripheral nerve regeneration: an experimental study in a rat sciatic nerve transection model. Homeopathy : the journal of the Faculty of Homeopathy. 2012;101(3):141-6.
15. Prado RR, Mendonça EP, Monteiro GP, de Melo RT, Nalevaiko PC, Rossi DAJP. Apostila ilustrada de cirurgia veterinária. 2015;10:001-110.
16. Barros M, Gorgal R, Machado AP, Correia A, Montenegro NJAMP. Princípios básicos em cirurgia: fios de sutura. 2011;24(S4):1051-6.
17. Wang W, Degrugillier L, Tremp M, Prautsch K, Sottaz L, Schaefer DJ, et al. Nerve repair with fibrin nerve conduit and modified suture placement. 2018;301(10):1690-6.
18. Marinescu S-A, Zărnescu O, Mihai I-R, Giuglea C, Sinescu RDJRJME. An animal model of peripheral nerve regeneration after the application of a collagen–polyvinyl alcohol scaffold and mesenchymal stem cells. 2014;55(3):891-903.
19. Arnold DMJ, Wilkens SC, Coert JH, Chen NC, Ducic I, Eberlin KR. Diagnostic Criteria for Symptomatic Neuroma. Ann Plast Surg. 2019;82(4):420-7.
20. Neumeister MW, Winters JN. Neuroma. Clin Plast Surg. 2020;47(2):279-83.
21. de Medinaceli LF. Cell surgery to repair divided nerves: CASIS; 1994.

## **ETHICAL DECLARATION**

The procedures used for handling and caring for animals are in accordance with international standards established by the National Institute of Health Guide for Care and Use of Animal Laboratory and the project was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) of the Science Center Biologicals - UFPE under protocol number 23076.052306/2017-10.

## Lista de Figuras



**Figure 1** - Surgical Procedure: A - Animal in the anatomical position; B - Trichotomy; C - skin incision; D - Disjunction of the superficial gluteal muscles and biceps femoris; E - Visualization of the sciatic nerve (arrow); F - Isolation of the nerve; G - Neurotmesis; H - Neurorrhaphy (arrow); I - Biofilm positioned (arrow); J - Biofilm involving the nerve and sutured; K - Muscular suture; L - Skin suture.

## Lista de Tabelas

**Table 1 - Questionnaire for macroscopic evaluation of surgical repair**

|                                           |                              |                             |                                         |
|-------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------|
| 1. Was the skin suture well repaired?     | <input type="checkbox"/> Yes | <input type="checkbox"/> No | <input type="checkbox"/> Not applicable |
| 2. Have the skin spots broken?            | <input type="checkbox"/> Yes | <input type="checkbox"/> No | <input type="checkbox"/> Not applicable |
| 2.1. If yes, a new suture was performed   | <input type="checkbox"/> Yes | <input type="checkbox"/> No | <input type="checkbox"/> Not applicable |
| 3. Was the muscle suture well repaired?   | <input type="checkbox"/> Yes | <input type="checkbox"/> No | <input type="checkbox"/> Not applicable |
| 4. Was the suture of the muscle absorbed? | <input type="checkbox"/> Yes | <input type="checkbox"/> No | <input type="checkbox"/> Not applicable |
| 5. Are the stumps aligned structurally?   | <input type="checkbox"/> Yes | <input type="checkbox"/> No | <input type="checkbox"/> Not applicable |
| 6. Was the biofilm absorbed?              | <input type="checkbox"/> Yes | <input type="checkbox"/> No | <input type="checkbox"/> Not applicable |
| 6.1. If not, was the biofilm in place?    | <input type="checkbox"/> Yes | <input type="checkbox"/> No | <input type="checkbox"/> Not applicable |
| 7. Are there neuromas?                    | <input type="checkbox"/> Yes | <input type="checkbox"/> No | <input type="checkbox"/> Not applicable |

**Table 2** - Characterization of the sample before neurotmesis.

|                          | <b>CG (n=6)</b> | <b>NG (n=6)</b> | <b>NBG (n=6)</b> | <b>p</b> |
|--------------------------|-----------------|-----------------|------------------|----------|
| <b>Pre-OP Weight (g)</b> | 267,00 ± 25,13  | 265,00 ± 12,44  | 265,00 ± 25,38   | 0,983    |

CG - Control Group; GN - Neurotmesis Group; GNB - Neurotmesis Biofilm Group; ANOVA was used, followed by the *Bonferroni* test. The level of significance was 5%.

**Table 3** - Frequency of responses to the descriptive evaluation questionnaire six weeks after surgical repair of a neurotmesis in *Wistar* rats.

| Questions                                 | GC     |        |        | GN     |        |      | GNB  |      |      |
|-------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|------|------|------|------|
|                                           | Y      | N      | NA     | Y      | N      | NA   | Y    | N    | NA   |
| 1. Was the skin suture well repaired?     | 100%   | 0%     | 0%     | 100%   | 0%     | 0%   | 100% | 0%   | 0%   |
| 2. Have the skin spots broken?            | 33,30% | 66,70% | 0%     | 0%     | 100%   | 0%   | 0%   | 100% | 0%   |
| 2.1. If yes, a new suture was performed   | 33,30% | 0%     | 66,70% | 0%     | 0%     | 100% | 0%   | 0%   | 100% |
| 3. Was the muscle suture well repaired?   | 100%   | 0%     | 0%     | 100%   | 0%     | 0%   | 100% | 0%   | 0%   |
| 4. Was the suture of the muscle absorbed? | 0%     | 100%   | 0%     | 0%     | 100%   | 0%   | 0%   | 100% | 0%   |
| 5. Are the stumps aligned structurally?   | 100%   | 0%     | 0%     | 83,30% | 16,70% | 0%   | 100% | 0%   | 0%   |
| 6. Was the biofilm absorbed?              | 0%     | 0%     | 100%   | 0%     | 0%     | 100% | 0%   | 100% | 0%   |
| 6.1. If not, was the biofilm in place?    | 0%     | 0%     | 100%   | 0%     | 0%     | 100% | 100% | 0%   | 0%   |
| 7. Are these neuromas?                    | 0%     | 100%   | 0%     | 33,30% | 66,70% | 0%   | 0%   | 100% | 0%   |

CG - Control Group; GN - Neurotmesis Group; GNB - Neurotmesis Biofilm Group; Y: Yes; N: No; NA: Not applicable.

## **ANEXO D – ARTIGO ORIGINAL 2 – “HISTOMORFOMETRIA DO NERVO CIÁTICO COM BIOFILME DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO E ÁCIDO ASCÓRBICO APÓS UMA NEUROTMESE: ESTUDO EXPERIMENTAL”**

Artigo em tradução e escolha da revista.

### **BIOFILME DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO E ÁCIDO ASCÓRBICO ACELERA A REGENERAÇÃO NERVOSA APÓS UMA NEUROTMESE: ESTUDO EXPERIMENTAL**

Ana Camila Nobre de Lacerda Brito<sup>1\*</sup>; Maria Danielly Lima de Oliveira<sup>2</sup>; César Augusto Souza de Andrade<sup>3</sup>; Héli da Cristina Cirilo da Silva<sup>4</sup>; Ingrid Marianne de Freitas Santos<sup>5</sup>; Paulo César da Silva Queiroz<sup>6</sup>; Sara Emanuely Veríssimo Santos<sup>7</sup>; Wilayne Alves Martins<sup>8</sup>; Sílvia Regina Arruda de Moraes<sup>9</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil, <https://orcid.org/0000-0001-9354-3677>;

<sup>2</sup>Professora, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil, <https://orcid.org/0000-0002-8572-4846>;

<sup>3</sup>Professor, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil, <https://orcid.org/0000-0002-3271-2817>;

<sup>4</sup>Graduanda em Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil, <https://orcid.org/0000-0003-2285-3082>;

<sup>5</sup>Graduanda em Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil, <https://orcid.org/0000-0003-4054-1488>;

<sup>6</sup>Fisioterapeuta, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil, <https://orcid.org/0000-0002-4213-3843>;

<sup>7</sup>Fisioterapeuta, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil, <https://orcid.org/0000-0002-6465-4180>;

<sup>8</sup>Fisioterapeuta, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil, <https://orcid.org/0000-0003-2645-0395>;

<sup>9</sup>Professor, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil, <https://orcid.org/0000-0002-3974-4483>.

\*Autor Correspondente: Universidade Federal de Pernambuco, Laboratório de Plasticidade Neuromuscular, Department de Anatomia, Avenida Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, CEP: 50670-901, Brasil. Telefone: +55 81 2126-8496. E-mail: [britoanacamila@gmail.com](mailto:britoanacamila@gmail.com).

## RESUMO

O lento período de recuperação para que ocorra uma completa regeneração do nervo após uma cirurgia de reparo de uma neurotmeiose resulta em prejuízos estruturais e funcionais para o indivíduo acometido. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar se a utilização de um biofilme de álcool polivinílico (PVA) com ácido ascórbico (AA) é capaz de acelerar a regeneração do nervo ciático após uma neurotmeiose. Quarenta e oito ratos *Wistar* foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: Grupo Controle (GC; n = 12), Grupo Lesão (GL; n = 12), Grupo Lesão Biofilme (GLB; n = 12), Grupo Lesão Biofilme Ácido Ascórbico (GLBA; n = 12). Aos 60 dias de vida os animais foram submetidos à lesão completa do nervo ciático, seguida de sutura e envolvida pelo biofilme PVA com ou sem AA. Foram realizados o Índice Funcional de Ciático (IFC), a avaliação macroscópica da regeneração e quatro nervos ciáticos por grupo foram coletados e encaminhados para análise histomorfométrica na 1ª, 3ª ou 6ª semana pós-operatório. Foi utilizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk, seguido do Teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância foi de 5%. Houve alinhamento estrutural em todos os animais do GLBA. Células de Schwann: GLBA3ªsem > GL3ªsem (p = 0,016), GLB6ªsem > GC6ªsem e GL6ªsem (p < 0,001 e 0,002), GLBA6ªsem < GLB6ªsem (p = 0,031); Área de secção transversa do nervo: GLB1ªsem > GC1ªsem e GL1ªsem (p < 0,001 e p = 0,011), GLB3ªsem > GC3ªsem e G3ªsem L (p = 0,004 e p = 0,042), GLB6ªsem e GLBA6ªsem > GC6ªsem (p = 0,020 e 0,042). Portanto, o biofilme de PVA com ácido ascórbico parece ter acelerado a regeneração nervosa do ponto de vista macroscópico e microscópico.

**Palavras-Chave:** Índice Funcional do Ciático. Lesão do nervo periférico. Nervo Ciático. Procedimento neurocirúrgico. Rato.

## ABSTRACT

The slow recovery period for complete nerve regeneration after neurotmesis repair surgery results in structural and functional damage to the affected individual. Thus, the aim of the present study was to assess whether the use of a polyvinyl alcohol (PVA) biofilm with ascorbic acid (AA) is capable of accelerating sciatic nerve regeneration after neurotmesis. Forty-eight Wistar rats were randomly assigned to 4 groups: Control Group (CG; n = 12), Lesion Group (GL; n = 12), Biofilm Lesion Group (GLB; n = 12), Biofilm Ascorbic Acid Lesion Group (GLBA; n = 12). At 60 days of age, the animals underwent complete sciatic nerve injury, followed by suturing and wrapped in PVA biofilm with AA. The Sciatic Functional Index (SFI), a macroscopic assessment of regeneration were performed and four sciatic nerves per group were collected and sent for histomorphometric analysis at the 1st, 3rd or 6th postoperative week. The Shapiro-Wilk normality test was used, followed by the Kruskal-Wallis test. The significance level was 5%. There was structural alignment in all GLBA animals. Schwann cells: GLBA3wk > GL3wk (p=0.016), GLB6thwk > GC6thwk and GL6thwk (p<0.001 and 0.002), GLBA6thwk < GLB6thwk (p=0.031); Nerve cross-sectional area: GLB1stweek > GC1stweek and GL1stweek (p < 0.001 and p = 0.011), GLB3rdweek > GC3thweek and G3rdweek L (p = 0.004 and p=0.042), GLB6thweek and GLBA6thweek > GC6thweek (p = 0.020 and 0.042). Therefore, the PVA biofilm with ascorbic acid appears to have accelerated nerve regeneration from a macroscopic and microscopic point of view.

**Keywords:** Sciatic Functional Index. Peripheral nerve injury. Sciatic nerve. Neurosurgical procedure. Rat.

## INTRODUÇÃO

Os nervos periféricos são alvos constantes de lesões de origem traumática que resulta na interrupção da transmissão de impulsos nervosos e perda ou diminuição da sensibilidade e função muscular no território inervado, afetando indivíduos de todas as idades, podendo resultar na incapacidade do paciente acometido e representando um dos grandes problemas econômicos e sociais na área da saúde (MIRANDA; TORRES, 2016; MALANOTTE et al., 2017).

Em condições experimentais, a recuperação das lesões nervosas periféricas é estudada principalmente apenas através de técnicas de histomorfometria (ROQUE et al., 2017). Apesar dessa técnica ser útil para estudar o processo de regeneração do nervo, elas não refletem plenamente a recuperação funcional e macroscópica.

Sabe-se que o pior quadro de lesão é aquele em que ocorre ruptura total do nervo (neurotmeze), o qual requer invariavelmente tratamento cirúrgico (MOHAMMADI; AMINI; CHAREHSAZ, 2012). Diante disso, estudos na área de engenharia tecidual têm sido realizados com a finalidade de desenvolver materiais biodegradáveis, biocompatíveis, de baixa citotoxicidade, maleabilidade e tempo adequado de decomposição que possam ser utilizados como suporte, a fim de acelerar o processo de cicatrização do tecido nervoso periférico (CAPKIN et al., 2017; ROQUE et al., 2017; YURIE et al., 2017).

Uma técnica que vem ganhando destaque na área de saúde é a Eletrofiação, a qual é capaz de gerar nanofibras semelhantes aos componentes da matriz extracelular, com diâmetro que pode variar de micrômetros a nanômetros, obtidas pela aplicação de campo elétrico forte em solução de polímero ou massa fundida (BHARDWAJ; KUNDU, 2010).

Outra vantagem da utilização do biofilme proveniente da eletrofiação é a possibilidade da incorporação de fármacos a sua estrutura com subsequente liberação controlada em quantidades pré definidas em um determinado período de tempo (BHARDWAJ; KUNDU, 2010). Resultados dessa técnica sobre a cicatrização de feridas em ratos diabéticos quando utilizado sob a forma de nanofibra de álcool polivinílico (PVA) com quitosana já foram descritos (MAJD et al., 2016).

Devido à importância do ácido ascórbico (Vitamina C) sobre a cicatrização dos tecidos (MOORES, 2013), a incorporação dessa vitamina ao biofilme pode ser capaz de melhorar o processo cicatricial de uma neurotmeze, minimizando o

comprometimento funcional e histológico e, conseqüentemente, favorecendo a população afetada por esse tipo de lesão a um rápido retorno às suas atividades.

Portanto, por ser a neurotmeze um problema clínico significativo em todo o mundo, o presente estudo, de caráter inovador, pretende avaliar se a utilização do biofilme de Álcool Polivinílico associado ao ácido ascórbico poderá acelerar a regeneração histológica e funcional do nervo ciático em ratos *Wistar*, após seis semanas de uma neurotmeze.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Amostra**

O estudo foi realizado no Laboratório de Plasticidade Neuromuscular do Departamento de Anatomia e no Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturas (Bionano), Departamento de Bioquímica (UFPE).

A amostra foi composta por 48 ratos machos da linhagem *Wistar*, mantidos em gaiolas em grupos de três, temperatura de  $23^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ , submetidos a ciclos de claro/escuro invertido (12 horas) com dieta (Purina®) e água ad libitum.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) sob o Processo de nº 23076.052306/2017-10 e o manejo e os cuidados dos animais se fizeram de acordo com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animal.

### **Grupos Experimentais**

Aos 40 dias de vida, 48 animais foram distribuídos aleatoriamente, através de números randômicos, em 4 grupos ( $n= 12$  animais por grupo): Grupo Controle (GC), ratos que não sofreram a neurotmeze. Grupo Lesão (GL), ratos que sofreram lesão completa; Grupo Lesão e Biofilme (GLB), ratos que sofreram lesão e tiveram a sutura envolvida pelo biofilme sem ácido ascórbico; Grupo Lesão e Biofilme com ácido ascórbico (GLBA), ratos que sofreram lesão e tiveram a sutura envolvida pelo biofilme com ácido ascórbico. Foi realizado o Índice Funcional de Ciático (IFC) no pré-operatório, 1ª 3ª e 6ª semanas pós-operatório. Quatro nervos ciáticos por grupo foram coletados e avaliados histomorfometricamente na 1ª, 3ª ou 6ª semana pós-operatório.

### **Biofilme de Álcool Polivinílico com Ácido Ascórbico**

O biofilme foi produzido pelo Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturas (Bionano), Departamento de Bioquímica (UFPE) a partir da solução de Álcool Polivinílico (PVA) a 8%, Gelatina a 2% e Ácido Ascórbico a 0,5% colocada em uma seringa. Em seguida, foi realizado o processo de eletrofiação, o qual consiste em submeter a seringa a um campo elétrico. Ao atingir um valor crítico, as forças elétricas vencem a tensão superficial e um jato de solução é ejetado em direção ao coletor aterrado.

### **Procedimento Cirúrgico para Lesão do Nervo Ciático**

Na idade de 60 dias, todos os animais foram anestesiados intraperitonealmente com uma solução de cloridrato de Xilazina (Anasedan®) (20mg/Kg) e Cloridrato de Ketamina (Dopalen®) (100mg/Kg), 0,05 mL e 0,1mL para cada 100g.

Os animais foram colocados na posição anatômica, a área foi limpa com o antisséptico Clorexidina e foi realizada uma incisão longitudinal na pele da região póstero-superior da pata direita, iniciando um centímetro abaixo do trocânter maior do fêmur, tendo direção diagonal e terminando próximo à fossa poplítea, ao nível da inserção dos músculos ísquiotibiais.

O nervo ciático foi exposto após a separação dos músculos glúteo superficial e bíceps femoral. Com auxílio do Estereomicroscópio (LEICA zoom 2000/ 10,5-45X), o nervo ciático foi visualizado e foi colocada uma tentacânula sob o nervo para seu isolamento com os tecidos adjacentes.

Nos animais do GL e GLB foi realizada a neurotmese com bisturi a 5 mm proximal da divisão dos três ramos principais do nervo isquiático (tibial, fibular comum e sural), seguida da coaptação direta das extremidades nervosas, com alinhamento fascicular e sutura com monofilamento 7-0 CATGUT (ETHICON) em cerca de 3 pontos do epineuro (WU et al., 2016), enquanto que no GLB além da sutura, a mesma foi envolvida com o biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico.

Os animais do GC apenas foram submetidos à incisão longitudinal da pele, disjunção dos músculos acima descritos e visualização do nervo ciático. Em seguida, foi realizada a sutura muscular e da pele com monofilamento 4-0 Nylon (Somerville) para promover o mesmo estresse cirúrgico que os demais grupos.

### **Cuidados Cirúrgicos**

Após a aplicação dos anestésicos, foi aplicado o analgésico Cloridrato de Tramadol (5% -100mg/Kg de peso animal, diluído em soro fisiológico á 0,9% - 1:1), por via subcutânea, sendo reaplicado a cada 12 horas durante três dias.

Ao final da cirurgia, foi realizada a antibioticoterapia tópica (Rifamicina SV sódica – 10mg/ml; Sulfato de Neomicina + Bacitrina – 5mg/g + 250UI/g) e foi aplicado, por via subcutânea, o antibiótico Enrofloxacina (10% - 5mg/Kg de peso animal), por 4 dias a cada 24 horas e do anti-inflamatório Meloxicam (0,2% - 0,1mL/Kg de peso animal), por 2 dias, a cada 24 horas.

### Índice Funcional do Ciático (IFC)

Para a avaliação funcional da recuperação da marcha do animal, foi aplicado o IFC nos animais de todos os grupos, no pré-operatório (um dia antes do procedimento cirúrgico), 1ª, 3ª e 6ª semana pós-operatório. Os ratos tiveram suas patas pintadas com tinta preta e foram colocados em uma passarela de 10 cm de largura e 60 de comprimento para deambularem sobre um papel branco. Quatro parâmetros foram medidos nessas pegadas a partir do software Image J e as comparações entre o lado lesado (experimental) e o intacto (normal) permitiram estabelecer o índice funcional do ciático (IFC) através da Equação 1 (BAIN; MACKINNON; HUNTER, 1989), onde os resultados obtidos com esta expressão foram a expressão percentual negativa da função normal, em que 0 (zero) corresponde à função normal, ou ausência de deficiência, e -100 (menos cem) corresponde à disfunção total.

O resultado final foi obtido a partir da média de quatro mensurações das patas marcadas no papel (Equação 1).

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

Eq.1

Onde: E= experimental; N= normal; PL= “printlength”, ou comprimento da pata, é a distância entre os dois pontos mais extremos da pegada, no sentido longitudinal, que é sempre maior na pata lesada; TS= “total spread”, ou espalhar total dos dedos, é distância entre os dois pontos mais extremos da pegada, no sentido transversal, devendo coincidir com a marca dos dois dedos mais extremos; IT= “intermediate toes”, ou espalhar dos dedos intermediários, é a distância entre os dois dedos

intermediários. O resultado final foi obtido a partir da média de quatro mensurações das patas marcadas no papel.

### **Avaliação macroscópica da regeneração cirúrgica**

A avaliação macroscópica foi realizada após o período experimental nos animais que sofreram a secção nervosa, sendo avaliada conforme questionário elaborado (Tabela 1).

**Tabela 1** – Questionário para avaliação macroscópica da regeneração cirúrgica

|                                              |                              |                              |                                        |
|----------------------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------------|
| 1. A lesão da pele foi bem reparada?         | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Não se aplica |
| 2. Os pontos da pele romperam?               | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Não se aplica |
| 2.1. Se sim, foi realizada uma nova sutura   | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Não se aplica |
| 3. A sutura muscular foi bem reparada?       | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Não se aplica |
| 4. Os cotos estão alinhados estruturalmente? | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Não se aplica |
| 5. O biofilme foi absorvido?                 | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Não se aplica |
| 5.1. Se não, o biofilme estava no local?     | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Não se aplica |
| 6. Há neuromas?                              | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Não se aplica |

### **Histomorfometria**

Os nervos foram fixados por 48 horas na solução de Fluido Modificado de Davison (MDF), constituída por 50 % de água destilada, 30 % de Formaldeído PA, 15 % de Álcool Etilico PA e 5 % de Ácido acético glacial.

Passadas às 48 horas, as amostras foram lavadas em água corrente e foram desidratadas em soluções crescentes de álcool (70 %, 80 %, 90 % e 100 %), diafanizadas em xilol (I e II) e incluídas em parafina líquida (I e II) (60°C). Por fim, os nervos foram emblocados individualmente, com parafina específica para este fim (56°-58°C), de modo que a extremidade do nervo foi direcionada para a área de corte.

Os nervos foram cortados transversalmente com 4 µm de espessura e suas lâminas histológicas foram preparadas. Ao se concluir os cortes dos demais blocos, todas as lâminas histológicas foram encaminhadas para análise histomorfométrica.

As amostras foram desparafinizadas com banhos de xilol, hidratadas em soluções de concentrações decrescentes de álcool (100%, 95%, 80% e 70%) e corados com Hematoxilina-Eosina e fotografadas imagens de 3 campos microscópicos por animal (Olympus – BX50: AUMENTOS 4x e 40x), conectado a uma vídeo-câmera (Samsung – SHC-410 NAD). Com auxílio de um computador acoplado

ao microscópio óptico, através do software TV TunerApplication foram avaliados os seguintes parâmetros:

- Quantificação das células de Schwann;
- Quantificação dos axônios;
- Mensuração da área de secção transversa do nervo;

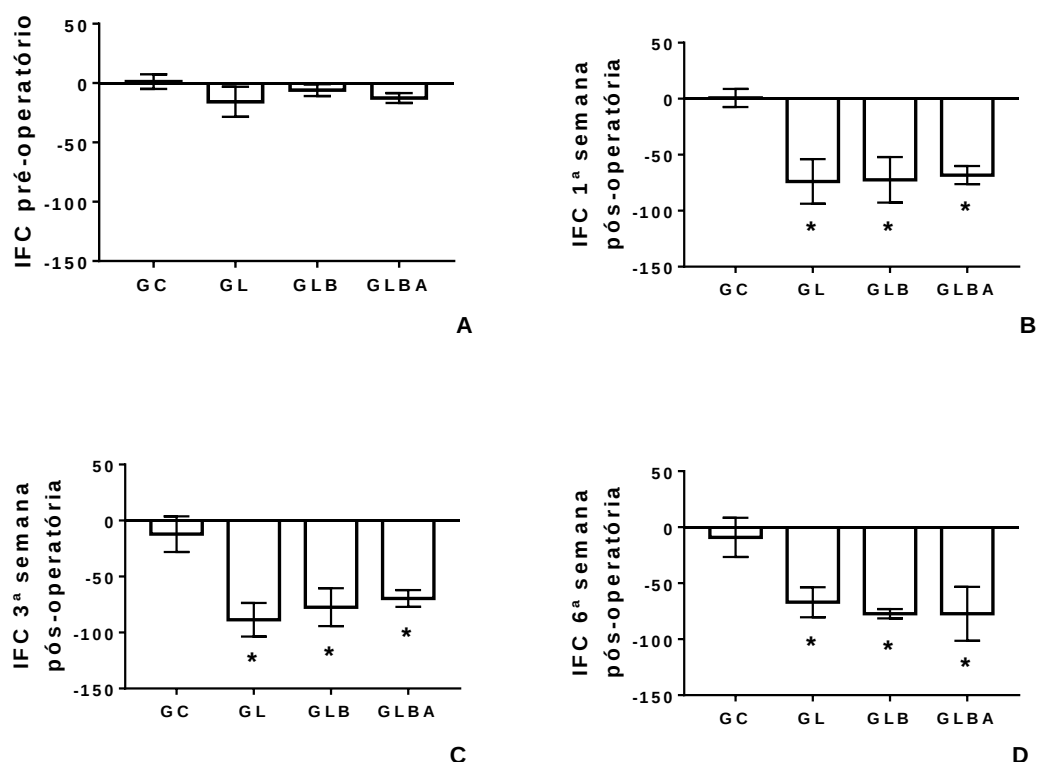
### **Análise Estatística**

Com os dados obtidos foi construído um banco de dados e posteriormente analisados através do software SPSS versão 20.0. Após a verificação da normalidade (Shapiro-Wilk), foi empregado o Teste de Kruskal-Wallis, seguido da comparação em pares e os dados foram apresentados em mediana e intervalo interquartil para as variáveis da histomorfometria, enquanto que os dados do IFC foram apresentados em média e desvio padrão e foi empregado o ANOVA, seguido do Teste de Bonferroni. O nível de significância foi de 5%. Para construção dos gráficos foi utilizado o software GraphPad Prism (versão 7, 2016).

## **RESULTADOS**

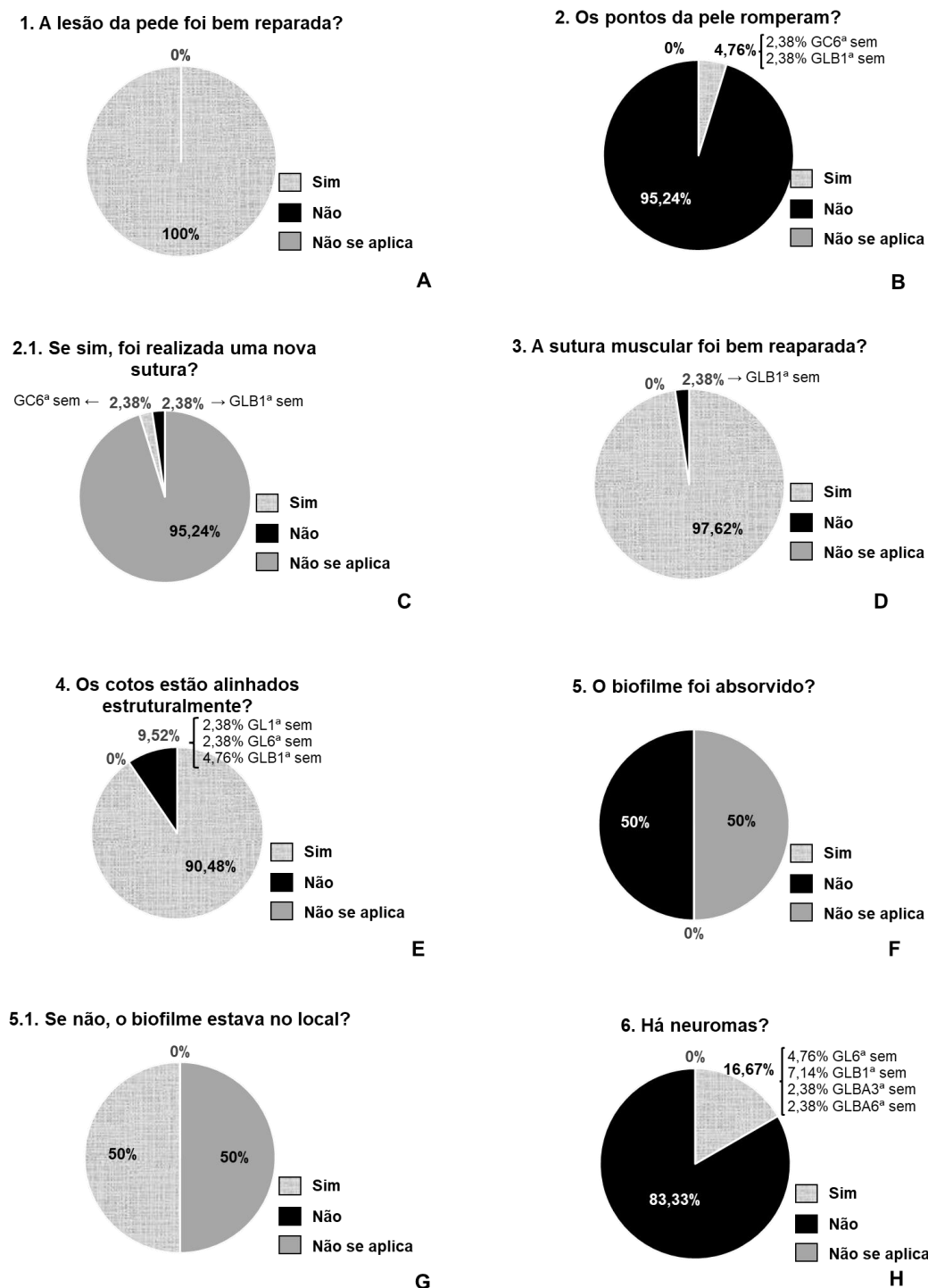
Dos 48 animais, seis foram excluídos do estudo, visto que as lâminas histológicas estavam inadequadas para serem analisadas (dois do GC, um do GL, um do GLB e dois do GLBA). No início do estudo, todos os grupos amostrais apresentaram-se homogêneos quanto ao IFC (IFC pré-operatório ( $p = 0,263$ ). Nas demais semanas observou-se redução dos grupos experimentais em comparação ao GC (Figura 1) ( $p < 0,05$ ).

Através da análise macroscópica foi observado ao final do período experimental que todos os animais submetidos à incisão cirúrgica apresentaram boa regeneração cutânea e muscular (Figura 2A). Em um animal do GC6ª semana (2,38%) e um animal do GLB1ª semana (2,38%) os pontos da pele foram rompidos (Figura 2B e 2C). Em todos os animais do GLBA houve alinhamento estrutural ao longo das semanas avaliadas, enquanto que houve desalinhamento tanto no GL1ª semana, GL6ª semana e GLB1ª semana (2,38%; 2,38%; 4,76%, respectivamente) (Figura 2D). Embora o biofilme não tenha sido absorvido, todos estavam no mesmo local no qual foram inseridos (Figuras 2F e 2G). No GLBA foi observada uma menor porcentagem de neuromas ao final das seis semanas quando comparado ao GL e GLB (Figura 2H).

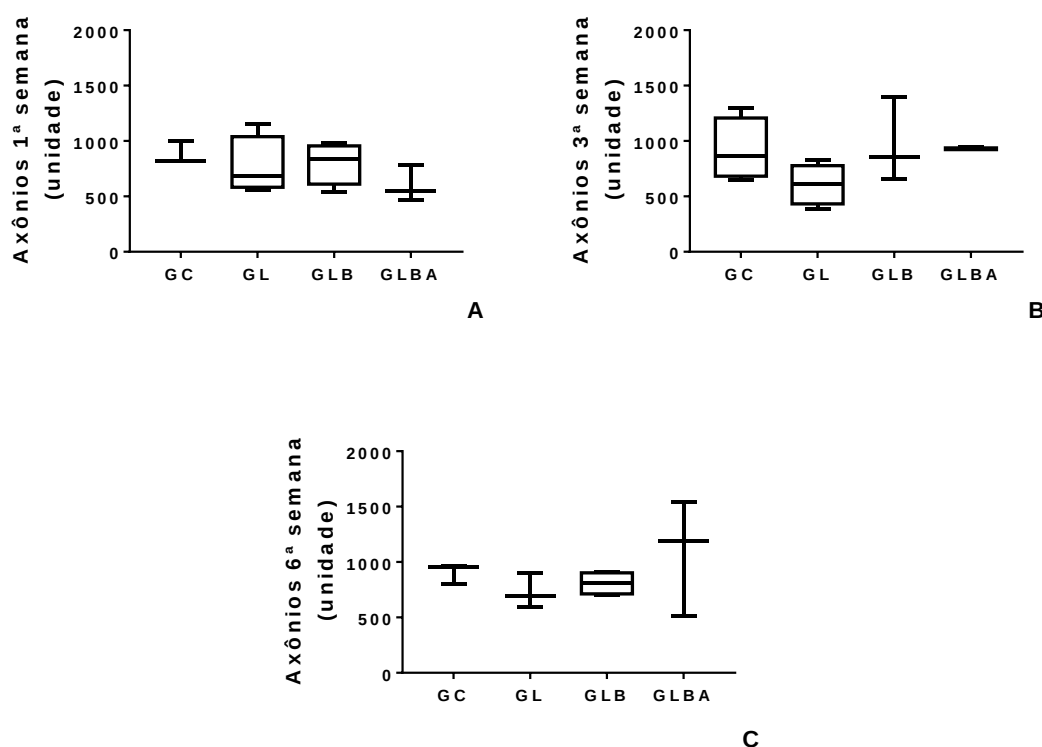


**Figura 1** – Índice Funcional do Ciático de ratos *Wistar* no pré-operatório (A) 1ª (B), 3ª (C) e 6ª (D) semanas após neurotome. GC – Grupo Controle; GL – Grupo Lesão; GLB – Grupo Lesão Biofilme; GLBA – Grupo Lesão Biofilme com Ácido Ascórbico. Valores expressos em média e desvio padrão. ANOVA seguido do Teste de *Bonferroni* para determinar a diferença entre os grupos ( $p < 0,05$ ). Onde (\*) representa a diferença em relação ao GC.

Nas três semanas onde os nervos ciáticos foram analisados, não houve diferença no número de axônios entre os grupos ( $p > 0,05$ ) (Figura 3). Embora não tenha sido observado diferença no número de células de Schwann na primeira semana após a neurotome (Figura 4A), houve aumento na terceira semana do GLBA em comparação ao GL ( $p = 0,016$ ) (Figura 4B), na sexta observou-se aumento do GLB em comparação ao GC e GL ( $p < 0,001$  e  $0,002$ , respectivamente) e observou-se que o GLBA teve menor número dessas células do que o GLB ( $p = 0,031$ ) (Figura 4C).

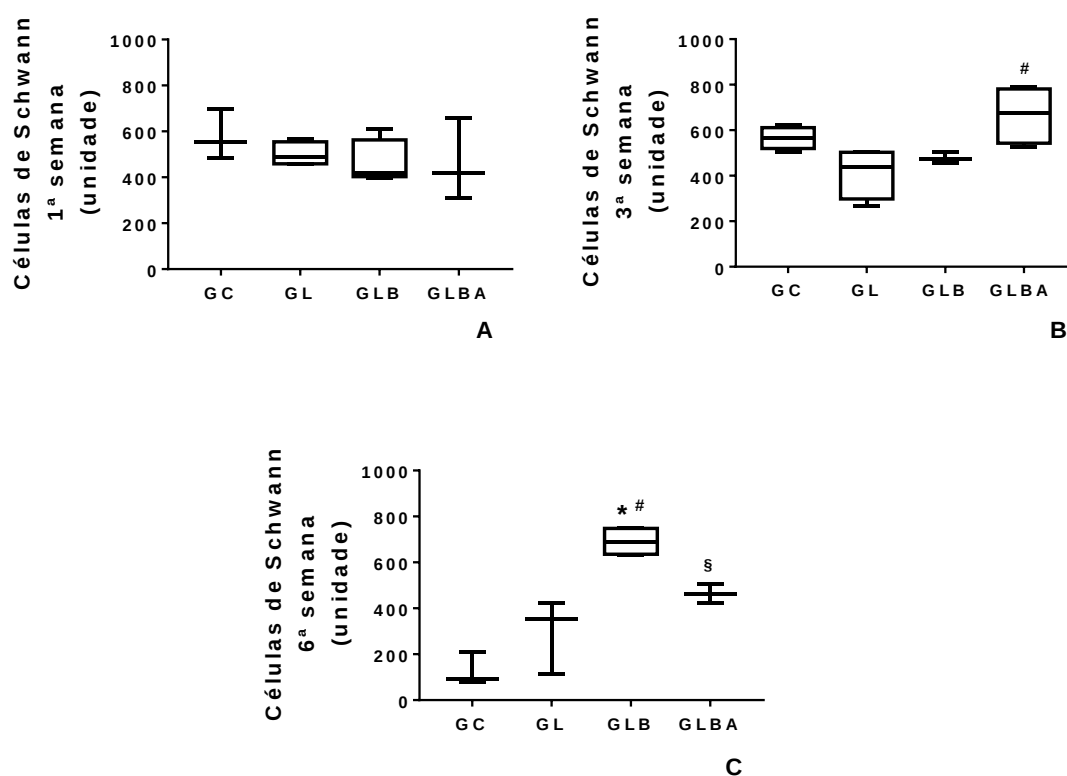


**Figura 2** – Frequência de respostas do questionário de avaliação descritiva durante as seis semanas do reparo cirúrgico de uma neurotmesis em ratos *Wistar*. GC – Grupo Controle; GL – Grupo Lesão; GLB – Grupo Lesão Biofilme; GLBA – Grupo Lesão Biofilme com Ácido Ascórbico. Valores expressos em porcentagem (%).

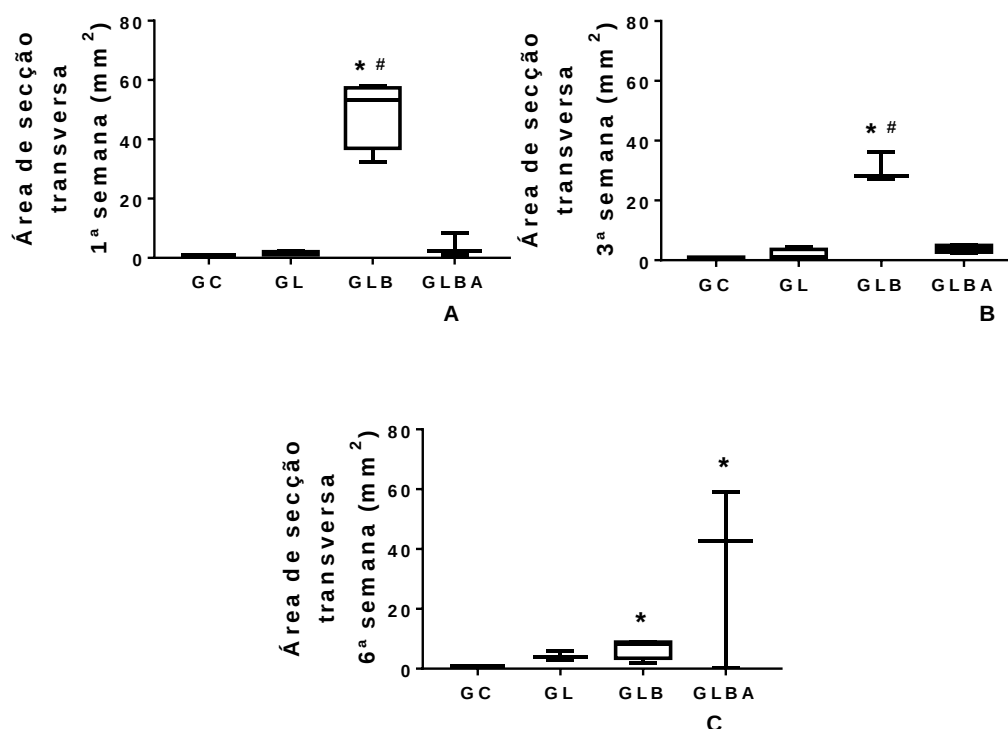


**Figura 3** - Número de axônios de ratos *Wistar* obtidos pela análise histomorfométrica na 1ª (A), 3ª (B) e 6ª (C) semanas após neurotome. GC – Grupo Controle; GL – Grupo Lesão; GLB – Grupo Lesão Biofilme; GLBA – Grupo Lesão Biofilme com Ácido Ascórbico. Valores expressos em mediana e intervalos interquartis. Kruskal Wallis com comparação em pares determina a diferença estatística entre os grupos ( $p < 0,05$ ).

Na primeira semana após a neurotome foi observado uma maior área de secção transversa tanto do GLB em comparação ao GC e GL ( $p < 0,001$  e  $p = 0,011$ , respectivamente) e houve um menor percentual do GLBA em comparação ao GLB, porém não estatístico ( $p = 0,055$ ) (Figura 5A). Entretanto, na terceira semana observou-se apenas aumento no GLB em comparação ao GC e GL ( $p = 0,004$  e  $p = 0,042$ , respectivamente) (Figura 5B). Já na sexta semana, a AST tanto do GLB quanto do GLBA apresentou-se maiores do que o GC ( $p = 0,020$  e  $0,042$ , respectivamente) (Figura 5C).



**Figura 4** - Número de células de Schwann de ratos *Wistar* obtidos pela análise histomorfométrica na 1ª (A), 3ª (B) e 6ª (C) semanas após neurotome. GC – Grupo Controle; GL – Grupo Lesão; GLB – Grupo Lesão Biofilme; GLBA – Grupo Lesão Biofilme com Ácido Ascórbico. Valores expressos em mediana e intervalos interquartis. Kruskal Wallis com comparação em pares determina a diferença estatística entre os grupos ( $p < 0,05$ ). Onde (\*) representa a diferença em relação ao GC, (#) representa diferença em relação ao GL, (§) representa diferença em relação ao GLB.



**Figura 5** – Área de secção transversa do nervo ciático de ratos *Wistar* obtidos pela análise histomorfométrica na 1ª (A), 3ª (B) e 6ª (C) semanas após neurotome. GC – Grupo Controle; GL – Grupo Lesão; GLB – Grupo Lesão Biofilme; GLBA – Grupo Lesão Biofilme com Ácido Ascórbico. Valores expressos em mediana e intervalos interquartis. Kruskal Wallis com comparação em pares determina a diferença estatística entre os grupos ( $p < 0,05$ ). Onde (\*) representa a diferença em relação ao GC, (#) representa a diferença em relação ao GL.

## DISCUSSÃO

Embora fosse esperado que em seis semanas houvesse melhora na funcionalidade do nervo ciático utilizando o biofilme, no presente estudo tanto o biofilme com o ácido ascórbico como o sem ácido ascórbico não foram capazes de acelerar o retorno da funcionalidade dos ratos após seis semanas, confirmando os dados de uma metanálise recente (DELEONIBUS et al., 2021) que demonstrou que a avaliação sobre a regeneração funcional deve começar na segunda semana pós-operatória e continuar até aproximadamente a 26ª semana (DELEONIBUS et al., 2021).

Entretanto, ao se utilizar um novo conduto nervoso faz-se necessário investigar o curso da regeneração em um curto período de tempo e em lesões com uma menor

distância entre os cotos, a fim de se verificar a segurança e tolerabilidade da técnica (BURRELL et al., 2021), as quais foram analisadas na presente pesquisa pela análise macroscópica após seis semanas da neurotmese.

Como o alinhamento estrutural e a baixa porcentagem de neuroma são parâmetros de suma importância no reparo nervoso (DE MEDINACELI; DERENZO; WYATT, 1984), acredita-se que o biofilme com ácido ascórbico se mostrou eficaz no processo inicial de reparo do nervo ciático do ponto de vista macroscópico após o período experimental.

Conforme demonstrado em estudos anteriores, a boa regeneração cutânea e muscular de todos os animais no presente estudo, pode ter sido decorrente das habilidades técnicas durante a cirurgia juntamente com os cuidados pré e pós operatórios (JUNKER et al., 2014; SINGH; YOUNG; MCNAUGHT, 2017; GÖKKAYA et al., 2022). No entanto, a livre movimentação dos animais pode ter prejudicado (em 4,76% dos animais) a síntese dos principais elementos que compõe a matriz extracelular da pele desses ratos (RAMOS et al., 2020; SINGH; CHANDA, 2021).

Sabe-se que após uma neurotmese as células de Schwann (CS's) desempenham um papel indispensável na promoção da regeneração nervosa (CRUZ; DE JESUS, 2021). Inicialmente as CS's sofrem a desdiferenciação e participam da desintegração e remoção de axônios danificados durante o processo de degeneração Walleriana e auxiliam na eliminação de detritos de mielina para criar um ambiente favorável ao recrescimento. Posteriormente, as SCs secretam fatores tróficos para apoiar a sobrevivência de neurônios danificados e promover o recrescimento do axônio e, finalmente, as SCs proliferam, regulam positivamente os genes pró-mielinizantes, rediferenciam-se em SCs mielinizantes e remielinizam o axônio regenerado (NOCERA; JACOB; SCIENCES, 2020).

Portanto, acredita-se que ao longo das seis semanas pós-operatórias o GL não atingiu a fase de proliferação das CS's, enquanto os animais que fizeram uso tanto do biofilme de PVA com ácido como sem ácido houve uma aceleração da regeneração nervosa, visto que houve um aumento dessas células na terceira semana e sexta semana pós-operatória em comparação ao GL, respectivamente. Além disso, no GLBA o número das CS's começou a reduzir na sexta semana, atingindo valores próximos da normalidade. Corroborando, assim um estudo recente, o qual utilizando tubos de orientação de nervo de policarbonado derivado de tirosina em suínos,

observou que após duas semanas da lesão houve um infiltrado de células de Schwann, favorecendo a regeneração nervosa (BURRELL et al., 2021).

O aumento da área de secção transversa do nervo observada a partir da primeira semana no GLB, possivelmente está relacionado ao processo acelerado da desdiferenciação das células de Schwann, visto que durante essa primeira fase da regeneração em nervos reparados com condutos, há um aumento do fluído rico em fatores/proteínas solúveis pró-regenerativas secretados por ambos os cotos nervosos que se acumulam dentro do lúmen do conduto (LONGO et al., 1984; LIU, 1992; WEIS; MAY; SCHRÖDER, 1994). Em seguida, forma-se uma matriz de fibrina abrangendo o comprimento do conduto para fornecer um substrato para fixação e infiltração de células não neuronais, como as Células de Schwann, fibroblastos, macrófagos e células endoteliais, que influenciam a extensão axonal e/ou maturação dentro do conduto (BURRELL et al., 2021).

Desse modo, avaliando em conjunto o gráfico da área de secção transversa e do número de axônios, acredita-se que na primeira semana as CS's nos grupos lesão apresentavam predomínio da fase de desdiferenciação; na terceira semana, o GLBA já iniciou a fase de infiltração e proliferação dessas células, enquanto que o GLB só iniciou esta segunda fase na sexta semana.

Uma vez que a maior deposição de fibrina e infiltração de células de Schwann contribuem para uma maior regeneração e mielinização do axônio se avaliado cronicamente (EZRA et al., 2014), a associação do ácido ascórbico ao biofilme parece ter acelerado o processo de regeneração nervosa, posto que o ácido ascórbico regula a síntese de colágeno tipo I e III (MANELA-AZULAY et al., 2003), os quais parecem estar envolvidos no fornecimento de nervos periféricos com boa resistência mecânica e propriedades viscoelásticas (TASSLER; DELLON; CANOUN, 1994; CHERNOUSOV et al., 2008).

Os resultados histológicos do GLBA obtidos no presente estudo, corroboram com estudos anteriores que demonstraram que no sistema nervoso periférico o ácido ascórbico é essencial na regeneração nervosa em modelos animais, visto que a suplementação dessa vitamina promove o crescimento de neuritos em culturas de neurônios do gânglio da raiz dorsal (DRG), aumento da proliferação e o comportamento de migração em culturas de células de Schwann primárias e aumento da proliferação e migração dos macrófagos e, portanto, melhorou a recuperação funcional do nervo ciático após uma neuropraxia (LI et al., 2019; LI et al., 2020).

Os dados obtidos indicam que, embora a utilização do biofilme não tenha contribuído para o retorno da funcionalidade, do ponto de vista macroscópico e microscópico ele parece ter acelerado a regeneração nervosa, visto que houve nestes animais um melhor alinhamento dos cotos, baixa porcentagem de neuromas após as seis semanas, um aumento das células responsáveis pela regeneração. No entanto, para que isso possa ser visto no número de axônios e no retorno a funcionalidade, seria necessário um estudo com um seguimento maior.

## REFERÊNCIAS

BAIN, J.; MACKINNON, S.; HUNTER, D. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. **Plastic and reconstructive surgery**, 83, n. 1, p. 129-138, 1989.

BHARDWAJ, N.; KUNDU, S. C. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnol Adv**, 28, n. 3, p. 325-347, May-Jun 2010.

BURRELL, J. C.; BHATNAGAR, D.; BROWN, D. P.; MURTHY, N. S. et al. Tyrosine-derived polycarbonate nerve guidance tubes elicit proregenerative extracellular matrix deposition when used to bridge segmental nerve defects in swine. 109, n. 7, p. 1183-1195, 2021.

CAPKIN, S.; AKHISAROGLU, M.; ERGUR, B. U.; BACAKOGLU, A. A. A biological tube technique for the repair of peripheral nerve defects using 'stuffed nerves'. **Ulus Travma Acil Cerrahi Derg**, 23, n. 1, p. 7-14, Jan 2017.

CHERNOUSOV, M. A.; YU, W. M.; CHEN, Z. L.; CAREY, D. J. et al. Regulation of Schwann cell function by the extracellular matrix. 56, n. 14, p. 1498-1507, 2008.

CRUZ, A. J. M.; DE JESUS, O. Neurotmesis. In: StatPearls [Internet]: **StatPearls Publishing**, 2021.

DE MEDINACELI, L.; DERENZO, E.; WYATT, R. J. Rat sciatic functional index data management system with digitized input. **Comput Biomed Res**, 17, n. 2, p. 185-192, Apr 1984.

DELEONIBUS, A.; REZAEI, M.; FAHRADYAN, V.; SILVER, J. et al. A meta-analysis of functional outcomes in rat sciatic nerve injury models. 41, n. 3, p. 286-295, 2021.

EZRA, M.; BUSHMAN, J.; SHREIBER, D.; SCHACHNER, M. et al. Enhanced femoral nerve regeneration after tubulization with a tyrosine-derived polycarbonate terpolymer: effects of protein adsorption and independence of conduit porosity. **Tissue Eng Part A**, 20, n. 3-4, p. 518-528, Feb 2014.

GÖKKAYA, A.; GÖRGÜ, M.; KIZILKAN, J.; KARANFIL, E. et al. The measurement of wound tensile strength and the effect of PRP on wound tensile force: an experimental investigation on rabbits. 56, n. 1, p. 38-46, 2022.

JUNKER, J. P.; PHILIP, J.; KIWANUKA, E.; HACKL, F. et al. Assessing quality of healing in skin: review of available methods and devices. 22, p. 2-10, 2014.

LI, L.; LI, Y.; FAN, Z.; WANG, X. et al. Ascorbic acid facilitates neural regeneration after sciatic nerve crush injury. 13, p. 108, 2019.

LI, L.; XU, Y.; WANG, X.; LIU, J. et al. Ascorbic acid accelerates Wallerian degeneration after peripheral nerve injury. 16, n. 6, p. 1078, 2020.

LIU, H. M. The role of extracellular matrix in peripheral nerve regeneration: a wound chamber study. **Acta Neuropathol**, 83, n. 5, p. 469-474, 1992.

LONGO, F. M.; HAYMAN, E. G.; DAVIS, G. E.; RUOSLAHTI, E. et al. Neurite-promoting factors and extracellular matrix components accumulating in vivo within nerve regeneration chambers. **Brain Res**, 309, n. 1, p. 105-117, Aug 20 1984.

MAJD, S. A.; KHORASGANI, M. R.; MOSHTAGHIAN, S. J.; TALEBI, A. et al. Application of Chitosan/PVA Nano fiber as a potential wound dressing for streptozotocin-induced diabetic rats. **International journal of biological macromolecules**, 92, p. 1162-1168, 2016.

MALANOTTE, J. A.; KAKIHATA, C. M. M.; KARVAT, J.; BRANCALHAO, R. M. C. et al. Jumping in aquatic environment after sciatic nerve compression: nociceptive evaluation and morphological characteristics of the soleus muscle of *Wistar* rats. **Einstein (Sao Paulo)**, 15, n. 1, p. 77-84, Jan-Mar 2017.

MANELA-AZULAY, M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; PEREZ, M. d. A.; FILGUEIRA, A. L. et al. Vitamina C. 78, n. 3, p. 265-272, 2003.

MIRANDA, G. E.; TORRES, R. Y. Epidemiology of Traumatic Peripheral Nerve Injuries Evaluated with Electrodiagnostic Studies in a Tertiary Care Hospital Clinic. **P R Health Sci J**, 35, n. 2, p. 76-80, Jun 2016.

MOHAMMADI, R.; AMINI, K.; CHAREHSAZ, S. Homeopathic treatment for peripheral nerve regeneration: an experimental study in a rat sciatic nerve transection model. **Homeopathy**, 101, n. 3, p. 141-146, Jul 2012.

MOORES, J. Vitamin C: a wound healing perspective. **British journal of community nursing**, 18, n. Sup12, p. S6-S11, 2013.

NOCERA, G.; JACOB, C. J. C.; SCIENCES, M. L. Mechanisms of Schwann cell plasticity involved in peripheral nerve repair after injury. 77, n. 20, p. 3977-3989, 2020.

RAMOS, A. C.; NEGREIROS, J. H. C. N.; DA SILVA BATISTA, R. C.; DE ARRUDA, C. V. B. et al. Análise histológica comparativa do reparo tecidual após síntese com fio de nylon e adesivo de Etil-2-cianoacrilato em feridas cutâneas de ratos. 6, n. 6, p. 3894-34405, 2020.

ROQUE, J. S.; POMINI, K. T.; BUCHAIM, R. L.; BUCHAIM, D. V. et al. Inside-out and standard vein grafts associated with platelet-rich plasma (PRP) in sciatic nerve repair. A histomorphometric study. **Acta Cir Bras**, 32, n. 8, p. 617-625, Aug 2017.

SINGH, G.; CHANDA, A. J. B. M. Mechanical properties of whole-body soft human tissues: a review. 2021.

SINGH, S.; YOUNG, A.; MCNAUGHT, C.-E. J. S. The physiology of wound healing. 35, n. 9, p. 473-477, 2017.

TASSLER, P.; DELLON, A.; CANOUN, C. J. J. o. H. S. Identification of elastic fibres in the peripheral nerve. 19, n. 1, p. 48-54, 1994.

WEIS, J.; MAY, R.; SCHRÖDER, J. M. J. A. n. Fine structural and immunohistochemical identification of perineurial cells connecting proximal and distal stumps of transected peripheral nerves at early stages of regeneration in silicone tubes. 88, n. 2, p. 159-165, 1994.

YURIE, H.; IKEGUCHI, R.; AOYAMA, T.; KAIZAWA, Y. et al. The efficacy of a scaffold-free Bio 3D conduit developed from human fibroblasts on peripheral nerve regeneration in a rat sciatic nerve model. **PLoS One**, 12, n. 2, p. e0171448, 2017.

# ANEXO E – ARTIGO ORIGINAL 3 (PUBLICADO) - “EFFICACY OF TUBING TECHNIQUE WITH BIOMATERIALS COMPARED TO DIRECT COAPTATION TECHNIQUE AFTER PERIPHERAL NEUROTOMESIS IN NERVE HEALING AND RETURN TO FUNCTIONALITY IN YOUNG ADULT RATS: A SYSTEMATIC REVIEW PROTOCOL”

Artigo publicado na Sytematic Reviews Journal (2020)

Brito *et al. Systematic Reviews* (2020) 9:118  
<https://doi.org/10.1186/s13643-020-01388-5>

Systematic Reviews

PROTOCOL

Open Access

## Efficacy of tubing technique with biomaterials compared to direct coaptation technique after peripheral neurotmesis in nerve healing and return to functionality in young adult rats: a systematic review protocol



Ana Camila Nobre de Lacerda Brito<sup>1,2\*</sup>, Sara Emanuely Veríssimo Santos<sup>3</sup>, Wilayne Alves Martins<sup>3</sup>, Paulo César da Silva Queiroz<sup>3</sup>, Wenddy Wyllie Damascena Sougey<sup>4</sup>, Paula Ketilly Nascimento Alves<sup>4</sup>, Kalline Lourenço Ribeiro<sup>5</sup>, Maria Danielly Lima de Oliveira<sup>6</sup> and Sílvia Regina Arruda de Moraes<sup>2</sup>

### Abstract

**Background:** Peripheral nerves are constant targets of traumatic injury which may result in neurotmesis and which invariably requires surgical treatment. In view of this, tissue engineering studies developed biomaterials which were first tested in animal models and used as a guide for nerve stumps in the procedure in order to speed up the healing process. Therefore, the aim of this study is to evaluate the efficacy of biomaterials used in tubing technique on healing and histological and functional recovery after peripheral nerve neurotmesis in rats.

**Methods:** We will search PubMed/MEDLINE, Embase, Web of Science, LILACS, and CENTRAL (from inception onwards). Grey literature will be identified through searching dissertation databases, guidelines, policy documents, and reports. We will include randomized and non-randomized trials conducted in young adult rats with peripheral neurotmesis undergoing surgical repair through tubing technique with biomaterials. Primary outcomes will be histomorphometry, immunohistochemistry of the nerve tissue, and sciatic functional index. Secondary outcome will be nerve macroscopic evaluation. Two reviewers will independently screen all citations, full-text articles, and abstract data. Potential conflicts will be resolved through discussion. The methodological quality (or risk of bias) of individual studies will be appraised using an appropriate tool. If feasible, we will conduct random effects meta-analysis.

(Continued on next page)

\* Correspondence: [britoanacamil@gmail.com](mailto:britoanacamil@gmail.com)

<sup>1</sup>Neuropsychiatry and Behavioral Science Program, Federal University of Pernambuco, Avenida Professor Moraes Rego, 1235, Recife 50670-901, Pernambuco, Brazil

<sup>2</sup>Department of Anatomy, Neuromuscular Plasticity Laboratory, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2020 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

## ANEXO F – RESUMOS ACEITOS NA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE 2021)

“Uso do Biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico na recuperação funcional do nervo ciático em ratos *wistar*”

Acesse <https://doi.org/10.1186/1745-6216-9-BM-PH-A> para verificar se este certificado é válido. Código de validação: 9HBM-PH-A

# REUNIÃO REGIONAL DA FESBE 2021

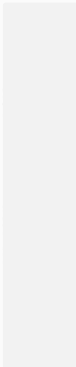
29 a 31 de Julho de 2021

## CERTIFICADO

**Certificamos que ESTELA BATISTA SANTOS** submeteu o trabalho: **Uso do biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico na recuperação funcional do nervo ciático em ratos Wistar.**, apresentado na XV Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizada online no período de 29 a 31 de julho.

Autores: ESTELA BATISTA SANTOS, ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO, MARIA DANIELLY LIMA DE OLIVEIRA, CÉSAR AUGUSTO SOUZA DE ANDRADE, HÉLIDA CRISTINA CIRILO DA SILVA, PAULO CÉSAR DA SILVA QUEIROZ, SARA EMANUELY VERÍSSIMO SANTOS, WILAYANE ALVES MARTINS, ROMERO ANDION DE MEDEIROS SOBRINHO, KALLINE LOURENÇO RIBEIRO, ALBERTO GALDINO DA SILVA JÚNIOR, SÍLVIA REGINA ARRUDA DE MORAES

Área temática: Ciência em Animais de Laboratório



Prof. Dr. Homandes Faustino de Carvalho  
Presidente da FesBE



UNIVERSIDADE  
FEDERAL  
DE PERNAMBUCO



**FesBE**  
Federação de Sociedades de  
Biologia Experimental



UNIVERSIDADE  
FEDERAL  
DE PERNAMBUCO

## ANEXO G – BANCA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO REFERENTE AO TEMA DA PRESENTE PESQUISA (2021)



### DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que os membros **DANIELLA ARAÚJO DE OLIVEIRA, ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ e RODRIGO FRAGOSO DE ANDRADE** participaram da banca examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso do(a) acadêmico(a) **ROMERO ANDION DE MEDEIROS SOBRINHO** intitulado “**AValiação da Técnica Cirúrgica de Reparação de uma Neurotmeze do Nervo Ciático Utilizando um Biofilme de Álcool Polivinílico com Ácido Ascórbico: Estudo Experimental**” no curso de Graduação em Fisioterapia em 20 de dezembro de 2021.

Recife, 11 de março de 2022.



## ANEXO H – CO ORIENTAÇÕES DE TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO REFERENTES A PESQUISA DA PRESENTE TESE

“Avaliação da aplicação do biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico na reparação cirúrgica da neurotmease do nervo ciático em ratos *wistar*”

Coordenação do Curso  
de Fisioterapia

dfisio

Departamento  
de Fisioterapia



### DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que **ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ** orientou no semestre 2019.2 o Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) do(a) acadêmico(a) **PAULO CÉSAR DA SILVA QUEIROZ** intitulado “**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DO BIOFILME DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO COM ÁCIDO ASCÓRBICO NA REPARAÇÃO CIRÚRGICA DA NEUROTMESE DO NERVO CIÁTICO EM RATOS WISTAR.**”, defendido em 13 de Dezembro de 2019.

Recife, 13 de Dezembro de 2019.

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE  
Centro de Ciências da Saúde  
Prof.ª Maria Rosângela C. Pedrosa  
Coordenadora do Curso de Fisioterapia  
UFPE  
SIAPE 2282895

“Uso do biofilme de álcool polivinílico com ácido ascórbico na recuperação funcional do nervo ciático em ratos Wistar após três semanas de uma neurotmeze”

Coordenação do Curso  
de Fisioterapia

**dfisio**

Departamento  
de Fisioterapia



### DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que **ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ** orientou no semestre 2021.2 o Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) do(a) acadêmico(a) **ESTELA BATISTA DOS SANTOS** Intitulado “**USO DO BIOFILME DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO COM ÁCIDO ASCÓRBICO NA RECUPERAÇÃO FUNCIONAL DO NERVO CIÁTICO EM RATOS WISTAR APÓS TRÊS SEMANAS DA NEUROTMESE**”, defendido em 23 de maio de 2022.

Recife, 23 de maio de 2022.

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE  
Centro de Ciências da Saúde  
Profª Débora Wanderley Villela  
Coordenadora do Curso de Fisioterapia  
UFPE  
SIAPE: 1203269

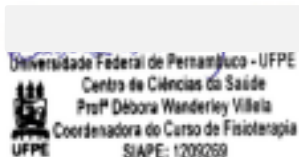
“Protocolo de reparação de uma neurotmeose do nervo ciático utilizando o biofilme de álcool polivinílico e ácido ascórbico em ratos *wistar*”



### DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ orientou no semestre 2021.2 o Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) do(a) acadêmico(a) HÉLIDA CRISTINA CIRILO DA SILVA Intitulado “PROTOCOLO DE REPARAÇÃO DE UMA NEUROTMESE DO NERVO CIÁTICO UTILIZANDO O BIOFILME DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO E ÁCIDO ASCÓRBICO EM RATOS WISTAR”, defendido em 23 de maio de 2022.

Recife, 23 de maio de 2022.



**ANEXO I – ARTIGO INTITULADO “STANDARDIZATION OF A  
TREADMILL EXERCISE INTENSITY PROTOCOL IN RATS WITH  
DIABETES MELLITUS” PUBLICADO NO JOURNAL OF EXERCISE  
PHYSIOLOGY ONLINE (2019)**

***American Society of Exercise Physiologists***

*Founded 1997*

***Journal of Exercise Physiology *online****

**Invoice:**  
Invoice #0002

**Date of Posting:**  
3/14/2019

**Bill to:**  
Ana Camila Nobre de Lacerda Brito  
Neuromuscular Plasticity Laboratory  
Department of Anatomy  
Federal University of Pernambuco  
Avenida Professor Moraes Rego, 1235  
University City, Recife, Pernambuco, Brazil  
Email: britoanacamila@gmail.com

**Regarding:**  
Manuscript

**ASEP Representative:**  
Tommy Boone, PhD, MPH, MAM, MBA  
Editor in Chief, *JEPonline*  
Email: tbooneasep@gmail.com

**Total Fee:**  
\$450 (12 pages)

**Description:**  
Brito ACNL, Martin WA, Queiroz PCS, Santos, SEV, de Souza RF, de Matos DG, Vancea DMM, Esteves ACF, de Moraes SRA. Standardization of a Treadmill Exercise Intensity Protocol in Rats with Diabetes Mellitus. *JEPonline*. 2019;22(2):5-16.

**Payment by Credit Card to ASEP before Monday, March 25, 2019:**  
<https://www.asep.org/resources/jem-online/journal-publishing/>

**Payment by Check to Mr. Paulson before Monday, March 25, 2019:**  
Make the check payable to American Society Exercise Physiologists, notifying Mr. Paulson (via his Email: shane@phpswellness.com), and then send the check to:

**ASEP**  
P.O. Box 515  
Osakis, MN 56360

**The ASEP Tax Identification Number is: 41-1897258**

**ANEXO J – ARTIGO INTITULADO “COMBINED TREADMILL RUNNING AND INSULIN THERAPY FAVORS THE STABILIZATION OF GLYCEMIC METABOLIC PARAMETERS AND AVOIDS INCREASED ACHILLES TENDON RIGIDITY IN DIABETIC RATS” PUBLICADO NO MUSCLES, LIGAMENTS AND TENDONS JORNAL (2020)**

ORIGINAL ARTICLE

Nr 2020;10 (3):442-450

## Combined Treadmill Running and Insulin Therapy Favors the Stabilization of Glycemic Metabolic Parameters and Avoids Increased Achilles Tendon Rigidity in Diabetic Rats

A. C. Nobre de Lacerda Brito<sup>1</sup>, W. Alves Martins<sup>1</sup>, P. C. da Silva Queiroz<sup>1</sup>, S. E. Veríssimo Santos<sup>1</sup>, T. Meireles Santos<sup>2</sup>, R. F. de Souza<sup>3,4</sup>, D. Dutra Pereira<sup>3</sup>, M. T. Gonzaga Santos<sup>4</sup>, A. C. Falcão Esteves<sup>1</sup>, S. R. Arruda de Moraes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Neuromuscular Plasticity, Department of Anatomy, Center of Biosciences, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

<sup>2</sup> Department of Physical Education, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

<sup>3</sup> Department of Physiology and Pharmacology, Center of Biosciences, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

<sup>4</sup> Department of Physical Education, Federal University of Sergipe - UFS, São Cristóvão, Sergipe, Brazil

### CORRESPONDING AUTHOR:

Ana Camila Nobre de Lacerda Brito  
Federal University of Pernambuco  
Neuromuscular Plasticity Laboratory  
Department of Anatomy  
Avenida Professor Moraes Rego, 1235,  
Recife 50670-901  
Pernambuco, Brazil  
E-mail: britoanacamilab@gmail.com

### DOI:

10.32098/mltj.03.2020.14

LEVEL OF EVIDENCE: 2B

### SUMMARY

**Background.** Hyperglycemia reduces tendon homeostasis. Effects of physical exercise on diabetic rats have been widely studied; however, the effects of a combined physical and insulin therapy on biomechanical properties of the Achilles tendon (AT) remain unclear. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of the combination of moderate-intensity exercise on a treadmill and insulin therapy on metabolism, physical conditioning, and biomechanics of AT in diabetic rats.

**Methods.** Forty-eight Wistar rats were divided into six groups: Sedentary Control-SCG, Treadmill Control-TCG, Sedentary Diabetic-SDG, Sedentary Insulin Diabetic-SIDG, Treadmill Diabetic-TDG, and Treadmill Insulin Diabetic-TIDG. Diabetic animals were induced with streptozotocin diluted in sodium citrate buffer (50 mg/Kg; 10 mM; pH 4.5; intraperitoneally). All groups were subjected to the maximal effort test for pre (MET<sub>1</sub>) and post (MET<sub>2</sub>) maximal speed determination. The exercise protocol was administered for 5 weeks (1 h/day, 5 days/week). Blood glucose levels and biomechanical properties of AT (e.g., traction) were evaluated.

**Results.** Increased glycemia was observed in SDG ( $p < 0.001$ ;  $p = 0.003$ ), SIDG ( $p = 0.009$ ;  $p = 0.037$ ), and TDG ( $p = 0.002$ ;  $p = 0.009$ ); however, compared with SCG and TCG, TIDG showed no significant differences. Maximal force was reduced in TIDG ( $p = 0.009$ ) and SIDG ( $p = 0.002$ ) and increased in SCG and TDG compared with in SIDG ( $p = 0.024$ ). The elastic modulus was reduced in TCG compared with in SCG

**ANEXO K – ARTIGO INTITULADO “TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO FÍSICO EM RATOS COM DIABETES MELLITUS 1 APÓS EXERCÍCIO EM ESTEIRA E INSULINOTERAPIA”, PUBLICADO NA REVISTA BRASILEIRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (2020)**



**TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO FÍSICO EM RATOS COM DIABETES *MELLITUS* 1 APÓS EXERCÍCIO EM ESTEIRA E INSULINOTERAPIA**

**EXERCISE TOLERANCE IN RATS WITH DIABETES *MELLITUS* 1 AFTER EXERCISE ON TREADMILL AND INSULIN THERAPY**

**TOLERANCIA AL EJERCICIO FÍSICO EN RATAS CON DIABETES *MELLITUS* 1 DESPUÉS DEL EJERCICIO EN TREADMILL Y TERAPIA CON INSULINA**

Wilayane Alves Martins<sup>1</sup>  
Hélida Cristina Cirilo da Silva<sup>2</sup>  
Ana Camila Nobre de Lacerda Brito<sup>3</sup>  
Sílvia Regina Arruda de Moraes<sup>4</sup>

264

**Resumo:** O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da associação da insulino terapia com o exercício físico de intensidade moderada em esteira sobre a tolerância ao exercício físico de ratos com diabetes *mellitus* 1. Foi realizado o teste de esforço máximo (TEM), seguido do protocolo de cinco semanas de exercício em esteira e, um novo TEM. Observou-se que o exercício de intensidade moderada em esteira associado à insulino terapia aumentou a tolerância ao exercício nos animais diabéticos, demonstrando comportamento semelhante aos animais saudáveis treinados, além disso, atenuou a perda de peso corporal e o aumento dos índices glicêmicos promovidas pela doença.

**Palavras-chave:** Diabetes. Exercício Físico. Insulino terapia. Tolerância ao Exercício Físico.

**ANEXO L – ARTIGO INTITULADO “EFEITO DO EXERCÍCIO DE INTENSIDADE MODERADA SOBRE A BIOMECÂNICA DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS DIABÉTICOS”, PUBLICADO NA REVISTA BRASILEIRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

**Revista**  
brasileira  
de iniciação científica

ISSN: 2359-732X

**EFEITO DO EXERCÍCIO DE INTENSIDADE MODERADA SOBRE A BIOMECÂNICA DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS DIABÉTICOS**

**EFFECT OF MODERATE INTENSITY EXERCISE ON THE BIOMECHANICS OF THE ACHILLES TENDON IN DIABETIC RATS**

**EFFECTO DEL EJERCICIO DE INTENSIDAD MODERADA SOBRE LA BIOMECÁNICA DEL TENDÓN DE AQUILES EN RATAS DIABÉTICAS**

Sara Emanuely Veríssimo Santos<sup>1</sup>  
Paulo César da Silva Queiroz<sup>2</sup>  
Ana Camila Nobre de Lacerda Brito<sup>3</sup>  
Sílvia Regina Arruda de Moraes<sup>4</sup>

**Resumo:** O objetivo foi verificar o efeito do exercício de intensidade moderada em esteira sobre os parâmetros biomecânicos do tendão de Aquiles (TA), condicionamento físico, peso corporal e glicemia de ratos *Wistar* com diabetes *mellitus* 1. Eles tiveram o condicionamento físico avaliado antes e após seis semanas de exercício de intensidade moderada em esteira. Em seguida, tiveram o TA coletado e seus parâmetros biomecânicos avaliados. A biomecânica do TA de ratos diabéticos não teve alteração após seis semanas da indução e o exercício mostrou-se benéfico no TA de ratos saudáveis, além disso, foi capaz de melhorar o condicionamento físico desses ratos.  
**Palavras-chave:** Diabetes *mellitus*. Tendão de Aquiles. Teste de Esforço Máximo.

**Abstract:** The objective was to verify the effect of moderate intensity exercise on the biomechanical parameters of the Achilles tendon (TA), physical conditioning, body weight and glycemia of Wistar rats with diabetes mellitus 1. They had their fitness evaluated before and after after six weeks of moderate intensity exercise on a treadmill. Then, the TA was collected and its biomechanical parameters were evaluated. The biomechanics of the AT of diabetic rats did not change after six weeks of induction and exercise was beneficial in the AT of healthy rats, in addition, it was able to improve the physical conditioning of these rats.

**Keywords:** Diabetes *mellitus*. Achilles Tendon. Maximal Effort Test.

<sup>1</sup> Fisioterapeuta. Universidade Federal de Pernambuco. ORCID: 0000-0002-6465-4180 E-mail: saraemanuely18@gmail.com.

<sup>2</sup> Fisioterapeuta. Universidade Federal de Pernambuco. ORCID: 0000-0002-4213-3843 E-mail: paulocesari@gmail.com.

<sup>3</sup> Doutoranda do programa de pós-graduação em neuropsiquiatria e ciências do comportamento. Universidade Federal de Pernambuco. ORCID: 0000-0001-9354-3677 E-mail: britoanacamil@gmail.com.

<sup>4</sup> Professora Titular do Departamento de Anatomia. ORCID: 0000-0002-3974-4483 Universidade Federal de Pernambuco. E-mail: sramoraes@gmail.com.

Teus  
a

**ANEXO M – CERTIFICADO DE MINISTRANTE E MEMBRO DA  
COMISSÃO ORGANIZADORA DO CURSO DE DISSECAÇÃO ARTICULAR  
DO APARELHO LOCOMOTOR- DEPARTAMENTO DE ANATOMIA - UFPE  
(2018)**

|                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                     |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <h1>C e r t i f i c a d o</h1> | <p>Certificamos que <b>Ana Camila Nobre de Lacerda Brito Paz</b> participou, na qualidade de Ministrante e Membro da Comissão Organizadora do “Curso de dissecação do aparelho locomotor”, promovido pelo departamento de Anatomia Humana do CB - Centro de Biociências, no período de 09 a 13 de julho de 2018, com carga horária total de 40 (quarenta) horas, registrado no SIGPROJ - Sistema de Informação e Gestão de Projetos sob o n° 96275.308119.1636.221089.16082018.</p> <p align="right">Recife, 11 de fevereiro de 2019.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div data-bbox="1075 1274 1225 1523"> <p><b>Maria Christina de Medeiros Nunes</b><br/>Pro - Reitora da PROEXC</p> </div> <div data-bbox="1075 999 1225 1196"> <p><b>Silvia Regina Arruda de Moraes</b><br/>Coordenadora do Curso</p> </div> <div data-bbox="1107 757 1203 940"> <p><b>PROEXC</b><br/>PRO-REITORIA<br/>DE EXTENSÃO E CULTURA</p> </div> </div> |  |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|

**ANEXO N – CO ORIENTAÇÕES DE TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO  
SEM SER REFERENTE AO TEMA DA PRESENTE TESE**

**“Efeito do exercício de intensidade moderada em esteira sobre a biomecânica do tendão de Aquiles em ratos diabéticos: um estudo experimental” (2019)**

Coordenação do Curso  
de Fisioterapia

**dfisio**

Departamento  
de Fisioterapia



**DECLARAÇÃO**

Declaro, para os devidos fins, que **ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ** orientou no semestre 2019.2 o Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) do(a) acadêmico(a) **SARA EMANUELY VERÍSSIMO SANTOS** intitulado **“EFEITO DO EXERCÍCIO DE INTENSIDADE MODERADA EM ESTEIRA SOBRE A BIOMECÂNICA DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS DIABÉTICOS: UM ESTUDO EXPERIMENTAL”**, defendido em 27 de Novembro de 2019.

Recife, 27 de Novembro de 2019.

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE  
Centro de Ciências da Saúde  
Profª Márcia Alessandra C. Pedrosa  
Coordenadora do Curso de Fisioterapia  
SIAPE 2282895

**“Tolerância ao exercício físico em ratos com diabetes mellitus 1 após  
exercício em esteira e insulino terapia” (2019)**

Coordenação do Curso  
de Fisioterapia

**dfisio**

Departamento  
de Fisioterapia



**DECLARAÇÃO**

Declaro, para os devidos fins, que **ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ** orientou no semestre 2019.2 o Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) do(a) acadêmico(a) **WILAYANE ALVES MARTINS** intitulado **“TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO FÍSICO EM RATOS COM DIABETES MELLITUS 1 APÓS EXERCÍCIO EM ESTEIRA E INSULINOTERAPIA.”**, defendido em 27 de Novembro de 2019.

Recife, 27 de Novembro de 2019.

Universidade Federal de Pernambuco-UFPE  
Centro de Ciências da Saúde  
Profª Maria Alessandra C. Pedrosa  
Coordenadora do Curso de Fisioterapia  
SIAPE 2282895

“Avaliação do equilíbrio estático e dinâmico e do risco de quedas em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2” (2021)

Coordenação do Curso  
de Fisioterapia

**dfisio**

Departamento  
de Fisioterapia



### DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que **ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ** orientou no semestre 2020.2 o trabalho de conclusão de curso (graduação em fisioterapia) do(a) acadêmico(a) **DOUGLAS SOUSA MATOS** intitulado **“AVALIAÇÃO DO EQUILÍBRIO ESTÁTICO E DINÂMICO E DO RISCO DE QUEDAS EM INDIVÍDUOS COM DIABETES MELLITUS TIPO 2”**, defendido em 30 de agosto de 2021.

Recife, 03 de dezembro de 2021.



**ANEXO O – RESUMOS PUBLICADOS EM CONGRESSOS SEM SER  
REFERENTE AO TEMA DA PESQUISA DA PRESENTE TESE**

“Biomecânica do tendão de Aquiles em ratos diabéticos 1 após exercício em esteira e insulina” publicado e premiado no VII Congresso Pernambucano de Fisioterapia Respiratória, Cardiovascular e Terapia Intensiva da ASSOBRAFIR/ VII COPEFIR (2019)



# Certificado

Certificamos que **Sara Emanuely Veríssimo Santos; Ana Camila Nobre de Lacerda Brito; Wilayne Alves Martins; Paulo César da Silva Queiroz; Magno Felipe Holanda Barboza Inácio Teixeira; Ana Cristina Falcão Esteves e Sílvia Regina Arruda de Moraes**, apresentaram na modalidade Pôster o trabalho intitulado **“BIOMECÂNICA DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS DIABÉTICOS 1 APÓS EXERCÍCIO EM ESTEIRA E INSULINA”** classificado em **1º lugar** no VII Congresso Pernambucano de Fisioterapia Respiratória, Cardiovascular e Terapia Intensiva da ASSOBRAFIR – VII COPEFIR.

**Recife, 23 e 24 de março de 2019**

**Dra. Glívia Maria Barros Delmondes**  
Presidente do VII COPEFIR

**Dr. Marco Aurélio de Valois C. Junior**  
Diretor Regional Pernambuco

“Tolerância ao exercício físico de ratos diabéticos 1 após insulinoterapia e exercício em esteira” publicado e premiado no VII Congresso Pernambucano de Fisioterapia Respiratória, Cardiovascular e Terapia Intensiva da ASSOBRAFIR/ VII COPEFIR (2019)



# Certificado

Certificamos que os autores **Wilayane Alves Martins; Ana Camila Nobre de Lacerda Brito; Paulo César da Silva Queiroz; Sara Emanuelly Veríssimo Santos; Denise Maria Martins Vancea e Sílvia Regina Arruda de Moraes**, apresentaram na modalidade Pôster o trabalho intitulado **“TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO FÍSICO DE RATOS DIABÉTICOS 1 APÓS INSULINOTERAPIA E EXERCÍCIO EM ESTEIRA”** classificado em **2º lugar** no VII Congresso Pernambucano de Fisioterapia Respiratória, Cardiovascular e Terapia Intensiva da ASSOBRAFIR – VII COPEFIR.

**Recife, 23 e 24 de março de 2019**

**Dra. Glívia Maria Barros Delmondes**  
Presidente do VII COPEFIR

**Dr. Marco Aurélio de Valois C. Junior**  
Diretor Regional Pernambuco

“Efeito do exercício de intensidade moderada em esteira sobre as propriedades biomecânicas do tendão de Aquiles de ratos diabéticos tipo 1 tratados com insulina” publicado no 10º Congresso Internacional de Fisioterapia (2018)



“Efeito da associação do exercício físico de intensidade moderada em esteira com insulinoterapia sobre o condicionamento físico de ratos diabéticos tipo 1”  
publicado no 10º Congresso Internacional de Fisioterapia (2018)



**ANEXO P – COMPROVANTE DE REVISORA DE DOIS  
PERIÓDICOS**

Revisora do MLTJ – Muscles, ligaments and tendons journal



## Revisora do Systematic Reviews Journal

18/05/2020

Gmail - Thank you for agreeing to review a manuscript for Systematic Reviews, SYSR-D-19-00546



Ana Camila Brito &lt;britoanacamila@gmail.com&gt;

### Thank you for agreeing to review a manuscript for Systematic Reviews, SYSR-D-19-00546

1 mensagem

Systematic Reviews Editorial Office &lt;em@editorialmanager.com&gt;

18 de maio de 2020 16:22

Responder a: Systematic Reviews Editorial Office &lt;judy.maturan@springer.com&gt;

Para: Ana Camila Nobre de Lacerda Brito &lt;britoanacamila@gmail.com&gt;

SYSR-D-19-00546

Molecular Mechanisms of Zika Virus Teratogenesis from Animal Studies: a Systematic Review Protocol  
 Gabriela Elis Wachholz; Julia do Amaral Gomes; Juliano André Boquett; Fernanda Sales Luiz Vianna; Lavinia Schuler-Faccini; Lucas Rosa Fraga  
 Systematic Reviews

Dear Mrs Brito,

Thank you for agreeing to review the above manuscript for Systematic Reviews.

You can access the PDF by clicking this link:

<https://www.editorialmanager.com/sysr/l.asp?i=110191&l=WGEKU54R>

If you are ready to submit your comments, you may click this link: <https://www.editorialmanager.com/sysr/l.asp?i=110192&l=J68K5TF5>

Please be aware that this link will expire after 1 click.

You can also submit your review by logging in with your username and password at: <https://www.editorialmanager.com/sysr/>

If you have forgotten your username or password please use the "Send Login Details" link to get your login information. For security reasons, your password will be reset.

We look forward receiving your review by 01 Jun 2020.

If you have any questions, please do not hesitate to contact us. We appreciate your assistance.

With kind regards,

Alexandra Maria Bodnaruc, RD, MSc, PhD(c)  
 Associate Editor

**ANEXO Q – CERTIFICADOS DE PALESTRANTE**

“Aspectos éticos na pesquisa” – Departamento de Educação Física – UFPE  
(2019)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA

Recife, 04 de junho de 2019.

Venho, obediente a praxe estabelecida, atestar para os devidos fins, que a Sra. **ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO**, na condição de **palestrante colaboradora convidada**, realizou intervenção acadêmica junto à disciplina de **ÉTICA PROFISSIONAL EM EDUCAÇÃO FÍSICA (EDF0043)**, integrante do currículo do **Curso de Bacharelado em Educação Física da UFPE** e ministrada pelo **Prof. Dr. Henrique Gerson Kohl**. Sua intervenção ocorreu no dia **04/06/2019** (14hs:00min às 16hs:30min) desenvolvendo palestra acerca da seguinte temática: **“Aspectos éticos na pesquisa”**. Momento em que colaborou qualitativamente para a ampliação dos conhecimentos discentes acerca da temática em questão.

Profª. Dra. Daniela Karina da Silva Ferreira-DEF-CCS-UFPE  
Coordenador do Curso de Bacharelado em Educação Física da UFPE



Profª. Dra. Daniela K. da S. Ferreira  
Coordenadora de Bacharelado  
em Educação Física  
SIAPE 1346332

“Utilização de tecnologias inovadoras no ensino de anatomia do aparelho locomotor” – Departamento de Anatomia – UFPE (2019)

**DECLARAÇÃO**

Declaro para os devidos fins que a fisioterapeuta ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ proferiu a palestra intitulada “**Utilização de tecnologias inovadoras no ensino de Anatomia do aparelho locomotor**” para os alunos do curso de Fisioterapia na disciplina Anatomia 06, com carga horária de 04 horas.

Recife, 18 de novembro de 2019.

Profa. Dra. Sílvia Regina Arruda de Moraes.

Coordenadora da disciplina



Sílvia Regina Arruda de Moraes:  
Professora Titular do  
Deptº de Anatomia  
CB/UFPE - SIAPE 1132331

**ANEXO R – ARTIGO INTITULADO “DO COMPRESSION STOCKINGS IMPROVE THE PERFORMANCE OF STREET RUNNERS?” PUBLICADO NO JOURNAL OF EXERCISE PHYSIOLOGY ONLINE (2018)**

277



**Journal of Exercise Physiology**online

April 2018  
Volume 21 Number 2

---

Official Research Journal of  
the American Society of  
Exercise Physiologists

ISSN 1097-9751

**JEPonline**

---

**Do Compression Stockings Improve the Performance of Street Runners?**

Raphael Fabricio de Souza<sup>1</sup>, Alexandre Reis Pires Ferreira<sup>1</sup>,  
Dihogo Gama de Matos<sup>2</sup>, Even Pereira da Silva<sup>1</sup>, Thays Costa da Silva<sup>1</sup>, Aristela de Freitas Zanona<sup>2</sup>, Heleno Almeida Junior<sup>1</sup>, Paulo Artur de Lara Schinda Schemly<sup>4</sup>, Ana Camila Nobre de Lacerda Brito<sup>5</sup>, Felipe José Aidar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Physical Education, Federal University of Sergipe - UFS, São Cristóvão, Brazil, <sup>2</sup>Department of Occupational Therapy, Federal University of Sergipe - UFS, Lagarto, Brazil, <sup>3</sup>Department of Sports Science, Exercise and Health of the Trás-os-Montes e Alto Douro University, Vila Real, Portugal, <sup>4</sup>Military College of Curitiba - CMC, Curitiba, Brazil, <sup>5</sup>Department of Physiotherapy, Federal University of Pernambuco - UFPE, Recife, Brazil

---

**ABSTRACT**

Souza RF. Ferreira ARP. Matos DG. Silva EPS. Silva TC. Zanona AF. Junior HA. Schemly PAL. Brito ACNL. Aidar FJ. Do Compression Stockings Improve the Performance of Street Runners? *JEPonline* 2018;21(2):277-285. This study evaluated the use of compression stockings (CS) in runners. Ten subjects ( $29.1 \pm 10.47$  yrs) performed 10 km of running with CS and without CS (WCS). The subjects mean velocity, pace and total time, peak torque of the hip flexors (Pt), fatigue index (FI), heart rate (HR), diastolic pressure (DBP), and systolic pressure (SBP) were determined. Findings indicate that heart rate was significantly higher compared to the conditions in time: HR ( $P < 0.01$ , Cohens'  $d = 0.30$ ). SBP ( $P = 0.02$ , Cohens'  $d = 1.99$ ), and DBP ( $P = 0.01$ , Cohens'  $d = 0.86$ ) post-run in both conditions. No significant differences were observed in conditions time vs. groups (between groups) in all variables. There was no evidence on the contribution of the use of compression stockings in the performance of street runners.

**Key Words:** Compression Socks, Muscle Fatigue, Running

**ANEXO S – ARTIGO INTITULADO “ANALYSIS OF RACE  
PERFORMANCE ON DIFFERENT FLOORS USING BUMPER TENNIS AND  
BAREFOOT” PUBLICADO NA MOTRICIDADE (2018)**

**Motricidade**

2018, vol. 14, n. S1, pp. 142-147

© Edições Desafio Singular  
SINERGIA II

## **Analysis of Race Performance on Different Floors Using Cushioned Sneakers And Barefoot**

Raphael F. Souza<sup>1,2,9</sup>, Paulo E.N. Rezende<sup>1</sup>, Dihogo G. Matos<sup>2,4</sup>, Aristela F. Zanona<sup>2,5</sup>,  
Ricardo A. B. Silva<sup>2</sup>, Paulo A.L.S. Schemly<sup>6</sup>, Ana Camila N.L. Brito<sup>7</sup>, João H. Gomes<sup>8</sup>, Felipe  
J. Aida<sup>1,2,3</sup>

ARTIGO ORIGINAL | ORIGINAL ARTICLE

### **ABSTRACT**

The purpose of this study was to analyze the effect of different ground and different types of running equipment on race performance. Fifteen recreational runners were evaluated in two conditions: cushioning sneakers and barefoot; during 3 different times, distances and ground: 15 minutes of running on a synthetic track, 3000m of running in the sand and 6 minutes of running on the treadmill. The rating of perceived exertion (RPE), pain, time and distance of race, pace, average speed, stride frequency, stride amplitude and body angulation were evaluated. The RPE when running with sneakers on synthetic track was higher when compared with running barefoot ( $6.4 \pm 1.42$  vs  $4.9 \pm 1.52$  p = 0.036, cohens d = 0.10). Running barefoot on synthetic track increased pain ( $3.30 \pm 3.33$  vs.  $0.50 \pm 1.58$  p = 0.027, cohens d = 1.07). Running without sneakers did not influence the performance, but presented a lower RPE when compared to the use of sneakers with cushioning in the synthetic floor. On the other hand, running without shoes on synthetic ground, increased the acute pain.

**Keywords:** running, athletic performance, barefoot.

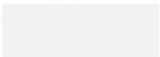
**ANEXO T – CERTIFICADOS DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA DO  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO NO CENTRO UNIVERSITÁRIO  
ESTÁCIO DO RECIFE (2019)**



**D E C L A R A Ç Ã O**

Declaro para os devidos fins que **ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ** participou da banca do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: “**FREQUÊNCIA DO NÍVEL DE DOR E INCAPACIDADE FUNCIONAL EM TRABALHADORES DE ESCRITÓRIO PORTADORES DE CERVICALGIA: UM ESTUDO TRANSVERSAL**”, apresentado pela acadêmica: Tácia Cavalcanti da Cruz

Recife, 17 de junho de 2019.

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Vitória Maria de Lima  
Coordenação do Curso de Fisioterapia

Centro Universitário Estácio do Recife  
Av. Engenheiro Abdias de Carvalho, nº 1678 – Madalena Recife/PE



## DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que **ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ** participou da banca examinadora de Conclusão de Curso intitulado: **“AVALIAÇÃO DO EQUILÍBRIO E RISCO DE QUEDAS NO INDIVÍDUO COM DIABETES MELITTUS TIPO 2: UMA REVISÃO DE LITERATURA”**, apresentado pelos (as) acadêmicos (as): **ALBÉRICO OSTON DA SILVA** e **LÍRIA DE LIMA SILVA**.

Recife, 17 de junho de 2019.

---

Prof.<sup>a</sup> Vitória Maria de Lima  
Coordenação do Curso de Fisioterapia

Centro Universitário Estácio do Recife  
Av. Engenheiro Abdias de Carvalho, nº 1678 – Madalena Recife/PE



## DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que ANA CAMILA NOBRE LACERDA BRITO PAZ participou da banca examinadora de Conclusão de Curso intitulado: “EFEITOS DA FISIOTERAPIA AQUÁTICA NO ÍNDICE GLICÊMICO, FREQUÊNCIA CARDÍACA E PRESSÃO ARTERIAL EM MULHERES PORTADORAS DE DIABETES MELLITUS TIPO II: ESTUDO ANTES E DEPOIS. ”, apresentado pelos (as) acadêmicos (as): IZABELLY KARINA SANTOS RODRIGUES E HELLEN TAMIRYS ALVES DE FRANÇA.

Recife, 17 de junho de 2019.

---

Prof<sup>ª</sup>. Vitória Maria de Lima  
Coordenação do Curso de Fisioterapia

Centro Universitário Estácio do Recife  
Av. Engenheiro Abdias de Carvalho, nº 1678 – Madalena Recife/PE