

Sobral, LL; Oliveira, LS; Takeda, SYM; Somazz, MC; Montebelo, MIL; Teodori, Rosana Macher
Exercício imediato versus tardio na regeneração do nervo isquiático de ratos após axonotmese:
análise histomorfométrica e funcional

Revista Brasileira de Fisioterapia, vol. 12, núm. 4, julio-agosto, 2008, pp. 311-316
Associação Brasileira de Pesquisa e Pós-Graduação em Fisioterapia
São Carlos, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=235016539010>

Exercício imediato versus tardio na regeneração do nervo isquiático de ratos após axoniotmese: análise histomorfométrica e funcional

Immediate versus late exercise for rat sciatic nerve regeneration after axonotmesis: histomorphometric and functional analysis

Sobral LL¹, Oliveira LS¹, Takeda SYM¹, Somazz MC², Montebelo MIL^{1,2}, Teodori RM^{1,2}

Resumo

Objetivo: Devido à controvérsia sobre o melhor momento para iniciar o exercício físico, bem como sua influência sobre a regeneração nervosa periférica, este estudo realizou uma análise histomorfométrica e funcional para avaliar a influência do exercício físico em esteira, aplicado nas fases imediata e tardia da regeneração do nervo isquiático de ratos, após axoniotmese. **Métodos:** Vinte ratos Wistar machos ($229,05 \pm 18,02$ g) foram divididos nos grupos: controle (CON); desnervado (D); desnervado+exercício+gaiola (DEG) e desnervado+gaiola+exercício (DGE). Após 24 horas da axoniotmese, o grupo DEG iniciou o exercício, enquanto o grupo DGE iniciou no 14º dia, com o seguinte protocolo: velocidade=8m/min, inclinação=0%, 30min/dia, durante 14 dias. Em seguida, a porção distal do nervo isquiático foi retirada para análise histomorfométrica. Realizou-se o registro da marcha (pré-operatório e 7º, 14º, 21º, 28º dias pós-operatório (PO)), através do índice funcional do ciático (IFC). **Resultados:** O número de axônios regenerados nos grupos D foi maior que no CON ($p < 0,05$), não havendo diferença intergrupos D. O diâmetro do axônio do grupo DGE foi maior que do grupo D, enquanto os demais parâmetros morfométricos apenas apresentaram diferença significativa com o grupo CON. Não houve diferença nos valores de IFC intergrupos, enquanto na comparação intragrupo, os 7º e o 14º dias diferem do pré-operatório, 21º e o 28º dias PO. **Conclusões:** O protocolo de exercício em esteira aplicado nas fases imediata e tardia, não influenciou o brotamento axonal, o grau de maturação das fibras regeneradas e nem a funcionalidade dos músculos reinervados.

Palavras-chave: regeneração nervosa; exercício físico; histomorfometria; índice funcional do ciático (IFC); plasticidade neuromuscular.

Abstract

Objective: Considering the controversies regarding the best period to begin physical exercise in relation to peripheral nerve regeneration, along with its influence on regeneration, this study accomplished a histomorphometric and functional analysis to evaluate the influence of physical exercise on a treadmill, applied to the immediate and late stages of sciatic nerve regeneration in rats following crushing injury. **Methods:** Twenty male Wistar rats (229.05 ± 18.02 g) were divided into the following groups: control (CON); denervated (D); denervated+exercise+cage (DEC) and denervated+cage+exercise (DCE). The DEC group started the exercise 24 hours after the nerve injury, while the DCE group started on the 14th day after the injury, with the following protocol: speed=8m/min, inclination=0%, 30min/day, for 14 days. The distal segment of the sciatic nerve was then removed for histomorphometric analysis. The gait was recorded before the operation and on the 7th, 14th, 21st and 28th days after the operation, using the sciatic functional index (SFI). **Results:** The number of regenerated axons in the D groups was greater than in the CON group ($p < 0.05$), without differences between the D groups. The axon diameter in the DCE group was greater than the diameter in the D group, whereas the other morphometric parameters only showed significant differences with the CON group. There was no difference in SFI values between the groups, whereas within the groups, the 7th and 14th days differed from the values before the operation and on the 21st and 28th days after the operation. **Conclusions:** The treadmill exercise protocol that was applied to the immediate and late stages of nerve regeneration did not influence the axonal budding, the degree of maturation of the regenerated nerve fibers or the functional performance of the reinnervated muscles.

Key words: nerve regeneration; physical exercise; histomorphometry; sciatic functional index (SFI); neuromuscular plasticity.

Recebido: 27/07/07 – Revisado: 09/01/08 – Aceito: 12/06/08

¹ Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Metodista de Piracicaba (Unimep) – Piracicaba (SP), Brasil

² Curso de Graduação em Fisioterapia, Unimep – Piracicaba (SP), Brasil

Correspondência para: Rosana Macher Teodori, Universidade Metodista de Piracicaba, Rodovia do Açúcar, Km 156, CEP 13400-911, Piracicaba (SP), Brasil, e-mail: rteodori@unimep.br

Introdução ::::.

A recuperação funcional após lesão nervosa periférica é ainda um desafio para a reabilitação. Apesar dos esforços direcionados ao reparo cirúrgico de lesões por secção do nervo, diversos fatores limitam o retorno da sensibilidade e motricidade da região envolvida, como a formação de tecido cicatricial, a perda de rota dos axônios, entre outros^{1,2}.

Quando a lesão ocorre por esmagamento ou compressão e a continuidade do nervo é preservada, o prognóstico é mais favorável¹, porém, devido à degeneração Walleriana que inicia imediatamente após a lesão³, a regeneração nervosa ocorre lentamente e a maturação completa das fibras regeneradas raramente é alcançada⁴.

Enquanto o músculo permanece desnervado, a área de secção transversa de suas fibras diminui, havendo concomitante aumento do tecido conjuntivo, especialmente no perimísmio⁵, o que caracteriza a atrofia e perda de elasticidade do músculo.

Diversos estudos experimentais têm se empenhado em prevenir a atrofia muscular para preservar as condições estruturais e metabólicas do músculo enquanto a regeneração nervosa se processa. Para isso, tem sido utilizada a eletroestimulação fásica de baixa freqüência⁵, a eletroestimulação crônica de baixa freqüência⁶ e o exercício físico⁷⁻¹².

A cinesioterapia tem lugar de destaque como método fisioterapêutico para reabilitação após lesão nervosa periférica, sendo capaz de determinar no homem e em outros animais, um conjunto de adaptações funcionais e estruturais^{7,8,12} com objetivo de prevenir atrofia muscular e recuperar a motricidade e a sensibilidade das áreas comprometidas.

Porém, a literatura aponta controvérsia sobre o melhor período para realizar a atividade física. A maioria dos estudos discute os efeitos do exercício físico na fase de reinervação do músculo ou fase tardia (aproximadamente duas semanas após a lesão nervosa), afirmando que deve haver um período de repouso antes do exercício⁷, pois a atrofia muscular e subsequente reinervação após compressão do nervo isquiático de ratos se torna evidente somente entre o 14º e o 21º dia pós-lesão¹³.

Por outro lado, o exercício realizado na fase de desnervação ou fase imediata (um a três dias após a lesão nervosa), acelera o retorno da função sensório-motora na fase inicial da recuperação¹² e melhora a recuperação funcional em ratos^{9,11,12}.

No que se refere à influência do exercício físico sobre o processo de regeneração do nervo lesado, existem poucos estudos até o momento¹².

Considerando a controvérsia a respeito do momento mais adequado para iniciar o exercício após desnervação, este estudo se propôs a investigar a influência do exercício iniciado nas fases imediata e tardia da regeneração nervosa, sobre as características histomorfométricas e funcionais do nervo isquiático regenerado após axoniotmese, visando fornecer

subsídios para futuras investigações clínicas e discussão sobre as condutas utilizadas para reabilitação.

Materiais e métodos ::::.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (CEEA/UFSCar), sob protocolo nº 027/2006.

Vinte ratos Wistar machos ($229,05 \pm 18,02$ g), obtidos no biotério central da UNIMEP e mantidos em gaiolas de polietileno, com livre acesso à água e ração comercial, sob temperatura controlada e ciclo claro/escuro de 12 horas, foram divididos em quatro grupos (n=5): controle (CON), desnervado (D), desnervado+exercício+gaiola (DEG) e desnervado+gaiola+exercício (DGE). Durante o estudo, não houve perda amostral.

Considerando que o rato não nasce com a habilidade de correr como possui a de nadar¹⁴, os dez animais dos grupos DEG e DGE foram selecionados entre 50 ratos, utilizando-se uma esteira ergométrica elétrica para ratos contendo oito raias e controle digital de velocidade. O critério para seleção foi a capacidade para correr de 5 a 10min/dia em velocidade de 17m/min, durante uma semana^{15,16}.

Antes de iniciar o experimento, os ratos dos grupos DEG e DGE foram adaptados na esteira, correndo em velocidade de 17m/min, sem inclinação, durante uma semana, respeitando-se os finais de semana, iniciando com dez minutos no primeiro dia, com aumento diário de cinco minutos até alcançar 30 minutos, de acordo com Pills et al.¹⁵ e Machado et al.¹⁶. Essa adaptação permitiu familiarizar o animal ao protocolo de exercício, reduzindo o estresse, sem promover adaptações físicas¹⁰.

Os animais dos grupos D, DEG e DGE foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de cetamina (50mg/mL) e cloridrato de xilazina (2g/100mL), na proporção 1:1 (0,3mL/100g de peso corporal) e uma incisão de aproximadamente 1,5cm sobre a pele na região glútea esquerda permitiu visualizar o nervo isquiático, que foi submetido a quatro pinçamentos de 20 segundos (intervalo de um segundo entre eles) com pinça hemostática adaptada, de acordo com Fernandes et al.⁵.

Os animais do grupo DEG iniciaram o exercício 24 horas após a desnervação (30min/dia, cinco dias por semana, com velocidade de 8m/min e inclinação de 0%), durante 14 dias. Após esse período, permaneceram na gaiola até o 30º dia. O grupo DGE permaneceu na gaiola até o 13º dia, iniciando exercício no 14º dia pós-operatório (PO), seguindo o mesmo protocolo do grupo DEG, durante 14 dias.

Para análise funcional da marcha, utilizou-se uma passarela de $8,2 \times 42$ cm¹⁷, com um abrigo escuro na extremidade. A passarela foi revestida com papel sulfite e os animais foram colocados para caminhar, com as patas posteriores marcadas

com tinta de impressão digital. Obteve-se assim o registro da impressão das patas normal e experimental, nos períodos: pré-operatório, 7º, 14º, 21º e 28º dia PO.

Utilizou-se um paquímetro digital com acurácia de 0,01mm, foram obtidas as seguintes distâncias das patas experimental (E) e normal (N): comprimento da pegada (CP), entre a extremidade do terceiro dedo e o calcâneo; largura da pegada (LP), entre o primeiro e o quinto dedo e largura intermediária da pegada (LIP), entre o segundo e quarto dedo^{17,18}.

Os valores obtidos em todos os períodos de análise foram aplicados na equação proposta por Bain, Mackinnon e Hunter¹⁸. Os resultados obtidos expressam a perda funcional em termos percentuais, sendo que o valor 0 representa a função normal ou ausência de disfunção e o valor -100 representa a perda total da função nervosa.

No 31º dia, o nervo isquiático dos animais de todos os grupos foi exposto, fixado in situ em solução de Karnovsky¹⁹, modificado (contendo 1% de paraformaldeído e 2% de glutaraldeído em tampão cacodilato de sódio a 0,1M, pH 7,3) e retirado, sendo a porção distal mantida na mesma solução fixadora por 24 horas e pós-fixada em tetróxido de ósmio a 1%, em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,3, por duas horas, imersa em uranila 5% (24 horas) e desidratada em soluções crescentes (30 a 100%) de acetona. Em seguida, o fragmento do nervo foi incluído em resina Araldite (UE-GAMA – California, USA). Após a retirada do nervo, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical.

Foram obtidos cortes transversais de 1µm, corados com azul de toluidina a 1%, em solução aquosa de bórax a 1% e observados em microscópio de luz Zeiss, (Standard 25 – Oberkochen, Germany) acoplado a um sistema analisador de imagens que utiliza o software Image Pro-Plus 4.0 (Media Cybernetics® – Silver Spring USA). Foram obtidas imagens em objetiva de 10x para determinação da

área total do nervo em cada animal, da qual foram selecionados cinco campos, aleatoriamente definidos (correspondendo a 5% da amostra), para análise do número de axônios e diâmetro das fibras nervosas e dos axônios, sendo a espessura da bainha de mielina e a razão G (que corresponde à divisão do diâmetro do axônio pelo diâmetro da fibra nervosa) calculadas a partir destes dados.

Utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk, pois a análise da distribuição dos dados de todas as variáveis estudadas mostrou distribuição normal nas diferentes condições. Para análise histomorfométrica, utilizou-se o teste de análise de variância (ANOVA F-one-way), seguido de Tukey e, para análise funcional da marcha, o teste ANOVA F-two-way, para avaliar cada grupo, nos diferentes períodos de avaliação (comparação intergrupos). Para a comparação intergrupos, utilizou-se o teste ANOVA F-one-way, seguido de Tukey. Os dados foram processados no aplicativo BioEstat 4.0, considerando o nível de significância de 5%. Os valores foram expressos em média e desvio padrão.

Resultados ::::

O número de axônios regenerados nos grupos D, DEG e DGE foi maior que no grupo CON ($p<0,05$). O diâmetro do axônio nos grupos D foi menor que no grupo CON ($p<0,05$), sendo que no grupo DGE o valor foi maior que no grupo D ($p<0,05$). Para o diâmetro da fibra nervosa e espessura da bainha de mielina, os valores foram sempre menores nos grupos D em relação ao controle ($p<0,05$). A razão G não diferiu intergrupos (Tabela 1).

Em todos os grupos, no período pré-operatório, os valores de IFC refletiram função normal. No 7º e 14º dias PO, os valores refletiram expressiva perda funcional, enquanto entre o 21º e 28º dias PO esses valores mostram recuperação funcional (Tabela 2).

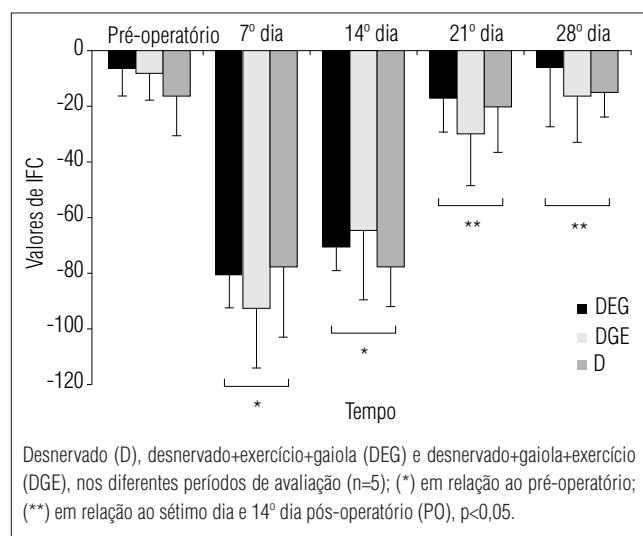
Tabela 1. Valores médios±desvio padrão (dp) da análise quantitativa e histomorfométrica nos grupos: controle (CON); desnervado (D); desnervado+exercício+Gaiola (DEG); desnervado+gaiola+exercício (DGE); n=5.

	CON	D	DEG	DGE
Número de axônios	11.976±1.439	21.345±2.372*	18.591±2.305*	18.436±2.520*
Diâmetro axônio (µm)	5,62±0,19	3,60±0,23 *	3,77±0,18*	4,18±0,36*†
Diâmetro fibra (µm)	9,12±0,33	5,80±0,30*	6,06±0,41*	6,55±0,76*
Espessura mielina (µm)	1,75±0,16	1,10±0,05*	1,14±0,12*	1,18±0,20*
Razão G	0,6±0,02	0,62±0,01	0,62±0,01	0,64±0,01

*p<0,05 comparado ao CON; †p<0,05 comparado ao D.

Tabela 2. Valores médios±desvio padrão (dp) do índice funcional do ciático (IFC) nos grupos: desnervado (D); desnervado+exercício+gaiola (DEG); desnervado+gaiola+exercício (DGE), nos diferentes períodos de análise (n=5).

	D	DEG	DGE
Pré-operatório	-16,18±14,24	-6,44±9,46	-8,06±9,30
7º dia	-77,62±25,17	-80,62±11,61	92,84±20,94
14º dia	-78,00±13,66	-70,62±7,95	-64,93±24,38
21º dia	-20,20±15,57	-17,01±11,85	-9,91±18,18
28º dia	-14,66±8,70	-5,60±21,21	-16,47±16,25



Desnervado (D), desnervado+exercício+gaiola (DEG) e desnervado+gaiola+exercício (DGE), nos diferentes períodos de avaliação ($n=5$); (*) em relação ao pré-operatório; (**) em relação ao sétimo dia e 14º dia pós-operatório (PO), $p<0,05$.

Figura 1. Análise intragrupo do índice funcional do ciático (IFC).

Ao comparar os valores de IFC intergrupos, nos diferentes períodos de avaliação (Tabela 2), verificou-se que as diferenças não foram estatisticamente significantes ($p>0,05$), enquanto na comparação intragrupo (Figura 1), verificou-se que o 7º e o 14º dias diferem do período pré-operatório, enquanto o 21º e o 28º dias diferem do 7º e do 14º dias ($p<0,05$).

Discussão

A lesão do tipo axoniotmese é uma modalidade útil e produtível para o estudo da regeneração nervosa periférica, em que a agressão ao nervo é suficiente para causar degeneração Walleriana na porção distal e permitir regeneração nervosa, devido à preservação dos envoltórios conjuntivos, da membrana basal e da microcirculação local²⁰.

Ao estudar o processo de reinervação muscular após axoniotmese em ratos, Gorio et al¹³, observaram que após dez dias da lesão, nenhum axônio havia estabelecido contato com a junção neuromuscular, o que ocorria a partir da segunda semana da lesão, quando se observou que 25% das fibras musculares estavam reinervadas por mais de um axônio (poliinervação). Entre 21 e 25 dias ocorreu o pico de poliinervação, que foi seguida pelo processo de eliminação sináptica. Aos 60 dias da lesão, as fibras estavam monoinervadas.

Considerando que a partir do 14º dia após a axoniotmese os axônios regenerados estariam recuperando seus contatos com as fibras musculares, optou-se por verificar se o exercício aplicado previamente (na fase imediata de regeneração) ou após este período (fase tardia de regeneração) poderia modificar a evolução desse processo.

Nos grupos D, observou-se que a realização do exercício, tanto na fase imediata quanto tardia, não influenciou o brotamento axonal, fato que se evidencia pela semelhança no número de axônios regenerados nos três grupos D, nos quais o número de axônios praticamente duplicou após 30 dias da lesão. Isso se justifica pelo fato de que cada axônio lesado emite dois ou três brotos em direção ao músculo²¹.

No que se refere à maturação das fibras regeneradas, Verdú et al.⁴ afirmam que esta atinge aproximadamente 75% dos valores controle após a lesão, dificilmente alcançando valores normais. Neste estudo, o diâmetro da fibra do grupo D atingiu 63,59% dos valores controle, enquanto o grupo DGE atingiu 71,82% e o grupo DEG, 66,44%. Entretanto, vale ressaltar que essa análise foi obtida após 31 dias da lesão. Uma análise após períodos mais prolongados poderia expressar valores mais próximos aos relatados na literatura.

Assim, pode-se afirmar que a atividade física em esteira na fase imediata ou tardia da lesão não influenciou o grau de maturação das fibras regeneradas, uma vez que apenas o diâmetro de axônio do grupo DGE foi maior que do grupo D, enquanto os demais parâmetros analisados não diferiram intergrupos D.

Sob a ótica da prática clínica, esses resultados histomorfométricos sugerem que a indução do exercício físico após desnervação, com objetivo de retardar as alterações tróficas no músculo, poderia não prejudicar o processo de regeneração nervosa.

Entretanto, há relatos de que o aumento da atividade neuromuscular provocado pelo exercício de corrida na roda durante oito horas diárias, na fase aguda da lesão, inibe o brotamento axonal no músculo desnervado^{22,23}. É possível que naquele estudo o prejuízo à reinervação se deva ao tempo de duração do exercício, diferindo dos resultados deste estudo, no qual o exercício teve duração de 30 minutos diários.

A eletrofisiologia, a histomorfometria e os testes funcionais têm sido bastante utilizados para quantificar a regeneração nervosa em estudos experimentais, pois possibilitam a análise de resultados de diferentes formas de intervenção, que podem favorecer a regeneração nervosa e, consequentemente, a recuperação funcional^{24,25}.

Os valores de IFC próximos de -100 no sétimo dia após a lesão demonstram as consequências da desnervação, com perda completa de função. A partir do 14º dia, os valores de IFC se tornaram progressivamente menos negativos, o que coincide com o período em que inicia a reinervação muscular. No 21º dia, evidenciam-se valores de IFC próximos de zero, caracterizando recuperação funcional relacionada ao pico de poliinervação¹³ e no 28º dia refletem condição funcional compatível com a de nervos normais²⁶.

Ao comparar os resultados do IFC intergrupos D, observa-se que o exercício em esteira aplicado na fase imediata ou tardia da regeneração nervosa após axoniotmese não influenciou o grau

de recuperação funcional. Assim, reporta-se aqui à importância da estimulação precoce de músculos desnervados, pois além de não prejudicar a regeneração nervosa e a recuperação funcional, conforme observado neste estudo, atua no sentido de evitar a atrofia pós-desnervação²⁷, o que pode favorecer ainda mais a recuperação da função após regeneração nervosa.

Numa comparação intragrupo dos valores do IFC, observou-se diferença significativa entre os tempos de análise. Esses dados estão de acordo com diversos pesquisadores que afirmam haver boa recuperação funcional no decorrer das avaliações após esmagamento do nervo isquiático de ratos^{11,12,24,28}.

Assim sendo, ao considerar os benefícios do exercício físico para o animal desnervado, como o aumento do número e do diâmetro dos axônios²⁹, elevação do peso e da força muscular, aumento da capacidade oxidativa do músculo¹⁰, rápido retorno da função sensório-motora na fase inicial e tardia, acelerando a recuperação funcional⁹, o aumento da mielinização das fibras¹², entre outros, reafirma-se a importância de investigar e discutir a prática clínica, uma vez que a indução de atividade neuromuscular (a partir do protocolo de exercício empregado) em músculos desnervados não prejudicou o processo

de regeneração axonal. Desta forma, seus benefícios ao músculo poderiam sustentar sua aplicabilidade, especialmente no sentido de retardar atrofia, o que poderia refletir diretamente em recuperação funcional mais efetiva após a regeneração nervosa.

Conclusões ::::.

O protocolo utilizado para aplicação de exercício em esteira neste estudo, tanto na fase imediata como tardia da regeneração nervosa após esmagamento do nervo isquiático de ratos, não influenciou o brotamento axonal, o grau de maturação das fibras regeneradas e nem a funcionalidade dos músculos reinervados.

Agradecimentos ::::.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), processo número 05/52720-0.

Referências bibliográficas ::::.

- Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus*. 2004;16(5):1-7.
- Johnson EO, Zoubos AB, Soucacos PN. Regeneration and repair of peripheral nerves. *Injury*. 2005;36(Suppl 4):S24-9.
- Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle Nerve*. 2000;23(6):863-73.
- Verdú E, Ceballos D, Vilches JJ, Navarro X. Influence of aging on peripheral nerve function and regeneration. *J Peripher Nerv Syst*. 2000;5(4):191-208.
- Fernandes KCBG, Polacow MLO, Guiro RRJ, Campos GER, Somazz MC, Pinto VF et al. Análise morfométrica dos tecidos muscular e conjuntivo após desnervação e estimulação elétrica de baixa freqüência. *Rev Bras Fisioter*. 2005;9(2):235-41.
- Dennis RG, Dow DE, Faulkner JA. An implantable device for stimulation of denervated muscles in rats. *Med Eng Phys*. 2003;25(3):239-53.
- Herbison GJ, Jaweed MM, Ditunno JF. Histochemical fiber type alterations secondary to exercise training of reinnervating adult rat muscle. *Arch Phys Med Rehabil*. 1980;61(6):255-57.
- Sakakima H, Yoshida Y, Sakae K, Morimoto N. Different frequency treadmill running in immobilization-induced muscle atrophy and ankle joint contracture of rats. *Scand J Med Sci Sports*. 2004;14(3):186-92.
- Van Meeteren NL, Brakkee JH, Hamers FP, Helders PJ, Gispen WH. Exercise training improves functional recovery and motor nerve conduction velocity after sciatic nerve crush lesion in the rat. *Arch Phys Med Rehabil*. 1997;78(1):70-7.
- Marqueste T, Alliez JR, Alluin O, Jammes Y, Decherchi P. Neuromuscular rehabilitation by treadmill running or electrical stimulation after peripheral nerve injury and repair. *J Appl Physiol*. 2004;96(5):1988-95.
- Byun YH, Lee MH, Kim SS, Kim H, Chang HK, Lee TH et al. Treadmill running promotes functional recovery and decreases brain-derived neurotrophic factor mRNA expression following sciatic crushed nerve injury in rats. *J Sports Med Phys Fitness*. 2005;45(2):222-8.
- Seo TB, Han IS, Yoon JH, Hong KE, Yoon SJ, Namgung U. Involvement of Cdc2 in axonal regeneration enhanced by exercise training in rats. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38(7):1267-76.
- Gorio A, Carmignoto G, Finesso M, Polato P, Nunzi MG. Muscle reinnervation-II. Sprouting, synapse formation and repression. *Neuroscience*. 1983;8(3):403-16.
- Gobatto CA, de Mello MA, Sibuya CY, de Azevedo JR, dos Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol*. 2001;130(1):21-7.
- Pilis W, Zarzecny R, Langfort J, Kaciuba-Uścielko H, Nazar K, Wojtyna J. Anaerobic threshold in rats. *Comp Biochem Physiol*. 1993;106(2):285-9.

16. Machado FB, Gobatto CA, Contarteze RVL, Papoti M, de Mello MAR. Maximal lactate steady state in running rats. *J Exerc Physiol Online*. 2005;8(9):29-35.
17. de Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol*. 1982;77(3):634-43.
18. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg*. 1989;83(1):129-38.
19. Karnovsky MJ. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J Cell Biol*. 1965;27:137-8.
20. Lunn ER, Brown MC, Perry VH. The pattern of axonal degeneration in the peripheral nervous system varies with different types of lesion. *Neuroscience*. 1990;35(1):157-65.
21. Fawcett JW, Keynes RJ. Peripheral nerve regeneration. *Annu Rev Neurosci*. 1990;13:43-60.
22. Tam SL, Archibald V, Jassar B, Tyreman N, Gordon T. Increased neuromuscular activity reduces sprouting in partially denervated muscles. *J Neurosci*. 2001;21(2):654-67.
23. Tam SL, Gordon T. Neuromuscular activity impairs axonal sprouting in partially denervated muscles by inhibiting bridge formation of perisynaptic Schwann cells. *J Neurobiol*. 2003;57(2):221-34.
24. Varejão AS, Melo-Pinto P, Meek MF, Filipe VM, Bulas-Cruz J. Methods for the experimental functional assessment of rat sciatic nerve regeneration. *Neurol Res*. 2004;26(2):186-94.
25. Monte-Raso WV, Barbieri CH, Mazzer N, Fazan VPS. Os efeitos do ultra-som terapêutico nas lesões por esmagamento do nervo ciático de ratos: análise funcional da marcha. *Rev Bras Fisioter*. 2006;10(1):113-9.
26. Dash H, Kononov A, Prayson RA, Petras S, Browne EZ. Evaluation of nerve recovery from minimal-duration crush injury. *Ann Plast Surg*. 1996;37(5):526-31.
27. Marqueste T, Alliez JR, Alluin O, Jammes Y, Decherchi P. Neuromuscular rehabilitation by treadmill running or electrical stimulation after peripheral nerve injury and repair. *J Appl Physiol*. 2004;96(5):1988-95.
28. Varejão AS, Cabrita AM, Geuna S, Melo-Pinto P, Filipe VM, Gramsbergen A et al. Toe out angle: a functional index for the evaluation of sciatic nerve recovery in the rat model. *Exp Neurol*. 2003;183(2):695-9.
29. Gutmann E, Jakoubek B. Effect of increased motor activity on regeneration of the peripheral nerve in young rats. *Physiol Bohemoslov*. 1963;12:463-8.