

EFEITO DA CINESIOTERAPIA NA LESÃO ISQUÊMICA E REPERFUSÃO EM RATOS

EFFECTS OF KINESIOTHERAPY IN ISCHEMIC LESION AND REPERFUSION IN RATS

Flavia Moscardini, Everton Horiqini Barbosa, Estela Fagionato Garcia, Ana Paula Oliveira Borges, José Alexandre Bachur, Paulo Roberto Veiga Quemelo

RESUMO

Objetivo: Verificar o efeito da cinesioterapia na funcionalidade do membro pélvico de ratos após lesão isquêmica e reperfusão. **Métodos:** Foram utilizados 10 ratos, divididos em dois grupos, G1 (controle) e GII (cinesioterapia). Todos os animais foram submetidos à isquemia por um período de três horas, seguido de reperfusão tecidual. No Grupo GII foi realizado cinesioterapia sistêmica (natação) não resistida em três sessões semanais de 50 minutos durante quatro semanas, enquanto que no grupo G1 os animais permaneceram em repouso. A análise funcional do comportamento motor foi realizada semanalmente. Posteriormente, os animais foram mortos e retirados os músculos sóleo, gastrocnêmio e nervo ciático para análise histopatológica. **Resultados:** Houve uma recuperação significativa do comportamento motor com o tratamento cinesioterapêutico ao longo das quatro semanas de tratamento. No entanto, na avaliação histológica os tecidos não mostraram alterações morfológicas de lesão e reparação celular. **Conclusão:** Não foi possível afirmar que o exercício mostrou-se eficiente na reparação celular, pois, tanto no grupo controle como no experimental, não apresentou diferença histológica. Por outro lado, a cinesioterapia sistêmica apresentou um efeito benéfico na reabilitação funcional após isquemia e reperfusão. **Nível de Evidência III, Estudo Caso-Control.**

Descritores: Isquemia. Reperfusão. Exercício. Cinesiologia aplicada.

ABSTRACT

Objective: To investigate the effect of kinesiotherapy on the functionality of the pelvic limb of rats after ischemic and reperfusion injury. **Methods:** 10 rats were divided into two groups, G1 (control) and GII (kinesiotherapy). All the animals underwent ischemia for a period of three hours, followed by tissue reperfusion. In Group GII, non-resistive systemic kinesiotherapy was performed (swimming) in three weekly sessions of 50 minutes, over a period of four weeks, while the G1 animals remained at rest. Functional analysis of motor behavior was evaluated weekly. The animals were then sacrificed, and the soleus, gastrocnemius and sciatic nerve removed for histopathological analysis. **Results:** There was a significant recovery of motor behavior with kinesiotherapeutic treatment during the four weeks of treatment. However, the histological tissues showed no morphological changes of cell injury and repair. **Conclusion:** It was not possible to affirm that the exercise was effective in cell repair, because neither of the groups (control and experimental) showed any histological difference. On the other hand, systemic kinesiotherapy showed a beneficial effect on functional rehabilitation after ischemia and reperfusion. **Level of evidence III, Case-Control Study.**

Keywords: ischemia, reperfusion, kinesiotherapy, functional analysis.

Citação: Moscardini F, Barbosa EH, Garcia EF, Borges APO, Bachur JA, Quemelo PRV. Efeito da cinesioterapia na lesão isquêmica e reperfusão em ratos. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2012;20(3): 131-5. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

Citation: Moscardini F, Barbosa EH, Garcia EF, Borges APO, Bachur JA, Quemelo PRV. Effects of kinesiotherapy in ischemic lesion and reperfusion in rats. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2012;20(3): 131-5. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

INTRODUÇÃO

A isquemia em membros inferiores provoca sinais e sintomas decorrentes da insuficiência arterial nos tecidos de um determinado segmento do corpo humano. Se o tratamento não for eficaz, pode ocorrer perda das condições funcionais.¹ As principais consequências da isquemia ocorrem em território arteríolo-capilar e, persistindo a isquemia, surgem as primeiras áreas de necrose capilar e tecidual.² Durante a isquemia, a tolerância dos tecidos é variável e multifatorial, dependendo do tempo de isquemia, neces-

sidades metabólicas dos tecidos, do aporte da circulação colateral e de fatores humorais. Desta maneira, não se pode delimitar um período exato em que cada tecido ficaria com a sua integridade irreversivelmente comprometida diante de um período isquêmico.³ Com a persistência da isquemia, surgem áreas de necrose e, em determinado momento, haverá áreas de tecido normal intermediadas com áreas de tecidos alterados funcionalmente, mas viáveis, juntamente com áreas de tecido necrosado. Quando se inicia o processo de reperfusão e a circulação é restaurada, tecidos viáveis se recuperam e voltam à sua função e os tecidos

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

Universidade de Franca, Franca – SP, Brasil.

Trabalho realizado no Laboratório de Fisioterapia Experimental da Universidade de Franca - Franca, SP, Brasil.

Correspondência: Clínica de Fisioterapia da Universidade de Franca - Av. Dr. Armando Salles de Oliveira, nº 201, Pq. Universitário - Franca/SP, CEP: 14.404-600, E-mail: pquemelo@usp.br

Artigo recebido em 28/12/2009, aprovado em 22/07/2010.

Acta Ortop Bras. 2012;20(3): 131-5

necrosados sofrem processos de reabsorção, organização e fibrose. Haverá, então, consequências bioquímicas, hemodinâmicas e anátomo-patológicas em espaço variável. Isso sempre vai acontecer quando grandes áreas musculares forem afetadas e a isquemia perdurar por um longo período.² A resposta inflamatória, com a liberação de grandes quantidades de mediadores, com efeito quimiotático, causa uma intensa migração leucocitária para os vasos sanguíneos dos tecidos isquêmicos e uma consequente adesão endotelial e ativação, podendo levar à obstrução da microcirculação, piorando a isquemia.⁴

Por ser um evento clínico frequente, a isquemia se apresenta ao cirurgião vascular com uma forte indicação para ato cirúrgico restaurador. A restauração do fluxo sanguíneo é, em geral, necessária para se recuperar a função celular normal. Por outro lado, a reperfusão do sangue oxigenado nos tecidos isquêmicos pode levar a lesões teciduais ainda mais graves do que as provocadas pela isquemia, devido ao aumento dos radicais livres, um fenômeno chamado de estresse oxidativo.⁵⁻⁷ Os radicais livres são moléculas instáveis ou fragmentos de moléculas com um elétron ímpar em sua órbita externa. Tais moléculas atuam sobre os lipídios, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos e levam a modificações da função e da estrutura celular, ocasionando morte celular.⁸⁻¹⁰

A cinesioterapia é definida etimologicamente como a arte de curar, utilizando todas as técnicas do movimento do corpo ou das partes corporais para alívio de sintomas ou melhorar a função. A cinesioterapia tem lugar de destaque como método fisioterapêutico para a reabilitação, sendo capaz de determinar um conjunto de adaptações funcionais e estruturais com o objetivo de prevenir atrofia muscular e recuperar a motricidade e a sensibilidade das áreas comprometidas.¹¹⁻¹³

Neste contexto, há um déficit de estudos clínicos e experimentais com o propósito de estimular a reparação dos tecidos isquêmicos através da cinesioterapia. Em estudo experimental utilizando a cinesioterapia para promover regeneração nervosa e a recuperação funcional da locomoção em ratos com lesão traumática do nervo ciático houve um efeito benéfico na recuperação funcional dos animais.¹⁴

Desta maneira, o objetivo do presente estudo é analisar os efeitos da cinesioterapia sistêmica na reparação tecidual e reabilitação funcional após isquemia e reperfusão do membro pélvico de ratos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Franca sob N^o 015/09-A.

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Fisioterapia Experimental da Universidade de Franca. A amostra foi composta por 10 ratos albinos da linhagem *Wistar*, machos, com peso oscilando entre 300 a 350 gramas, provenientes do biotério da Universidade de Franca. Os animais foram distribuídos equitativamente em dois grupos: GI (controle) e GII (cinesioterapia), sendo mantidos em gaiolas de plástico, recebendo água e alimento *ad libitum*.

O procedimento anestésico foi realizado com 0,6 ketamina base solução (50 mg/Kg) (ketamina[®] - Pfizer do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil) e 0,1 xilazida (10 mg/Kg) (rompum[®] - Bayer do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil) injetadas na região abdominal. Posteriormente foi realizada a isquemia durante o período de três horas com a utilização de torniquete na extremidade proximal do membro pélvico direito dos animais, seguida de reperfusão tecidual.

As sessões de cinesioterapia sistêmica (natação) não resistida iniciaram-se após dois dias do procedimento isquêmico nos animais do grupo GII, em três sessões semanais de 50 minutos

durante quatro semanas em um tanque medindo 100cm x 50cm e profundidade de 40cm, contendo água a 30°C em quantidade suficiente para evitar que os animais apoiassem a extremidade da cauda no fundo do tanque. Já os animais do grupo GI (controle), não foram submetidos a nenhum tipo de atividade, permanecendo em repouso durante todo o experimento.

A avaliação do comportamento motor foi realizada em uma arena circular (campo aberto), confeccionada em acrílico transparente, medindo 60cm de diâmetro e 50cm de altura. O assoalho, também em acrílico transparente, sob o qual encontra-se desenhado um círculo dividido em 12 partes iguais, usadas para se quantificar a frequência das respostas comportamentais. Os animais foram colocados um a um no interior da arena, onde poderiam movimentar-se livremente. A taxa de deambulação, (chamada de cruzamento) andando e/ou correndo, foi mensurada durante 10 minutos através da contagem do número de seções do ambiente transpassadas pelo animal, desde que o mesmo coloque as quatro patas no outro quadrante.^{15,16} A resposta exploratória de levantar-se nas patas traseiras que é a resposta de erguer-se sobre as duas patas traseiras, mantendo as patas dianteiras elevadas, estando completamente ereto no meio da arena ou semi-apoiado contra a parede de acrílico.^{17,18} A análise funcional foi realizada semanalmente nos dois grupos (GI e GII).

No final do experimento (após 30 dias) os animais foram mortos em câmara de CO₂ e o tecido músculo-esquelético (sóleo e gastrocnêmio) e nervoso (nervo ciático) foram coletados, fixados em formalina tamponada a 10% por 24 horas e posteriormente desidratado em concentração crescente de etanol, diafanizado em xilol e incluído em parafina.

Os blocos de parafina foram seccionados em micrótomo rotativo, com cortes histológicos de 4µm de espessura. Os cortes foram recolhidos em lâminas de vidro e corados com Hematoxilina e Eosina (HE) e Tricrômico de Gomori. A análise histológica foi realizada em microscópio convencional.

Para a análise estatística foi utilizado o programa prisma 4.0 para o teste "t" de *student*, considerando significativo quando o valor de foi menor que 0,05.

RESULTADOS

Durante o procedimento isquêmico foi possível observar que os animais apresentavam cianose, e queda na temperatura do membro e após a retirada do torniquete e restabelecimento das funções dos animais pós-anestésico, notava-se que os animais apresentavam importante claudicação, que melhorou com o passar das semanas e se restabeleceu após as quatro semanas de experimento.

A seguir são apresentados os resultados experimentais obtidos. As Figuras mostram a evolução temporal, durante as quatro semanas de avaliação (frequência de levantamentos e de cruzamentos).

A Figura 1 apresenta os resultados da avaliação do comportamento exploratório. A média de levantamentos dos animais foi usada como uma medida do grau de recuperação da lesão. Um maior número de levantamentos indica uma recuperação mais rápida dos movimentos musculares do animal. Na figura 1, nota-se a recuperação dos animais ao longo das semanas de avaliação. Nas duas primeiras semanas, os dois grupos avaliados apresentaram médias de levantamentos similares. Nota-se também o aumento do número de levantamentos dos dois grupos da primeira para a segunda semana, o que pode corresponder ao início da recuperação muscular dos animais. A partir da terceira semana, observa-se claramente o efeito do tratamento de cinesioterapia,

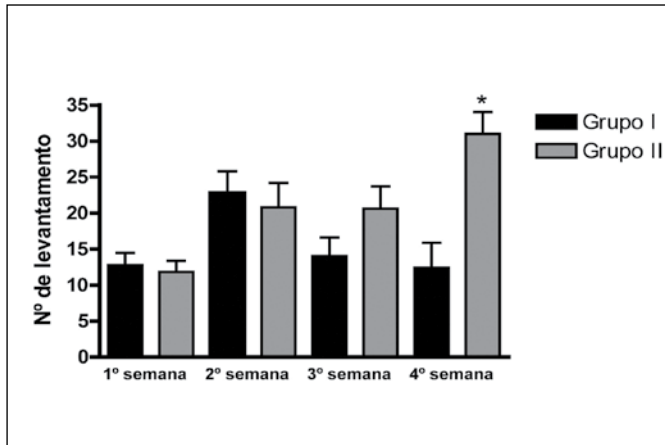


Figura 1. Média de levantamentos apresentados pelo grupo I (controle) e grupo II (experimental) durante as 4 semanas de avaliação. * Significativamente diferente.

pois o Grupo II (experimental) apresentou um aumento do número de levantamentos, enquanto que o grupo de controle obteve uma média de levantamentos bem inferior. Os resultados mostram que, para o cenário experimental utilizado, o tratamento cinesioterapêutico proporcionou, ao final do período de quatro semanas, uma melhora significativa na recuperação dos movimentos musculares do grupo experimental em relação ao grupo de controle de 150%, com diferença estatística significativa ($p=0,0331$).

A Figura 2 apresenta o número de cruzamentos da arena circular. São apresentadas as médias dos cinco animais de cada grupo avaliado durante as quatro semanas de avaliação. Os resultados da Figura 2 apresentam um panorama similar ao da Figura 1, pois os dois grupos avaliados tiveram um comportamento similar durante as duas primeiras semanas e o Grupo II (experimental) apresentou melhor recuperação a partir da terceira semana. Ao final do período de avaliação, notou-se uma melhora significativa (60,4%) na recuperação da atividade motora do grupo experimental em relação ao grupo controle ($p=0,0136$).

A Tabela 1 resume os dados apresentados nas duas figuras anteriores. Em geral, observou-se que a partir da terceira semana de avaliação os efeitos do tratamento cinesioterapêutico na recuperação da lesão isquêmica/reperfusão tornaram-se mais evidentes.

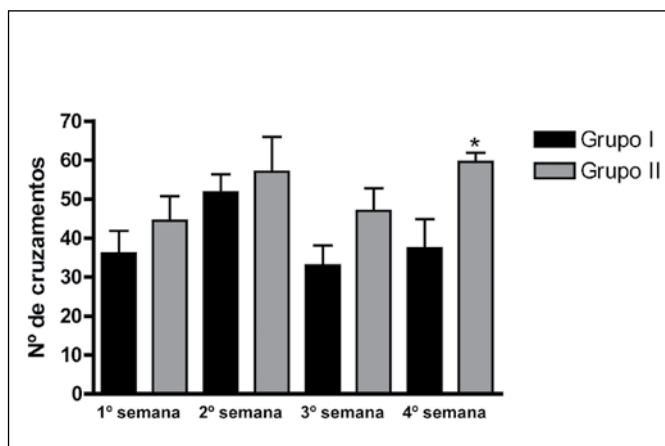


Figura 2. Média de cruzamentos apresentados pelo grupo I (controle) e grupo II (experimental) durante as 4 semanas de avaliação. * significativamente diferente.

Tabela 1. Dados da evolução funcional semanalmente.

| Semanas | Média Levantamentos | | Média Cruzamentos | |
|-----------|---------------------|----------|-------------------|----------|
| | Grupo I | Grupo II | Grupo I | Grupo II |
| 1ª semana | 12,8 | 12 | 36 | 44 |
| 2ª semana | 22,8 | 21 | 51,8 | 57 |
| 3ª semana | 14 | 21 | 33 | 47 |
| 4ª semana | 12,4 | 31 | 37,4 | 60 |

Notou-se também que, em todas as medidas avaliadas, houve uma melhoria mais acentuada da recuperação do Grupo II (experimental) em relação ao Grupo I (controle). Portanto, pode-se atribuir tal melhoria ao tratamento cinesioterapêutico.

Na análise histopatológica de dos tecidos não se observou processo inflamatório, lesão tecidual e processo de reparação o que indica que o tempo de isquemia foi curto para produzir lesões morfológicas no tecido músculo-esquelético e nervoso periférico.

DISCUSSÃO

Na literatura biomédica existem outros modelos para produzir a isquemia tecidual, como o clampeamento da artéria ilíaca comum unilateral. Este modelo compromete somente a irrigação arterial deixando livre a drenagem venosa, sendo considerado mais apropriado para simular uma embolia arterial. Contudo, a circulação colateral ficará disponível para suprir o território isquêmico, o que também ocorre no caso da embolia arterial.¹⁹

Há modelos de isquemia de músculo esquelético que utilizam a secção da circunferência da pele, tela subcutânea e musculatura da coxa, ao redor da articulação do quadril, preservando-se somente o osso, nervo, artéria e veia femorais. A isquemia é produzida pela oclusão, sob lupa, da artéria femoral. Este método é mais traumático e exige uso de microscópio cirúrgico para sua execução, porém é o modelo ideal para eliminar toda a circulação colateral.^{20,21}

O modelo mais adequado para simular um trauma compressivo ou o procedimento operatório de garroteamento usado em operações ortopédicas é o método que preconiza o uso do torniquete experimental, que compromete a irrigação arterial e drenagem venosa simultaneamente. Argumenta-se também que este modelo estaria privilegiando também a lesão vascular, pelo trauma da aplicação do torniquete, e impedindo a resposta vasomotora e venosa durante a reperfusão.^{22,23} Optou-se pelo modelo de torniquete experimental por atender aos objetivos de tentar simular a ocorrência de isquemia resultante de garroteamento de membros em procedimentos operatórios mais prolongados e também aplicáveis em traumas compressivos, como aprisionamento nas ferragens em acidentes automobilísticos ou soterramentos.

A alteração funcional devido à isquemia e a reperfusão do tecido muscular estão associados à fadiga, conforme Murthy,²⁴ ocasionadas pela diminuição do pH intracelular e desequilíbrio da bomba de Na^+/K^+ , o que pode levar a uma queda na capacidade de contração muscular ou até mesmo a morte desta célula.²⁵

A cinesioterapia tem papel importante na reabilitação podendo promover adaptações funcionais e estruturais com o objetivo de prevenir atrofia muscular e recuperar a motricidade e a sensibilidade das áreas comprometidas.¹¹⁻¹³

Os objetivos da reabilitação funcional são promover adequada cicatrização, rápido retorno funcional do membro e prevenir complicações causadas pelo desuso como atrofia muscular e contração articular.^{26,27} Os exercícios físicos têm sido empregados em estudos clínicos experimentais com o propósito de estimular a regeneração nervosa periférica, entretanto, essas pesquisas não examinam os efeitos de tipos específicos de exercícios sobre a regeneração das fibras nervosas periféricas. No estudo de Ilha¹⁴ foram testados os possíveis efeitos de um programa de treinamento aeróbico, de resistência muscular e a combinação de ambos os programas (durante cinco semanas) na regeneração do nervo ciático em ratos após lesão nervosa por compressão, utilizando análise funcional e morfométrica. Os resultados obtidos no estudo de Ilha¹⁴ indicam que o treinamento aeróbico melhora a recuperação funcional desde a primeira semana de treino, e a diferenciação morfológica do nervo ciático em regeneração após cinco semanas de treinamento quando comparado com os animais lesionados sedentários. Em contrapartida, os resultados do nosso estudo apontam que a cinesioterapia teve um efeito benéfico no comportamento funcional a partir da terceira semana, mas não mostrou melhora morfológica nos tecidos.

No presente estudo também foi observado um aumento da frequência de cruzamentos e levantamentos na arena de acrílico nos animais submetidos à cinesioterapia quando comparados com os animais do grupo controle. O aumento do número de levantamentos evidencia a melhora desses animais, pois os mesmos conseguiam ficar apoiados nas patas traseiras. Esta melhora que ocorreu a partir da terceira semana pode corresponder ao início da recuperação muscular dos animais e vai de acordo com semelhante estudo realizado em cães, onde a cinesioterapia influenciou positivamente na melhora funcional do membro dos cães.²⁸

Grande parte dos estudos que envolvem a funcionalidade do membro pélvico de ratos estão relacionados com lesões do nervo ciático²⁹⁻³¹ e sua avaliação é obtida pelo IFC (Índice Funcional do Ciático). No entanto, pouco se sabe sobre a avaliação funcional, bem como a recuperação do tecido muscular nas lesões por isquemia e reperfusão.

A avaliação na arena é determinada pela mensuração dos comportamentos atrativos pela colocação do animal em um novo espaço aberto do qual a fuga é prevenida por uma parede circular. O desencadeamento desses comportamentos é dependente da interação do animal a uma diversidade de fatores como: retirada do animal de um ambiente familiar, exposição a um ambiente novo, injeção de drogas, lesões neurais, alterações relacionadas ao estado emocional, além da habituação e do aprendizado.³² Desta forma, a quantidade de movimento passa a ser um indicador de comportamento exploratório e indica uma melhora no processo de reparação tecidual e funcional do animal.³³ Apesar de que Blakley³⁴ cita que ratos com maior estresse e ansiedade têm menor comportamento exploratório, o que pode explicar a

diminuição do número de cruzamento e levantamentos na terceira semana, que foi retomada na quarta semana.

Pode-se observar nas avaliações que o grupo controle e experimental habituaram-se ao ambiente (arena) a partir da terceira semana de avaliação. No entanto, comparando os grupos GI e GII, o grupo GI (controle) evidenciou uma maior habituação na atividade exploratória quando comparada com o grupo GII (experimental). Princípios de habituação podem ser compreendidos por mecanismos de plasticidade comportamental, característica dos processos de aprendizagem e memória³⁵. Alguns estudos procuram mostrar a habituação em ratos sem lesão submetidos ao algum tipo de estimulação. Varty³⁶, demonstrou, através de análise de atividade locomotora, que tanto ratos estimulados quanto controles apresentam esse fenômeno.

De qualquer maneira, os valores encontrados neste estudo sugerem que, mesmo os dois grupos sendo avaliados ao longo das quatro semanas, em um mesmo ambiente (arena), e, dessa forma, estando propensos aos mecanismos fisiológicos de habituação do ambiente, o grupo GII conseguiu explorar melhor o ambiente em comparação com o grupo GI, o que reforça os efeitos da cinesioterapia na melhora funcional desses animais.

Em relação aos efeitos do exercício na reparação tecidual, não podemos afirmar que a cinesioterapia neste estudo foi fundamental, pois, tanto no grupo controle como no grupo experimental, não apresentou diferença morfológica na análise histológica.

Acreditamos que o método de microscopia utilizado para analisar esse experimento não foi totalmente adequado e, talvez, a análise bioquímica pudesse evidenciar alterações nos tecidos analisados histologicamente, uma vez que as alterações bioquímicas das funções celulares básicas estão relacionadas com a diminuição de oxigênio e falência energética da célula.^{37,38}

Adicionalmente, dos artigos encontrados sobre esse tema, destaca-se a ausência de um padrão em relação ao método utilizado para realizar a isquemia, assim como existem variados tempos de isquemia e reperfusão e métodos a serem utilizados como forma de tratamentos, e ainda diferentes métodos de avaliação dos resultados obtidos, o que torna muito difícil a comparação dos trabalhos.

Apesar dos resultados não evidenciarem lesão celular, o estudo demonstra que a fibra muscular e o tecido nervoso periférico são resistentes às alterações morfológicas decorrentes da isquemia e reperfusão nesse modelo experimental.

CONCLUSÃO

A fibra muscular e o nervo periférico mostraram-se resistentes às alterações morfológicas decorrentes da isquemia e reperfusão, não sendo possível afirmar que a cinesioterapia foi fundamental na reparação tecidual. Por outro lado, o exercício apresentou um efeito benéfico na reabilitação funcional do membro pélvico destes animais.

REFERÊNCIAS

1. Silva JCCB, Burihan E. Diagnóstico clínico da isquemia crítica dos membros. *Rev Bras Clin Ter.* 1999; 25(2):71-9.
2. Ramaciotti O. Síndrome isquêmica aguda. In: Cordeiro GCL. *Manual de angiologia para o clínico.* São Paulo: Organon; 1974. p. 89-100.
3. Yoshida WB. Radicais livres na síndrome da isquemia e reperfusão. *Cir Vasc Angiol.* 1996;12:82-95.
4. Silveira M, Yoshida WB. Isquemia e reperfusão em músculo esquelético. *J Vasc Bras.* 2004;3(4):367-78.
5. Hearse DJ, Humprey WG, Bullock GR. The oxygen paradox and the calcium paradox: Two facets of the same problem? *J Moll Cell Cardiol.* 1978;10:641-68.
6. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med.* 1985;312(3):159-63.
7. Freisleben HJ. Lipoate ameliorates ischemia-reperfusion in animal models. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2000;23(2-4):219-24.
8. Córdova A, Navas JF. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. *Rev Bras Med Esporte.* 2000;6(5):204-8.
9. Percário S. Alterações oxidativas e da defesa antioxidante no broncoespasmo agudo induzido em cobaias [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina; 2000.
10. Simonini G, Pignone A, Generini S, Falcini F, Cerinic MM. Emerging potentials

- for an antioxidant therapy as a new approach to the treatment of systemic sclerosis. *Toxicology*. 2000;155(1-3):1-15.
11. 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):255-7.
 12. 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.
 13. 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.
 14. Ilha J. Efeitos do exercício físico na recuperação nervosa periférica após lesão traumática experimental do nervo ciático em ratos adultos [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.
 15. Stein C, Bueno OF, Xavier GF. Rats do react to stimulus omission. *Braz J Med Biol Res*. 1994;27(10):2423-30.
 16. Denenberg VH. Open-field behavior in the rat: what does it mean? *Ann N Y Acad Sci*. 1969;159(3):852-9.
 17. Birke LIA, Archer J. Some issues and problems in the study of animal exploration. In: Birke LIA, Archer J, editors. *Exploration in animals and humans*. Cambridge: University Press; 1983. p.279.
 18. Oliveira APR. Avaliação clínico-comportamental e histopatológica do encefalo de Gerbils submetidos à isquemia cerebral experimental induzida por oclusão permanente da artéria carótida [dissertação]. Franca: Universidade de Franca; 2005.
 19. Silva MG, Castro AA, Ramos EAG, Peixoto E, Miranda Jr F, Pitta GBB et al. Estudo histológico e bioquímico sérico do alfa-tocoferol na lesão de isquemia e reperfusão em membros pélvicos de ratos. *Acta Cir Bras*. 2005;20(5):375-81.
 20. Kerrigan CL, Stotland MA. Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery*. 1993;14(3):165-75.
 21. Webster RS, Montero EFS, Fagundes DJ, Zettler CG, Coiro J. O papel do condicionamento isquêmico na lesão de isquemia e reperfusão do músculo grácil de ratos. *Acta Cir Bras*. 2006;21(2):80-6.
 22. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg*. 2002;10(6):620-30.
 23. Badhwar A, Dungey AA, Harris KA, Scott JA, McCarter SD, Scott JR, et al. Limitations of ischemic tolerance in oxidative skeletal muscle: perfusion vs tissue protection. *J Surg Res*. 2003;109(1):62-7.
 24. Murthy G, Kahan NJ, Hargens AR, Rempel DM. Forearm muscle oxygenation decreases with low levels of voluntary contraction. *J Orthop Res*. 1997;15(4):507-11.
 25. Gazzoni M, Camelia F, Farina D. Conduction velocity of quiescent muscle fibers decreases during sustained contraction. *J Neurophysiol*. 2005;94(1):387-94.
 26. Clark B, McLaughlin RM. Physical rehabilitation in small-animal orthopedic patients. *Vet Med*. 2001;96(3):234-46.
 27. Marsolais GS, Dvorak G, Conzemius MG. Effects of postoperative rehabilitation on limb function after cranial cruciate ligament repair in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2002;220(9):1325-30.
 28. Souza SF, Mazzanti A, Raiser AG, Salbego FZ, Fonseca ET, Festugatto R, et al. Reabilitação em cães submetidos a artroplastia do joelho. *Ciência Rural*. 2006;36(5):1456-61.
 29. Monte-Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N. Índice funcional do ciático nas lesões por esmagamento do nervo ciático de ratos. Avaliação da reprodutibilidade do método entre examinadores. *Acta Ortop Bras*. 2006;14(3):133-6.
 30. Gaparini ALP, Barbieri CH, Mazzer N. Correlação entre diferentes métodos de avaliação funcional da marcha de ratos com lesão por esmagamento do nervo isquiático. *Acta Ortop Bras*. 2007; 15(5):285-9.
 31. Costa J, Camargo VM, André ES. Desenvolvimento de um método de baixo custo para avaliação da marcha em ratos. *Fisioter Mov*. 2008;21(2):115-23.
 32. Sachs BD. The development of grooming and its expression in adult animals. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;525:1-17.
 33. Berntson GG, Jang JF, Ronca AE. Brainstem systems and grooming behaviors. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;525:350-62.
 34. Blakley G, Pohorecky LA. Psychosocial stress alters ethanol's effect on open field behaviors. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;84(1):51-61.
 35. Eichenbaum H. The hippocampus and mechanisms of declarative memory. *Behav Brain Res*. 1999;103(2):123-33.
 36. Varty GB, Paulus MP, Braff DL, Geyer MA. Environmental enrichment and isolation rearing in the rat: effects on locomotor behavior and startle response plasticity. *Biol Psychiatry*. 2000;47(10):864-73.
 37. Perry MO. Compartment syndromes and reperfusion injury. *Surg Clin North Am*. 1988;68(4):853-64.
 38. Quinones BWJ, Saleh S. Acute arterial occlusion. *J Vasc Surg*. 1991;33:578-93.