

# Efeito da natação na regeneração do nervo ciático após neurotome experimental.

*Effect of swimming in sciatic nerve regeneration after experimental neurotmesis.*

Deniele Bezerra Lós<sup>1</sup>; Ivson Bezerra da Silva<sup>2</sup>; Kamilla Dinah Santos de Lira<sup>3</sup>; Rodrigo Frago de Andrade<sup>4</sup>; Sílvia Regina Arruda de Moraes<sup>5\*</sup>;

## RESUMO

**Introdução:** Lesões em nervos periféricos podem comprometer irreversivelmente a funcionalidade do membro acometido. **Objetivo:** Avaliar o efeito da natação sobre a regeneração do nervo ciático após lesão por neurotome experimental. **Metodologia:** Foram utilizados 14 ratos machos (*Wistar*) divididos em Grupo Controle (GC, n=4), Grupo Lesão Sem Natação (GLSN, n=5) e Grupo Lesão Natação (GLN, n=5). Completados 60 dias, o grupo GLN foi adaptado ao meio aquático, durante 5 dias, em tempo crescente de atividade na água. Os grupos GLN e GLSN foram submetidos à neurotome do nervo ciático da pata direita. Transcorridas 48 horas após a lesão, o grupo GLN foi submetido a um protocolo de natação com duração de 30 minutos, 5 vezes por semana, durante 28 dias. Obedecendo ao mesmo período de tempo, o grupo GLSN foi submetido a um estresse aquático. Aos 120 dias de vida, foi realizada, em todos os animais, a coleta do nervo ciático para análise histomorfométrica. A análise estatística foi realizada através do teste ANOVA e o pós-teste de Tukey expresso em média  $\pm$  desvio padrão, utilizando nível de significância de 5%. **Resultados:** Foi verificado um número equivalente de fibras mielínicas no GLN e GLSN, porém inferiores ao GC. Houve aumento no número de vasos neoformados no GLN, em relação ao GC e ao GLSN. **Conclusão:** O protocolo de natação utilizado neste estudo promoveu um aumento na neovascularização do nervo em animais lesionados, sem comprometer o processo regenerativo.

**Descritores:** Traumatismos dos Nervos Periféricos, *Vasa Nervorum*, Nervo Ciático, Sistema Nervoso Periférico, Regeneração Nervosa.

## ABSTRACT

**Introduction:** Injuries in peripheral nerves can irreversibly impair the functionality of the affected limb. **Objective:** To evaluate the effect of swimming in water on the sciatic nerve regeneration after injury by neurotmesis. **Methodology:** It was used 14 male rats (*Wistar*) separated in Control Group (GC, n = 4), Group Swimming without Injury (GLSN, n = 5), Swimming Injury Group (GLN, n = 5). After 60 days, the GLN was adapted to the water for 5 days, increasing time of activity in the water. GLN and GLSN underwent neurotmesis sciatic nerve of the right foot. After 48 hours on the injury, the GLN was subjected to a protocol of swimming lasting 30 minutes, 5 times a week, for 28 days. At the same time, the GLSN was underwent to water stress. After 120 days, was performed in all animals, the collection of the sciatic nerve for histomorphometric analysis. Statistical analysis was performed using the ANOVA and Tukey's post-hoc test expressed as mean  $\pm$  standard deviation, using 5% level of significance. **Results:** Was identify an equivalent number of myelin fibers in the GLN and GLSN, but lower than the GC. There was an increase in the number of newly formed vessels in GLN, compared to the GC and the GLSN. **Conclusion:** The exercise protocol used in this study suggests an increase in neovascularization in the nerve injured of the animals without compromising the regenerative process.

**Key words:** Peripheral Nerve Injury, *Vasa Nervorum*, Sciatic Nerve, Peripheral Nervous System, Nerve Regeneration.

<sup>1</sup>Fisioterapeuta; Doutoranda pelo Programa de Biotecnologia/RENORBIO-UFPE, Recife. <sup>2</sup>Fisioterapeuta; Doutor pelo Programa de Ciências Morfofuncionais-USP. <sup>3</sup>Prof. Adjunto do Departamento de Fisioterapia-UFC, Ceará; <sup>4</sup>Doutor em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento – UFPE. <sup>5</sup>Prof<sup>a</sup>. Associada do Departamento de Anatomia-UFPE; Doutora em Ciências Morfofuncionais – USP.

\* Autor correspondente: e-mail: sramoraes@gmail.com

## INTRODUÇÃO

A regeneração nervosa periférica é um assunto de bastante interesse no meio científico em virtude dos distúrbios motores e sensitivos decorrentes do acometimento desta estrutura. As lesões dos nervos periféricos repercutem negativamente na realização das atividades de vida diária de um indivíduo, ocasionando transtornos que podem comprometer também as atividades laborais do mesmo, gerando custos à sociedade (1).

Assim, tanto o ambiente que envolve o nervo lesionado quanto os métodos que potencializem a regeneração, quando aplicados em tempo hábil, podem ser determinantes para o crescimento axonal, reduzindo a perda funcional do músculo desnervado (2,3).

Uma forma de reparo cirúrgico que vem sendo utilizada em estudos experimentais de secção nervosa completa é a técnica de tubulização (4,5). Esta consiste na aproximação dos cotos do nervo periférico seccionado, podendo ser otimizada pela adição de fatores neurotróficos dentro do tubo, maximizando o processo regenerativo (4,6).

Além dos procedimentos cirúrgicos, buscas contínuas têm sido realizadas na tentativa de encontrar meios não invasivos que maximizem o processo regenerativo do nervo periférico, dentre eles a realização de exercício aquático (7,8).

Entretanto, ainda são muito escassos os estudos acerca da utilização do meio aquático no tratamento de lesão nervosa periférica e, mesmo estes, utilizam protocolos de exercício físico diferentes, chegando a resultados divergentes, o que torna difícil concluir sobre a eficácia da utilização de exercício na água durante o processo de regeneração nervosa (9–11).

Outro aspecto a ser destacado é que grande parte dos estudos analisaram o efeito do exercício aquático sobre a regeneração do nervo em lesão por esmagamento (12,13) e os estudos que

avaliaram a associação de neurotinese e exercício, apenas investigaram os resultados obtidos sobre a musculatura desnervada, não avaliando, portanto, os resultados dessa intervenção na estrutura nervosa lesionada (3).

Tendo em vista a carência e divergências das informações sobre o tema, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito do exercício aquático na fase aguda da regeneração do nervo periférico após lesão por neurotinese.

## METODOLOGIA

A amostra foi constituída por 14 ratos albinos, da linhagem *Wistar*, provenientes da colônia de criação do biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Os animais foram alojados em gaiolas plásticas de propileno (49 x 34 x 16 cm) e mantidos no biotério de experimentação do Departamento de Anatomia da UFPE, sob temperatura de  $23 \pm 2^\circ \text{C}$ , com ciclo invertido de luz (19 às 7 h) e escuridão (7 às 19 h), com livre acesso à ração e água filtrada.

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco (Ofício nº 359/11 – Processo nº 23076.048891/2010-87).

### Grupos Experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais: Grupo Controle (GC, n=4), que corresponde ao grupo que não sofreu nenhuma intervenção cirúrgica ou exercício de natação; Grupo Lesão Sem Natação (GLSN, n=5), composto por animais que sofreram lesão nervosa periférica e tiveram apenas o contato com uma pequena lâmina de água para reproduzir o estresse da água; Grupo Lesão-Natação (GLN, n=5), composto por animais que após sofrerem lesão nervosa periférica, foram submetidos à prática de exercício de nado livre.

### **Procedimento Cirúrgico**

Ao atingirem a idade de 60 dias, os animais foram pré-anestesiados com atropina (0,044 mg/Kg), 10 minutos antes de serem anestesiados com uma solução de xilazina a 2% (Rompun® – Bayer) e quetamina (Ketalar®) na proporção de 1:1, por via intramuscular, em uma quantidade de 0,2 ml da solução para cada 100 g de peso do animal. Em seguida, realizou-se uma incisão cutânea na região posterior da coxa para que os músculos glúteos máximo e médio e os isquiotibiais pudessem ser rebatidos, expondo o nervo ciático. A lesão nervosa realizada ocorreu a uma distância de 1 cm proximal à bifurcação do nervo. O defeito foi imediatamente reconstituído com um tubo de polietileno (comprimento médio: 9 mm e diâmetro médio: 2,3 mm) preenchido com solução de matrigel (Matrigel™ BD Bioscience) (33%) e salina, ficando os cotos neurais separados por uma distância de 5 mm. O epineuro foi suturado a um ponto situado a 2 mm de distância da extremidade do tubo. As extremidades do nervo foram completamente introduzidas no interior do lúmen do tubo a fim de produzir um compartimento fechado (14).

### **Protocolo de Natação**

Este estudo adotou o protocolo de Nunes e Mello (3), com modificação no tempo de realização do exercício, que teve duração de 30 minutos e realização de estresse aquático nos animais grupo controle. Os animais do GLN passaram por um período de adaptação ao meio aquático durante cinco dias, antes da intervenção cirúrgica. Nos três primeiros dias, os animais nadaram por 10, 20 e 30 minutos, respectivamente, mantendo uma duração de 30 minutos nos dois dias restantes.

Transcorridas 48 horas após a lesão experimental, os animais do GLN foram colocados em um tanque com dimensões de 60 x 50 x 40 cm (Comprimento x Diâmetro x Profundidade), contendo uma coluna de 30 cm de água aquecida em temperatura de  $32 \pm 1^\circ\text{C}$ , controlada por

um termostato, nadando por 30 minutos ao dia, 5 vezes por semana, ao longo de 60 dias.

Os animais do GLSN foram colocados em contato com uma pequena coluna de água (5cm), o suficiente para deixar as patas em contato com a água, promovendo o estresse aquático, pelo mesmo período de tempo que o GLN foi submetido.

Após esses procedimentos, os animais do GLN e GLSN foram parcialmente enxugados com toalha de algodão seca e transferidos para uma câmara de aquecimento para secagem dos pelos antes de retornarem ao biotério. Os animais do GC permaneceram todo o tempo do experimento em suas gaiolas.

### **Processamento e Análise dos Dados**

Os animais foram anestesiados sessenta dias após a lesão nervosa, seguindo os mesmos padrões utilizados no procedimento cirúrgico inicial, e foi realizada a coleta do fragmento nervoso neoformado, presente no interior do tubo de polietileno.

O fragmento do nervo ciático foi pré-fixado por gotejamento de 1 ml de solução Karnowsky (glutaldeído 2,5%, paraformaldeído 4% e 0,1 M tampão cacodilato de sódio, pH = 7,4) 1 minuto antes da coleta do nervo e pós-fixado com tetróxido de ósmio 1%.

O material foi processado e emblocado em resina Epóxi. Foram realizados cortes histológicos semi-finos (0,5  $\mu\text{m}$  de espessura), transversais ao comprimento do fragmento nervoso e corados com solução de azul de toluidina 1% para a análise histomorfométrica.

Os cortes foram analisados através de um microscópio óptico (Olympus – BX50, aumento de 1000x) conectado a uma vídeo-câmera (Samsung – SHC-410 NAD) e a um computador contendo o software TV Tuner Application para captura das imagens. Foram utilizados os programas Mesurim Pro 0.8 para contagem do número de fibras e vasos sanguíneos e

ImageJ para mensuração dos diâmetros das fibras mielínicas e dos diâmetros axonais para, em seguida, ser calculada indiretamente a variável espessura da bainha de mielina.

### Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada através do programa PASW Statistics 18, utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade das variáveis em estudo. Em seguida, foi utilizado o teste de ANOVA *oneway* e o pós-teste de Tukey para verificar entre quais amostras houve diferença. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão, utilizando nível de significância de 5%.

### RESULTADOS

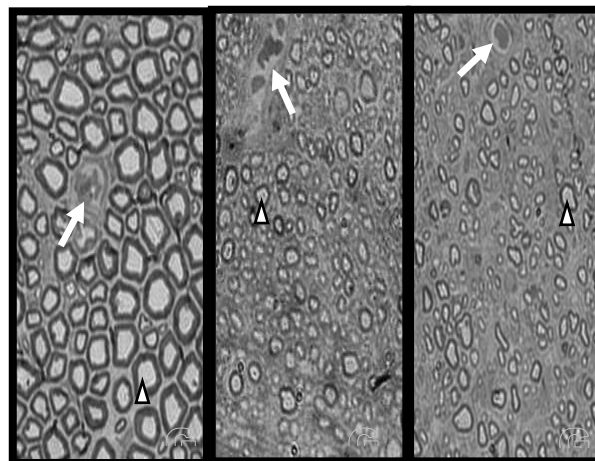
Foi observado na coleta, em todos os animais dos GLSN e GLN, a presença de um fragmento regenerado unindo novamente os cotos proximal e distal do nervo ciático transecionado, no interior do tubo guia de polietileno. Assim, nos três grupos estudados, as fibras nervosas demonstram uma disposição uniforme e direcionadas em um único sentido ao corte transversal (Figura 1).

**Tabela 1.** Quantificação das fibras mielínicas e *vasa nervorum* nos diferentes grupos experimentais apresentados em valores médios  $\pm$  desvio padrão.

Grupo Experimental	Fibras mielínicas	Vasos sanguíneos	Ø axonal (µm)	Ø das fibras (µm)	Espessura da mielina (µm)
GC	8370 $\pm$ 701	53 $\pm$ 11	4.54 $\pm$ 1.42	7.44 $\pm$ 1.39	1.45 $\pm$ 0.22
GLSN	5820 $\pm$ 712 <sup>a</sup>	47 $\pm$ 6	2.96 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	4.16 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	0.60 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
GLN	5512 $\pm$ 575 <sup>a</sup>	74 $\pm$ 10 <sup>a,b</sup>	3.35 $\pm$ 0.31	4.75 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>	0.70 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>

Ø = Diâmetro; GC = Grupo Controle; GLSN = Grupo Lesão Sem Natação; GLN = Grupo Lesão Natação. <sup>a</sup>Difere do GC, <sup>b</sup>Difere do GLSN. Valores expressos em média  $\pm$  desvio-padrão, utilizando o Anova, pós-teste Tukey,  $p < 0,05$ .

Por outro lado, com relação a quantificação dos vasos sanguíneos intraneurais, em cada grupo experimental, foi verificado que o grupo GLN teve uma angiogênese potencializada, apresentando valor médio do número absoluto de *vasa nervorum* superior ao encontrado no GC e também no GLSN.



**Figura 1.** Fotomicrografia de fibras mielínicas (cabeça de seta) e vasos (seta) do nervo ciático: GC (Grupo Controle), GLN (Grupo Lesão Natação) e GLSN (Grupo Lesão Sem Natação). Cortes transversais semi-finos (0,5 µm). Coloração: Azul de Toluidina, 400x.

A análise histomorfométrica revelou que o padrão de regeneração das fibras mielínicas foi similar entre os animais dos dois grupos submetidos à secção total do nervo ciático (GLSN e GLN), apresentando menores diâmetros das fibras mielínicas ( $p < 0,01$ ) e espessura da bainha de mielina em relação ao GC ( $p < 0,01$ ). Contudo, o GLSN apresentou menor dimensão no parâmetro diâmetro axonal em relação ao controle, enquanto que o GLN teve valores similares ao GC. (Tabela 1).

Enquanto que o grupo lesionado que não foi submetido ao protocolo de natação não teve aumento na formação angiogênica, apresentando quantitativo de *vasa nervorum* semelhante ao GC (Tabela 1).

### DISCUSSÃO

A neurotmeze é a injúria traumática mais severa que pode ocorrer ao sistema

nervoso periférico. Além da lesão por descontinuidade, o nervo sofre uma perturbação fisiológica, impossibilitando que ocorra uma regeneração espontânea suficiente para restaurar a função do membro desnervado (8,15).

Dessa forma, o reparo cirúrgico torna-se uma prática indispensável para esse tipo de lesão, assim como a utilização de recursos terapêuticos concomitante ao período de reparação do tecido nervoso (8,16). Entretanto, a prática clínica da fisioterapia carece de um consenso sobre os efeitos e benefícios da hidroterapia no período pós-operatório, a fim de potencializar a regeneração ou minimizar complicações como edema, atrofia muscular, neuromas, comprometimento circulatório, perda de mobilidade articular e de força muscular (7,8,16,17).

Já foi constatado experimentalmente que o exercício de natação sem sobrecarga evita danos à bainha de mielina, servindo como prevenção ou tratamento de comprometimento nervoso por diabetes, promovendo aumento da espessura da bainha de mielina em nervo periférico (18).

Na lesão nervosa traumática, é essencial que o período de reinervação esteja associado à reabilitação sensório-motora do membro acometido e, nesse sentido, a terapia em meio aquático pode ser um bom coadjuvante nesse processo, por se valer dos efeitos da água aquecida para reduzir contraturas articulares e eliminar os efeitos da gravidade durante a fase inicial da recuperação motora (16).

A realização de intervenção na fase aguda e tardia da regeneração pós-axonotmese, com exercícios de nado livre, demonstrou não haver diferença na resposta regenerativa, independente do período em que foi iniciado o exercício (9). Entretanto, não há relatos na literatura sobre os resultados desse tipo de intervenção na regeneração da lesão nervosa completa.

No presente estudo utilizando-se um modelo de lesão por neurotmese, o

exercício físico de natação, aplicado imediatamente após a tubulização dos fragmentos nervosos (3), também não interferiu negativamente no processo de regeneração axonal, uma vez que não foram observadas diferenças no número de fibras regeneradas para os dois grupos lesionados, associado ou não à natação, nem tampouco desorganização na disposição das fibras no interior do nervo.

Utilizando um protocolo semelhante de exercício em meio aquático, outro estudo de lesão nervosa por esmagamento do nervo ciático, verificou que a natação proporcionou um efeito positivo na recuperação do diâmetro dos axônios, não sendo observado o mesmo efeito para o diâmetro das fibras nervosas e espessura da bainha de mielina (13). Considerando que o nosso estudo investiga uma lesão nervosa mais severa, verificamos que mesmo assim, o axônio regenerou de forma satisfatória com o exercício aquático, diferentemente do grupo lesionado sem esta intervenção.

Nunes e Mello (3), cujo protocolo de exercício foi adotado nesse estudo, embora tenham realizado lesão nervosa experimental por neurotmese, não analisaram a estrutura nervosa e sim a musculatura desnervada, de forma que, nos animais submetidos ao exercício aquático, foi observado melhora no aporte e utilização de glicose pela musculatura desnervada, bem como sua resposta a insulina. Associando estes aos achados do nosso estudo, podemos considerar o benefício à musculatura desnervada proporcionado pelo natação, sem comprometer o processo de regeneração das fibras nervosas.

Há, contudo, uma grande escassez de trabalhos que analisem os efeitos do exercício aquático na regeneração de lesão completa de nervo periférico, de modo que os nossos resultados não puderam ser confrontados com os de estudos semelhantes, revelando a importância de se realizar novas pesquisas acerca dos mecanismos de recuperação dessa injúria

que é classificada como sendo a mais severa ao tecido nervoso periférico (8,16).

Neste estudo, não foi possível determinar se a natação promoveu maturação axonal no segmento comprometido, contudo, as imagens dos fragmentos nervosos regenerados demonstraram disposição unidirecional das fibras nervosas no interior do nervo, indicando que os animais dos grupos GLN e GLSN tiveram crescimento axonal bem orientado, provavelmente em decorrência da atuação de fatores neurotróficos, imprescindível para o retorno da condução nervosa (16), sugerindo que a prática de natação nesse estágio da regeneração não desfavoreceu a reestruturação do tecido nervoso.

O processo regenerativo segue uma programação de ações coordenadas, imediatamente após a injúria. O crescimento do novo broto axonal deve ocorrer através dos troncos nervosos degenerados, até atingir o segmento distal do nervo. Contudo, para que isso ocorra, é necessário um microambiente favorável para suprir a demanda metabólica e dar suporte adequado ao grande número de axônios regenerados. Por esse motivo, as etapas desse processo são diretamente dependentes da microcirculação nervosa, conhecida como *vasa nervorum* (19).

Foi verificado por Pachioni e cols. (20), em lesão por axoniotmese, que a intensidade de lesão dos vasos intraneurais e a formação de hematoma endoneural são diretamente relacionadas ao aumento da carga de esmagamento neural, fator este que pode interferir no processo regenerativo.

O estado isquêmico iniciado a partir de uma lesão promove a liberação de fatores angiogênicos, que irão conduzir a angiogênese de modo proporcional ao bloqueio da perfusão (21). É possível que o exercício aquático realizado neste estudo tenha estimulado a liberação de fatores angiogênicos, desencadeando o aumento neovascular verificado no segmento regenerado.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo sugerem que a intervenção precoce em meio aquático, após reparo cirúrgico de uma lesão nervosa periférica completa, não compromete o processo regenerativo das fibras nervosas e estimula a neovascularização fisiológica da *vasa nervorum*.

## REFERÊNCIAS

1. Mendes RM, Arnaut AC, Barbosa RI, Elui VMC, Fonseca MDCR. Efeitos de um protocolo de reeducação sensorial da mão: estudo de caso. *Fisioter e Pesqui.* 2008;15(4):397–401.
2. Ilha J, Araujo RT, Malysz T, Hermel EES, Rigon P, Xavier LL, et al. Endurance and resistance exercise training programs elicit specific effects on sciatic nerve regeneration after experimental traumatic lesion in rats. *Neurorehabil Neural Repair.* 2008;22(4):355–66.
3. Nunes WMS, Mello AMR de. Metabolismo glicídico em ratos submetidos à desnervação do músculo esquelético e ao exercício de natação. *Rev Bras Med do Esporte.* 2009;15(1):42–5.
4. Cartarozzi L, Spejo A, Ferreira RJ, Barraviera B, Duek E, Carvalho J, et al. Mesenchymal stem cells engrafted in a fibrin scaffold stimulate Schwann cell reactivity and axonal regeneration following sciatic nerve tubulization. *Brain Res Bull.* 2015;Mar.(112):14–24.
5. Zhang P, An S, Wang G, Wang Y, Chen B, Wang Z, et al. Pain assessment of biological conduit small gap tubulization in rat sciatic nerve multilumen model. *J Peking Univ Hear Sci.* 2013;45(5):675–8.
6. Sénès FM, Catena N, Sénès J. Use of tubulization (nerve conduits) in repairing nerve defects in children. *Indian J Orthop.* 2013;49(5):554–60.
7. Bond TJ, Lundy J. Physical therapy following peripheral nerve surgeries.

8. Clin Podiatr Med Surg. 2006 Jul;23(3):651–66.
9. Siqueira R. Lesões nervosas periféricas: uma revisão. Rev Neurociências. 2007;15(3):226–33.
10. Teodori RM, Betini J, Oliveira LS De, Sobral LL, Yoko S, Takeda M, et al. Swimming exercise in the acute or late phase after sciatic nerve crush accelerates nerve regeneration. Neural Plast. 2011 Jan;21:1–8.
11. Possamai F, Siepko CM, André ES. Investigação dos efeitos do exercício terapêutico sobre a regeneração nervosa periférica. Acta Fisiátrica. 2010;17(4):142–7.
12. Chen Y-W, Li Y-T, Chen YC, Li Z-Y, Hung C-H. Exercise training attenuates neuropathic pain and cytokine expression after chronic constriction injury of rat sciatic nerve. Anesth Analg. 2012 Jun;114(6):1330–7.
13. Santos TS dos, André ÉS. Avaliação funcional da marcha do rato após estimulação elétrica do músculo gastrocnêmio desnervado. Rev Neurociências. 2007;15(2):120–4.
14. Oliveira LS, Sobral LL, Takeda SYM, Betini J, Guirro RRJ, Somazz MC, et al. Estimulación eléctrica y natación en la fase aguda de la axonotmesis: influencia sobre la regeneración nerviosa y la recuperación funcional. Rev Neurol. 2008;47(1):11–5.
15. Braga-Silva J, Gehlen D, Roman JA, Menta C, Atkinson E de A, Machado DC, et al. Efeitos das células tronco adultas de medula óssea e do plasma rico em plaquetas na regeneração e recuperação funcional nervosa em um modelo de defeito agudo em nervo periférico em rato. ACTA Ortopédica Bras. 2006;14(5):273–5.
16. Campbell WW. Evaluation and management of peripheral nerve injury. Clin Neurophysiol. 2008;119(9):1951–65.
17. Lee SK, Wolfe SW. Peripheral Nerve Injury and Repair. J Am Acad Orthop Surg. 2000;8(4):243–52.
18. English AW, Schwartz G, Meador W, Sabatier MJ. Electrical Stimulation Promotes Peripheral Axon Regeneration By Enhanced Neuronal Neurotrophin Signaling. Dev Neurobiol. 2007;67(2):158–72.
19. Selagzi H, Buyukakilli B, Cimen B, Yilmaz N, Erdogan S. Protective and therapeutic effects of swimming exercise training on diabetic peripheral neuropathy of streptozotocin-induced diabetic rats. J Endocrinol Investig. 2008;31(11):971–8.
20. Mizisin AP, Weerasuriya A. Homeostatic regulation of the endoneurial microenvironment during development, aging and in response to trauma, disease and toxic insult. Acta Neuropathol. 2011 Mar;121(3):291–312.
21. Sassoli P, Carlos F, Padovani R, Alberto C, Carlos M, Silva A, et al. Lesão por esmagamento no nervo isquiático de ratos: estudo da vascularização. ACTA Ortopédica Bras. 2006;14(4):203–7.
22. Nukada H. Post-traumatic endoneurial neovascularization and nerve regeneration: a morphometric study. Brain Res. 1988 May 24;449(1-2):89–96.

## AGRADECIMENTOS

À prestatividade e disponibilidade de todos do Laboratório de Microscopia do Centro de Tecnologia Estratégicas do Nordeste (CETENE) e do Departamento de Cirurgia Experimental – UFPE.