

Natação e aspectos morfológicos do músculo esquelético em processo de reparo após criolesão

Swimming and morphology of skeletal muscle repair process after cryoinjury

Paulo Roberto Dantas Pestana¹, Kristianne Porta Santos Fernandes², Caio Sain Vallio³, Dayanne Aparecida Mesquita Rocha¹, Manoela Domingues Martins⁴, Sandra Kalil Bussadori², Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari²

Estudo desenvolvido na Universidade Nove de Julho (UNINOVE), Programa de Mestrado em Ciências da Reabilitação – São Paulo (SP), Brasil.

¹ Mestrando em Ciências da Reabilitação da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) – São Paulo (SP), Brasil.

² Doutora; professora do mestrado em Ciências da Reabilitação da UNINOVE – São Paulo (SP), Brasil.

³ Graduando em Fisioterapia da UNINOVE – São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Doutora; professora do Departamento de Odontologia Conservadora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Porto Alegre (RS), Brasil.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Raquel Agnelli Mesquita Ferrari – Rua Vergueiro, 235 – CEP 01504-001 – São Paulo (SP), Brasil – E-mail: raquel.mesquita@gmail.com

APRESENTAÇÃO nov. 2010

ACEITO PARA PUBLICAÇÃO ago. 2011

FONTE DE FINANCIAMENTO
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2009/52248-0)

CONFLITO DE INTERESSES nada a declarar

Parecer de aprovação no Comitê de Ética nº 013/2009.

RESUMO: O objetivo do estudo foi investigar a influência da natação sobre as alterações morfológicas do músculo esquelético em processo de reparo após criolesão. Foram usados 45 ratos divididos em cinco grupos: controle (n=5); *sham* (n=5), adaptação (n=5), criolesionados e tratados com natação sacrificados após 7, 14 e 21 dias (n=15); criolesionados e sem tratamento aquático sacrificados após 7, 14 e 21 dias (n=15). As sessões de natação foram realizadas 6 vezes por semana com 90 min de duração cada. Ao término do protocolo os animais foram sacrificados e a análise morfológica da área da lesão foi realizada. A análise morfológica semiquantitativa demonstrou que os músculos do grupo controle apresentaram aspecto histológico normal. O grupo *sham* apresentou edema, mionecrose e infiltrado inflamatório em grau 1. Nos grupos 7, 14 e 21 dias, não existiram diferenças estatisticamente significativas nas 4 etapas de remodelamento tecidual avaliadas (infiltrado inflamatório, edema, necrose e fibras musculares imaturas) entre os grupos lesionados quando comparados aos grupos com lesão e tratamento aquático. Em conclusão, foi possível verificar que a natação não causou alterações morfológicas durante o reparo do músculo esquelético após criolesão.

PALAVRAS-CHAVE: regeneração; músculo esquelético; regeneração; natação; /lesões.

ABSTRACT: The aim of study was investigate the influence of swimming on the morphological changes in skeletal muscle repair process following cryoinjury. There were used 45 rats divided into 5 groups: control (n=5), sham (n=5), adaptation (n=5), cryolesioned treated with swimming and sacrificed after 7, 14 and 21 days (n=15), untreated and cryolesioned sacrificed after 7, 14, and 21 days (n=15). Animals swam for 90 min/ each session and 6 times a week. At the end of the protocol, the animals were sacrificed and morphological analysis of the lesion area was performed. The semi-quantitative morphological analysis showed that the muscles in the control group exhibited normal histological aspects while the sham group exhibited edema, myonecrosis and inflammatory infiltrate grade 1. In groups 7, 14, and 21 days, the results indicated that there were no statistically significant differences in four stages of tissue remodeling evaluated (inflammatory infiltration, edema, necrosis, and immature muscle fibers) between the injured groups compared to groups with lesion and treated with swimming. In conclusion, it was verified that swimming did not alter morphological aspects of skeletal muscle during the repair process following cryoinjury.

KEYWORDS: regeneration; skeletal muscle; regeneration; swimming; /injuries.

INTRODUÇÃO

Em circunstâncias normais, o músculo esquelético é um tecido estável com baixo *turnover*, ou seja, baixo remodelamento sem alterações drásticas em suas características fenotípicas. Porém, este tecido tem a capacidade de adaptação frente a estímulos variados tais como atividade contrátil, danos diretos (laceração, contusão e estiramento) e indiretos (isquemia e disfunção neurológica), tudo para favorecer toda a mecânica funcional do corpo humano. A essa capacidade denomina-se plasticidade¹⁻⁷.

Após uma lesão, o músculo inicia um processo de reparo altamente organizado de forma a prevenir a perda de massa muscular. Este processo é semelhante à miogênese, porém, as células que participam inicialmente são as células satélites, ao invés das progenitoras miogênicas^{1,8}. A miogênese envolve a ativação de células mononucleadas progenitoras que se diferenciam em mioblastos e, por sua vez, fundem-se formando os pequenos miotubos e posteriormente, outros mioblastos fundem-se a esses miotubos, formando miotubos maiores e mais maduros. Por fim, esses miotubos maduros diferenciam-se para constituir uma nova fibra ou reparar uma preexistente⁹.

Há grande preocupação em proporcionar um processo de reparo muscular mais rápido e de melhor qualidade especialmente em situações como lesões em atletas, transplantes, distrofias musculares, atrofia por desuso entre outras⁴. Vários tipos e modelos de lesão têm sido propostos para examinar os mecanismos de regeneração do músculo esquelético e dentre eles podem ser citados contusão, criolesão, uso de substâncias químicas e de venenos¹⁰⁻¹². O modelo de criolesão tem a capacidade de induzir injúria e subsequente regeneração em uma área delimitada do ventre muscular, além de ocasionar uma lesão limpa e de fácil reprodutibilidade¹³.

Uma modalidade terapêutica muito utilizada na reabilitação de disfunções musculoesqueléticas e que vem demonstrando resultados positivos no tratamento e na prevenção de várias doenças é o exercício aquático. Os efeitos da terapia em piscina são variados e dependem de fatores como a temperatura da água, da

duração do tratamento, do tipo e intensidade do exercício e da necessidade específica de cada indivíduo¹⁴.

O exercício em piscina mostrou proporcionar benefícios aos sistemas muscular, esquelético, nervoso e cardiovascular. A terapia em água aquecida possui diversos efeitos fisiológicos que podem promover incremento ao processo de reparo tecidual e dentre estes efeitos podem ser citados: o aumento da circulação periférica e consequente aumento no suprimento de oxigênio e nutrientes ao músculo ativo, aumento no retorno sanguíneo, redução de edemas pela ação da pressão hidrostática e redução da sensibilidade dos terminais nervosos que somadas com todas as outras causam um relaxamento muscular geral¹⁵.

Apesar de a terapia aquática ser muito utilizada na prática clínica, há necessidade do estabelecimento de protocolos controlados, bem como a análise mais específica dos reais efeitos desta durante o processo de reparo muscular¹⁶.

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da natação, especialmente de seus efeitos fisiológicos, sobre o processo inflamatório e a regeneração do músculo esquelético após criolesão.

METODOLOGIA

A metodologia empregada foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) (AN 0013/2009). Foram utilizados 45 ratos *Wistar*, peso médio de 200 g, mantidos no biotério da UNINOVE, em caixas plásticas apropriadas, temperatura ambiente (32°C) e luminosidade controlada com ciclo de 12 horas, com comida e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em 5 grupos: controle (n=5); *sham* (n=5) apenas submetido à incisão e exposição do músculo tibial anterior; adaptação, que realizou apenas a adaptação ao protocolo (n=5); criolesionados e submetidos à natação, sacrificados após 7, 14 e 21 dias (n=15); criolesionado e sem tratamento aquático, sacrificados após 7, 14 e 21 dias (n=15).

Procedimento de criolesão

Os animais foram anestesiados com injeção intramuscular de uma mistura

de quetamina (0,2 mL/100 g do animal) e de xilazina (0,1 mL/100 g do animal). A criolesão no músculo tibial anterior (TA) foi realizada de acordo com Myabara et al.¹³ sendo TA exposto cirurgicamente, a fáscia cuidadosamente removida por afastamento e a lesão causada pelo contato de um bastão metálico de extremidade plana (0,4 x 0,4 cm) resfriado em nitrogênio líquido diretamente no ventre muscular do TA, por duas vezes (duração de 10 segundos cada, no mesmo local). Após o procedimento, foi realizada a sutura da área incisada utilizando-se fio de poliamida (6,0) e os animais foram mantidos em ambiente aquecido para prevenir a hipotermia.

Protocolo de terapia aquática

Os animais foram adaptados à terapia aquática, por um período de seis dias, seguindo o protocolo proposto por Takeda et al.¹⁶. No dia seguinte ao término da adaptação, foi realizado o procedimento de criolesão e os animais foram mantidos por três dias sem iniciar o protocolo de terapia aquática de forma a evitar a deiscência da cicatriz. Os animais foram submetidos ao protocolo de natação em piscinas que consistiam de compartimentos de cloreto de polivinila (PVC) individuais com 24 cm de diâmetro, com água a 50 cm de profundidade e temperatura média de 33°C. Os animais nadaram por um período de 90 min/dia, 6 vezes por semana^{16,17}, totalizando 3, 9 ou 15 sessões para os grupos 7, 14 e 21 dias, respectivamente. Durante todo o protocolo experimental, a água foi movimentada e os animais tiveram pesos fixados à cauda (até 20% do peso corporal) para evitar a flutuação e garantir, dessa forma, a realização do treinamento proposto.

Análise morfológica

Para análise histopatológica, 5 amostras de cada grupo foram resfriadas em isopentano por 10 segundos, congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer -70°C. Os músculos congelados foram cortados em seções transversais de 10 µm de espessura em criostato (Leica CM3050, Nussloch, Alemanha) e estendidos em lâminas de vidro previamente tratadas com 3-aminopropiltriétoxissilano (Sigma, Chemical CO, St Louis, MO, EUA). Para análise morfológica foi utilizada a coloração com hematoxilina

e eosina (HE) e os cortes histológicos foram avaliados por microscopia de luz (microscópio Axioplan 2, Zeiss).

A análise qualitativa dos cortes histológicos corados em HE compreendeu a descrição das etapas do remodelamento tecidual envolvendo a presença e o tipo de infiltrado inflamatório, edema, necrose e fibras musculares imaturas. As fibras musculares regeneradas se caracterizam pela presença de fibras cortadas (fendas) e com núcleo centralizado. Fibras cortadas são descritas como fibras com um ou mais fragmentos. A análise semiquantitativa consistiu na graduação dos componentes teciduais descritos acima em: ausente (grau 0), discreto (grau 1), moderado (grau 2) e intenso (grau 3) de acordo com Walker¹⁸.

Análise estatística

As comparações entre os grupos experimentais e controle foram feitas utilizando-se análise de variância ANOVA/Dunnett. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Os dados foram analisados pelo programa *GraphPadPrism 4.0* (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

RESULTADOS

Análise morfológica qualitativa

A análise morfológica permitiu verificar que os músculos do grupo controle apresentaram aspecto histológico normal com presença de fibras com núcleos periféricos, sem sinais de lesão ou processo inflamatório (Figura 1a). Esses resultados foram semelhantes aos observados no grupo natação em todos os períodos experimentais.

O grupo *sham* mostrou discreto infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, poucas células musculares degeneradas (mionecrose) e focos de edema situados em região superficial do músculo exposto cirurgicamente.

Após sete dias, os grupos criolesionado e natação criolesionado mostraram processo inflamatório, edema e mionecrose escassos associados à deposição de inúmeras fibras musculares novas e imaturas (Figura 1b).

Após 14 dias, os grupos criolesionado e natação criolesionado mostraram

aspecto morfológico do reparo semelhante com redução do edema e do infiltrado inflamatório. Reposição de toda a área criolesionada por células musculares com núcleo centralizado cortadas (separadas) indicando renovação tecidual (Figura 1c).

Aos 21 dias, os grupos criolesionado e natação criolesionado exibiram tecido muscular com aspecto morfológico normal evidenciando o reparo completo sem sinais inflamatórios e raras células com núcleo centralizado (Figura 1d).

Análise semiquantitativa

Esta análise verificou que os músculos do grupo controle apresentaram aspecto histológico normal e ausência dos aspectos infiltrado inflamatório, edema, mionecrose e presença de fibras novas e imaturas relacionados ao reparo após lesão, como esperado (Figura 2).

O grupo *sham* apresentou edema, mionecrose e infiltrado inflamatório em grau 1 enquanto a presença de fibras

novas e imaturas não foi verificada (Figura 2).

Com relação aos grupos 7, 14 e 21 dias, os resultados permitiram verificar que não existiram diferenças estatisticamente significativas nas 4 etapas de remodelamento tecidual avaliadas (infiltrado inflamatório, edema, necrose e fibras musculares imaturas) entre os grupos lesionados quando comparados aos grupos com lesão e tratamento aquático.

Após seis dias, em ambos os grupos, criolesionados sem e com a natação apresentaram um aumento no infiltrado inflamatório (grau 2), aumento da mionecrose (grau 2) e o surgimento de inúmeras fibras musculares novas e imaturas (grau 3) (Figura 2). No período de 14 dias, notou-se ausência de mionecrose, edema em grau 1 e presença de células musculares em grau 2 (Figura 2). Aos 21 dias, os músculos mostraram-se morfológicamente reparados (regenerados), somente apresentando fibras musculares novas e imaturas em ambos os grupos (Figura 2).

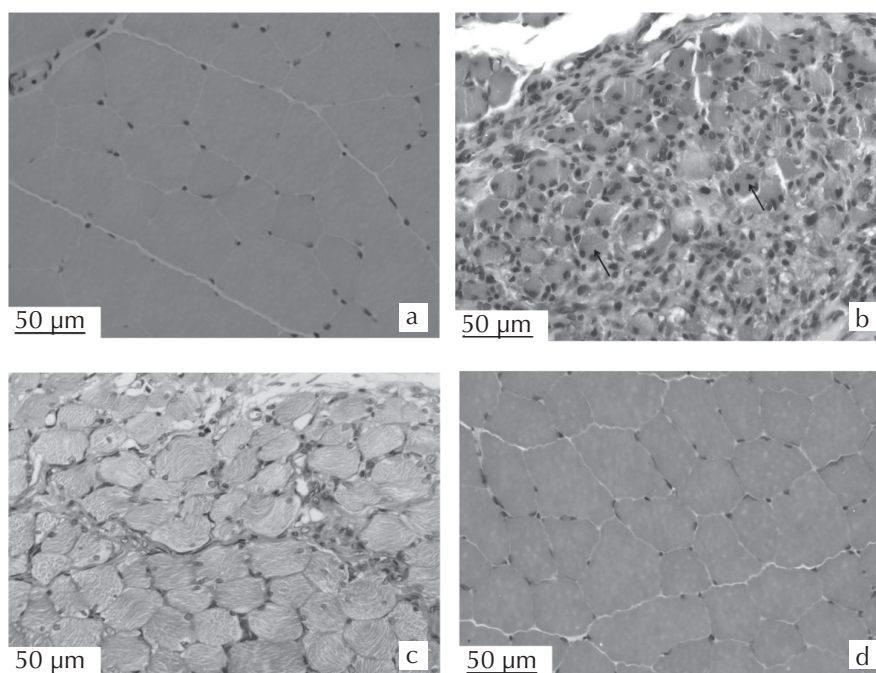


Figura 1. Fotomicrografias dos cortes histológicos de músculos corados por hematoxilina e eosina. (a) Músculo controle exibindo morfologia normal. (b) Área criolesionada após 7 dias mostrando formação de fibras imaturas (setas) (grupo criolesionado). (c) Aos 14 dias, observam-se células musculares regeneradas, porém imaturas cortadas (setas) (grupo natação). (d) Aos 21 dias, notam-se células musculares maduras, maiores, de aspecto poligonal (grupo natação)

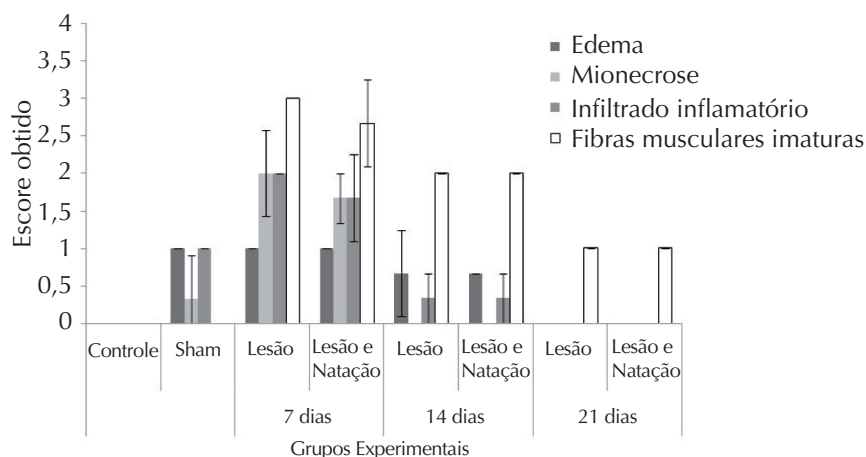


Figura 2. Análise morfológica semiquantitativa das etapas envolvidas no processo de reparo muscular após criolesão dos diferentes grupos experimentais avaliados. Grau 0: ausente; grau 1: discreto; grau 2: moderado; grau 3: intenso

DISCUSSÃO

Estudos demonstraram que, após a lesão muscular, as fibras musculares danificadas tornam-se necróticas e os fenômenos de regeneração muscular são iniciados pela infiltração de neutrófilos, além de linfócitos e macrófagos, que começam a fagocitar as miofibrilas necróticas¹⁹. As células satélites tornam-se ativas em resposta a fatores de crescimento e citocinas e demonstram uma grande capacidade proliferativa de dois a três dias após a lesão. O período de proliferação é seguido por uma fase de diferenciação, na qual os mioblastos se fundem para formar miotubos multinucleados que se fundem a miofibrilas danificadas. A fusão de mioblastos e posterior crescimento para constituir miofibrilas com núcleo centralizado resultam no restabelecimento da arquitetura muscular dentro de um período de duas a três semanas²⁰⁻²³.

Os resultados de análise morfológica do presente trabalho estão de acordo com estas fases descritas e também corroboram os achados de Myabara et al.¹³, que identificaram regeneração completa após três semanas de injúria, e de Pavesi et al.²⁴, que realizaram o mesmo protocolo de criolesão em animais para analisar os aspectos morfológicos, além da distribuição colágeno tipo IV e de metaloproteases 2 e 9 nas diferentes etapas do remodelamento muscular. Neste último estudo, foi evidenciada

a regeneração do músculo esquelético após o período de 21 dias e, além disso, somente após este período o colágeno IV alcançou a organização de forma semelhante ao músculo não agredido, tanto no endomísio quanto no perimísio.

Em adição, Baptista et al.²⁵, que utilizaram a criolesão em músculo tibial anterior de ratos tratado com laser de baixa potência (660 nm, 5 J/cm², 10 segundos), verificaram que este recurso proporcionou um aumento de colágeno tipo IV nos 7 primeiros dias, sem interferir na duração do processo de reparo, sendo a regeneração muscular também evidenciada após 21 dias, tanto no grupo tratado quanto no submetido apenas a lesão, em concordância com os presentes achados da avaliação morfológica. Verzola et al.¹⁷ utilizaram a natação para verificar a influência no remodelamento de miocárdio de ratos e evidenciaram benefícios desta terapia por meio de aumento na atividade da metaloprotease de matriz tipo 2 (MMP2). O treinamento utilizado consistia de sessões diárias com duração de 6 horas, realizadas em períodos de 3, 4 ou 5 dias consecutivos. A alteração na atividade de MMPs reflete o processo de remodelamento fisiológico ou patológico do tecido muscular, uma vez que em condições normais, as MMPs estão presentes em baixo nível e usualmente na forma latente²⁶.

Com relação à influência da terapia aquática na morfologia de músculo esquelético durante o processo de reparo, existem poucos estudos na literatura, o que reflete a necessidade de um melhor entendimento sobre os efeitos deste recurso terapêutico durante esta fase. Os resultados encontrados no presente estudo não permitiram verificar diferenças significativas nos aspectos morfológicos avaliados entre os grupos que receberam tratamento após a lesão ou os que somente sofreram a lesão, em todos os períodos analisados. Contudo, Faria et al.²⁷ utilizaram o protocolo de lesão induzida por miotoxina também no músculo tibial anterior e avaliaram o efeito da natação, em protocolos de 5 e 8 dias com sessões de 15 e 45 min respectivamente, na morfologia muscular durante o processo de reparo; os resultados encontrados permitiram concluir que houve uma melhora no processo de reparo (aumento do número de fibras musculares) nos grupos submetidos a tratamento sendo este mais evidente nos animais que realizaram as sessões de 45 min de natação. Estes achados comprovaram que os efeitos da terapia aquática foram dependentes do protocolo de terapia aquática utilizado.

Também utilizando treinamento aquático, Mesquita et al.²⁸ mostraram que este não foi capaz de promover alteração significativa na expressão de isoformas de cadeia pesada de miosina em músculo sóleo de ratos sem lesão. Entretanto, Sugiura et al.²⁹ observaram que os animais submetidos ao treinamento aquático após longo período de imobilização apresentaram uma redução de fibras do tipo 2B e um aumento de fibras 2D no músculo diafragma de ratos, evidenciando que a terapia aquática é um estímulo capaz de gerar um remodelamento muscular para melhor adaptação frente às demandas funcionais.

A influência do exercício aquático sobre reinervação de gastrocnêmios em ratos foi estudada por Herbison, Jaweed e Ditunno³⁰. Os autores verificaram que os animais que nadaram por uma ou duas horas por dia, cinco vezes por semana durante três semanas não apresentaram diferenças significativas no peso muscular, tipo de fibras e concentração total de proteínas musculares indicando que o protocolo utilizado

não acelerou o processo de reparo da inervação muscular.

Em adição, Radak et al.³¹ avaliaram o efeito do treinamento aquático realizado por 8 semanas, com frequência de 5 vezes por semana e duração de 60 min nas primeiras 4 semanas e de 120 min nas 4 semanas seguintes, em quadríceps de ratos, e verificaram um aumento na atividade da enzima 8-oxiguanina-DSNA glicosilase no músculo avaliado, sendo esta enzima relacionada ao

reparo, uma vez que oxida bases de DNA nuclear e mitocondrial. Porém, neste estudo não foi utilizado nenhum modelo de lesão e análise morfológica, o que dificulta a comparação com os resultados apresentados.

Em conclusão, foi possível verificar que a natação não foi capaz de causar alterações morfológicas que pudessem diferenciar do processo de reparo ocorrido no músculo tibial anterior após criolesão. Contudo, é necessária uma avaliação

mais específica dos efeitos de diferentes protocolos de terapias aquáticas nestes aspectos, além do estudo outros mecanismos e eventos que poderiam estar envolvidos no reparo muscular, como por exemplo, a expressão de marcadores de diferenciação, antes de descartar a importância terapêutica deste recurso na reabilitação de lesões musculares, visto que muitos achados na literatura evidenciam os benefícios desta terapia durante o processo de regeneração muscular.

REFERÊNCIAS

1. Grounds MD, White JD, Rosenthal N, Bogoyevitch MA. The role of stem cells in skeletal and cardiac muscle repair. *J Histochem Cytochem.* 2002;50:589-610.
2. Shi X, Garry DJ. Muscle stem cells in development, regeneration, and disease. *Genes Dev.* 2006;20:1692-708.
3. D'Antona G, Lanfranconi F, Pellegrino A, Brocca L, Adami R, Rossi R, et al. Skeletal muscle hypertrophy and structure and function of skeletal muscle fibers in male body builders. *J Physiol.* 2006;570(Pt 3):611-27.
4. Dogra C, Hall SL, Wedhas N, Linkhart TA, Kumar A. Fibroblast growth factor inducible-14 (Fn14) is required for the expression of myogenic regulatory factors and differentiation of myoblasts into myotubes: Evidence for TWEAK-independent functions of Fn14 during myogenesis. *J Biol Chem.* 2007;282(20):15000-10.
5. Chen X, Mao Z, Liu S, Liu H, Wang X, Wu H, et al. Dedifferentiation of adult human myoblasts induced by ciliary neurotrophic factor in vitro. *Mol Biol Cell.* 2005;16(7):3140-51.
6. Jansen KM, Pavlath GK. Mannose receptor regulates myoblast motility and muscle growth. *J Cell Biol.* 2006;174(3):403-13.
7. Piovesan RF, Martins MD, Fernandes KPS, Bussadori SK, Selistre-de-Araújo HS, Mesquita-Ferrari, RA. Uma revisão sobre a plasticidade do músculo esquelético: expressão de isoformas de cadeia pesada de miosina e correlação funcional. *Fisioter Mov.* 2009;22(2):211-20.
8. Huard J, Li Y, Fu FH. Muscle injuries and repair: current trends in research. *J Bone Joint Surg Am.* 2002;84-A(5):822-32.
9. Dominov JA, Dunn JJ, Miller JB. Bcl-2 expression identifies an early stage of myogenesis and promotes clonal expansion of muscle cells. *J Cell Biol.* 1998;142(2):537-44.
10. Cabane C, Englaro W, Yeow K, Ragno M, Dérijard B. Regulation of C2C12 myogenic terminal differentiation by MKK3/p38alpha pathway. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2003;284(3):C658-66.
11. Tannu NS, Rao VK, Chaudhary RM, Giorgianni F, Saeed AE, Gao Y, et al. Comparative proteomes of the proliferating C2C12 myoblasts and fully differentiated myotubes reveal the complexity of the skeletal muscle differentiation program. *Mol Cell Proteomics.* 2004;3(11):1065-82.
12. Cornelison DDW, Wilcox-Adelman SA, Goetinck PF, Rauvala H, Rapraeger AC, Olwin BB. Essential and separable roles for Syndecan-3 and Syndecan-4 in skeletal muscle development and regeneration. *Genes Dev.* 2004;18(18):2231-6.
13. Myabara EH, Tostes RP, Selistre-de-Araújo HS, Aoki MS, Salvini TF, Moriscot AS. Cyclosporin A attenuates skeletal muscle damage induced by crotoxin. *Toxicol.* 2004;43(1):35-42.
14. Degani, AM. Hidroterapia: os efeitos físicos, fisiológicos e terapêuticos da água. *Fisioter Mov.* 1998;11(1):91-106.
15. Medeiros A, Oliveira EM, Gianolla R, Negrão DE, Brum PC. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. *Braz J Med Bio Res.* 2004;37(12):1909-17.
16. Takeda N, Ohkubo T, Nakamura I, Suzuki H, Nagano M. Mechanical catecholamine responsiveness and myosin isoenzyme pattern of pressure-overloaded rat ventricular myocardium. *Basic Res Cardiol.* 1987;82(4):370-4.
17. Verzola RMM, Mesquita RA, Peviani S, Ramos OHP, Moriscot AS, Perez SEA, et al. Early remodeling of rat cardiac muscle induced by swimming training. *Braz J Med Biol Res.* 2006;39(5):621-7.
18. Walker RA. Quantification of immunohistochemistry-issue concerning methods utility and semiquantitative assessment I. *Histochemistry.* 2006;49:406-410.

Referências (cont.)

19. Goetsch SC, Hawke TJ, Gallardo TD, Garry DJ. Transcriptional profiling and regulation of the extracellular matrix during muscle regeneration. *Physiol Genomics*. 2003;14(3):261-71.
20. Bischoff R. The satellite cell and muscle regeneration. *Med Sci Sports Exerc*. 1989;21(5):164-72.
21. Hawke TJ, Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J Appl Physiol*. 2001;91(2):534-51.
22. Sakuma K, Nishikawa J, Nakao R, Watanabe K, Totsuka T, Nakano H, et al. Calcineurin is a potent regulator for skeletal muscle regeneration by association with NFATc1 and GATA-2. *Acta Neuropathol*. 2003;105(3):271-80.
23. Miyoshi T, Shirota T, Yamamoto S, Nakazawa K, Akai M. Effect of the walking speed to the lower limb joint angular displacements, joint moments and ground reaction forces during walking in water. *Disabil Rehabil*. 2004;26(12):724-32.
24. Pavesi VCS, Mesquita RA, Mesquita DS, Baptista J, Martins MD. Remodelamento do músculo esquelético: papel da matriz extracelular. *Terapia Manual*. 2009;8:68-75.
25. Baptista J, Martins M, Pavesi V, Bussadori S, Fernandes KPS, Pinto Jr DS, et al. Influence of laser photobiomodulation on collagen IV during skeletal muscle tissue remodeling following injury in rats. *Photomed Laser Surg*. 2011;29(1):11-7.
26. Marqueti RC, Parizotto NA, Chrighuer RS, Perez SEA, Selistre-de-Araujo HS. Androgenic-anabolic steroids associated with mechanical loading inhibit matrix metalloproteinase activity and affect the remodeling of the achilles tendon in rats. *Am J Sports Med*. 2006;34(8):1274-80.
27. Faria FET, Ferrari RJ, Distefano G, Ducatti AC, Soares KF, Montebelo MIL, et al. The onset and duration of mobilization affect the regeneration in the rat muscle. *Histol Histopathol*. 2008;23(5):565-71.
28. Mesquita RA, Micocci KC, Perez SEA, Salvini TF, Selistre-de-Araújo HS. Remodelamento muscular induzido por treinamento: expressão de miosina em músculo esquelético de rato – uma análise qualitativa. *Rev Bras Fisioter*. 2004;8(2):117-22.
29. Sugiura T, Morioto A, Sakata Y, Watanabe T, Murakami N. Myosin heavy chain isoform changes in rat diaphragm are induced by endurance training. *Jpn J Physiol*. 1990;40(5):759-63.
30. Herbison GJ, Jaweed MM, Ditunno JF. Effect of swimming on reinnervation of rat skeletal muscle. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1974;37(11):1247-51.
31. Radak Z, Atalay M, Jakus J, Boldogh I, Davies K, Goto S. Exercise improves import of 8-oxoguanine DNA glycosylase into the mitochondrial matrix of skeletal muscle and enhances the relative activity. *Free Radic Biol Med*. 2009;46(2):238-43.