

ESTEIRA COM VELOCIDADE CONTROLADA PARA CAPTAÇÃO DA MARCHA

TREADMILL WITH CONTROLLED SPEED FOR RECORDING GAIT

VANESSA VILELA MONTE-RASO, MARISA DE CÁSSIA REGISTRO FONSECA, NILTON MAZZER, GIULIANO BARBIERI, RODRIGO CESAR ROSA, ARIANE ZAMARIOLI, CLÁUDIO HENRIQUE BARBIERI

RESUMO

Métodos histológicos e eletrofisiológicos de avaliação da regeneração dos nervos periféricos não provêm dados sobre o real estado funcional do membro interessado, mesmo em condições experimentais controladas. Alguns métodos de avaliação funcional têm sido propostos, mas a correlação entre seus resultados e aqueles dos métodos histológicos e eletrofisiológicos ainda não está perfeitamente estabelecida, o que demanda maiores investigações. Estas, por outro lado, necessitam do aprimoramento dos métodos de captação, armazenamento e processamento dos dados obtidos. Neste trabalho foi desenvolvido uma esteira para caminhada de animais com velocidade controlada para captação das pegadas de ratos submetidos a diferentes tipos de lesão dos nervos ciático, peroneiro e tibial, obtidas numa trilha de marcha captada por uma *webcam* acoplada a esteira e a um microcomputador capaz de armazenar as marchas filmadas para posteriormente serem digitalizadas para avaliação funcional. A esteira desenvolvida possibilita a captação e filmagem das marchas tendo sido testado em estudos experimentais em andamento sobre lesões do nervo ciático do rato, submetido a diferentes formas de tratamento. Também permite ao pesquisador a captação da marcha com velocidade contínua controlada e pré-estabelecida pelo pesquisador anulando algumas variáveis que possam prejudicar os resultados da pesquisa, além de permitir a visualização imediata da marcha.

Descritores: Síndrome de esmagamento. Nervo ciático. Ratos.

ABSTRACT

Histological and electrophysiological methods for evaluation of peripheral nerve regeneration do not faithfully reproduce the functional index of limbs, even in controlled experimental conditions. Some methods of functional evaluation have been proposed, but their correlation to histological and electrophysiological data is not completely established, requiring more investigations with improvement of collection, management and processing of obtained data. In this study we developed a treadmill with controlled speed for recording footprint of rats submitted to different kinds of sciatic, fibular and tibial nerve lesions. The footprints were obtained on a walking track by means of a *webcam* connected to the treadmill and a computer with capacity to record the gait that will be submitted to functional evaluation. The developed treadmill allows the collection and filming of gaits and it has been tested in current experimental studies in rats with sciatic nerve lesion submitted to different kinds of treatment. The treadmill also enables researchers to record gait with constant, controlled and pre-established speed, with the possibility of direct visualization through the treadmill wall. In this manner, some variables that could damage the results of the research are resolved.

Keywords: Crush syndrome. Sciatic nerve. Rats.

Citação: Monte-Raso VV, Fonseca MCR, Mazzer N, Barbieri G, Rosa RC, Zamarioli A, Barbieri CH. Esteira com velocidade controlada para captação da marcha. *Acta Ortop Bras.* [periódico na Internet]. 2010; 18(1):49-53. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>

Citation: Monte-Raso VV, Fonseca MCR, Mazzer N, Barbieri G, Rosa RC, Zamarioli A, Barbieri CH. Treadmill with controlled speed for recording gait. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2010; 18(1):49-53. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>

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

Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Trabalho realizado no Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Endereço para Correspondência: Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. 14048-900 Ribeirão Preto SP Brasil. Campus Universitário
Email: vanmonteraso@yahoo.com.br

Trabalho recebido em 22/09/08 aprovado em 20/11/08

Acta Ortop Bras. 2010; 18(1):49-53

INTRODUÇÃO

Métodos histológicos e eletrofisiológicos de avaliação da regeneração dos nervos periféricos não provêm dados sobre o real estado funcional do membro interessado, mesmo em condições experimentais controladas. Alguns métodos de avaliação funcional têm sido propostos¹⁻⁴ mas a correlação entre os seus resultados e aqueles dos métodos histológicos e eletrofisiológicos ainda não está perfeitamente estabelecida, o que demanda maiores investigações. Estas, por outro lado, necessitam do aprimoramento dos métodos de captação, armazenamento e processamento dos dados obtidos.

Avaliação funcional da regeneração nervosa

De Medinaceli et al.¹, desenvolveram um método quantitativo, confiável e reprodutível da condição funcional do nervo ciático de ratos para a avaliação do grau de lesão e da recuperação, denominado Índice Funcional do Ciático (IFC; em inglês, Sciatic Functional Index, ou SFI). O método está baseado na medida de parâmetros pré-estabelecidos nas impressões da pata traseira dos animais, obtidas durante execução da marcha sobre tiras de filmes virgens de radiografia. Os animais eram treinados a deambular em uma passarela de 43 cm de comprimento por 8,7 cm de largura, que terminava em uma casinhola onde eles se abrigavam. Depois de bem treinados, era colocada uma tira de filme radiográfico no piso da passarela e as patas traseiras do animal eram molhadas em líquido revelador. Ao caminhar, o animal deixava as impressões da pata traseira no filme, que era imerso em líquido fixador que as fixavam permanentemente. Quatro parâmetros foram medidos nessas pegadas (Figura 1) e as comparações entre os lados lesado (experimental) e intacto (normal) permitiram estabelecer o (IFC), que é uma expressão percentual do normal.

Todos os parâmetros eram medidos do mesmo modo na pata normal (N) e na lesada, ou experimental (E). A distância ao pé oposto (TOF) é a medida ortogonal entre as pontas dos dedos mais longos de ambos os pés, que representa o comprimento de

uma passada. O comprimento da pata (PL) é a distância entre os dois pontos mais extremos da pegada, no sentido longitudinal, que é sempre maior na pata lesada. O espalhar total dos dedos (TS) é a distância entre os dois pontos mais extremos da pegada, no sentido transversal, devendo coincidir com a marca dos dois dedos mais extremos, e o espalhar dos dedos intermediários (IT) é a distância entre os dois dedos intermediários. Ambas medidas são menores na pata lesada.

O IFC foi calculado para nervos normais e submetidos a vários tipos de lesão, segundo a fórmula:

$$SFI = \left[\frac{(ETOF - NTOF)}{NTOF} + \frac{(NPL - EPL)}{EPL} + \frac{(ETS - NTS)}{NTS} + \frac{(EIT - NIT)}{NIT} \right] * \frac{220}{4}$$

Onde:

E: Experimental

N: Normal

TOF: "to other foot", ou distância de uma pata à outra.

PL: "print length", comprimento da pata.

TS: "total spread", ou espalhar total dos dedos.

IT: "intermediate toes", ou espalhar dos dedos intermediários.

Os resultados obtidos com esta equação eram a expressão percentual negativa da função normal, em que 0 (zero) corresponde à função normal, ou ausência de deficiência, e -100 (menos cem) corresponde à disfunção total. Os autores afiançaram que o método era confiável e reprodutível, guardando correlação com os métodos convencionais, mas os cálculos, todos manuais, eram muito complicados.

De Medinaceli et al.⁵ modificaram o método, adicionando recursos de informática e computação, tornando-o mais prático, rápido e fácil. Brown et al.⁶, realizaram um estudo da confiabilidade do método do IFC, em que quatro examinadores analisaram as medidas em seqüências diferentes e em três ocasiões diferentes, concluindo que se trata de um bom método não invasivo.

Lowdon et al.⁷ criaram um método para obtenção das pegadas obtidas em tiras de papel impregnadas com azul de bromofenol, segundo o método de De Medinaceli, e analisadas segundo o método de Bain et al.², ambos de emprego rotineiro em nosso laboratório.⁸⁻¹⁰ As tiras de papel impregnadas com o azul de bromofenol têm a cor amarelada quando secas, tornando-se azuis quando molhadas. Para obter as impressões das pegadas, as patas traseiras dos animais foram molhadas numa solução de detergente doméstico, que produz menor borrão da impressão do que o filme de RX. (Figura 2)

Monte-Raso et al.¹⁰ avaliaram a reprodutibilidade entre examinadores do método de avaliação do (IFC), medido por um programa de computação desenvolvido para este fim. As impressões das pegadas dos animais foram obtidas segundo método proposto por Lowdon et al.⁷ na fase pré-operatória e, depois, semanalmente da 1ª à 8ª semana, foram avaliadas em uma pista de marcha pela medida de parâmetros predeterminados por quatro examinadores seguindo sempre a mesma seqüência de marcação dos parâmetros utilizando um programa de computador.¹¹ Os resultados foram submetidos a análise estatística, que mostrou haver um alto índice de correlação entre examinadores na avaliação pré-operatória e nas 3ª, 4ª, 5ª, 7ª e 8ª semanas (igual ou maior que 0,82), com queda casual na 6ª semana, mas manteve significativa como as demais ($p < 0,01$). Na 1ª e 2ª semanas, o índice de correlação foi próximo de zero, mostrando a pouca re-



Figura 1 – Representação dos parâmetros medidos para calcular o Índice Funcional do Ciático (IFC). N: Normal; E: Experimental (operada); TS: Abertura total dos dedos (1º ao 5º); IT: Abertura dos dedos intermediários (2º ao 4º); PL: Comprimento da pegada.

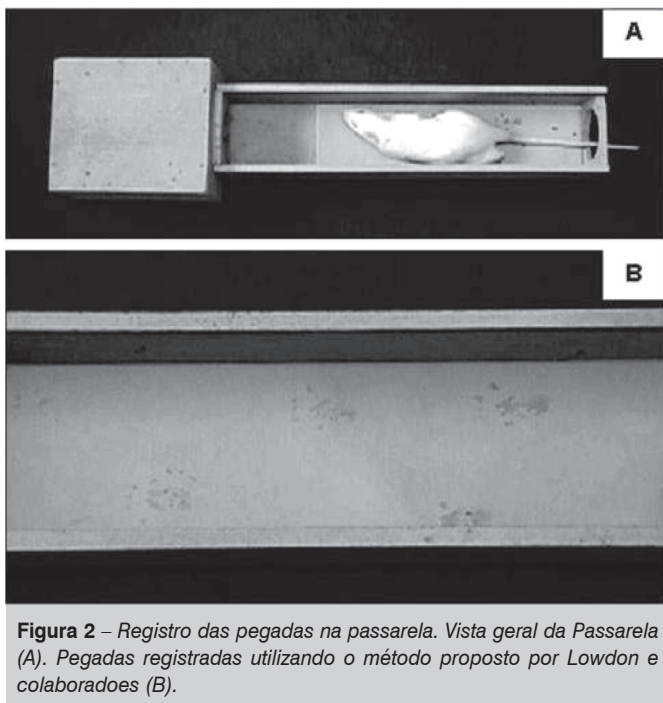


Figura 2 – Registro das pegadas na passarela. Vista geral da Passarela (A). Pegadas registradas utilizando o método proposto por Lowdon e colaboradores (B).

produtibilidade do método nesse período, em que a variabilidade entre os animais não diferiu da variabilidade entre os examinadores ($p=0,24$ e $0,32$, respectivamente), devido à pouca definição das impressões das pegadas.

Gasparini et al.¹² correlacionaram diferentes métodos de avaliação funcional da marcha de ratos com lesão por esmagamento do nervo ciático de ratos, o SFI (proposto por De Medinaceli) calculado de forma manual e computadorizado (também proposto por De Medinaceli), o SFI calculado de forma manual e com o método de filmagem (proposto por Varejão)¹³ e o SFI computadorizado com o método de filmagem. Os autores concluíram que os métodos de análise utilizados garantem o acompanhamento da recuperação funcional mas, que a hipótese de correlação dos métodos é real para as condições em que a mesma fórmula matemática é utilizada, independente se manual ou computadorizada mas, no caso que existe combinação entre fórmulas matemáticas não existe correlação entre os métodos, também concluíram que o método de avaliação através da filmagem garante o acompanhamento da regeneração do mesmo nas primeiras semanas suprimindo as dificuldades existentes no método tradicional de De Medinaceli, entretanto os autores não controlaram a velocidade de caminhada dos animais.

Apesar da confiabilidade do método do IFC, em quase todos os trabalhos anteriormente realizados em nosso departamento, ficou patente a dificuldade de avaliação nas primeiras semanas após a produção da lesão do nervo ciático porque as impressões das pegadas eram invariavelmente de má qualidade, visto que a paralisia imposta ao membro do animal impedia a pisada bem marcada. Portanto, o objetivo deste estudo foi de aperfeiçoar um método de avaliação da recuperação funcional do nervo ciático de ratos submetidos a lesão por esmagamento através da obtenção da imagem de uma forma mais refinada, por meio de filmagem com controle mais preciso da velocidade de deslocamento do animal.

MATERIAL E MÉTODOS

Idealizamos uma esteira (Figura 3) que foi construída por uma empresa de Ribeirão Preto, especializada em equipamentos de pesquisa (Insight®) e o modelo final da esteira constou-se de um manual de instruções contendo os dados do equipamento.

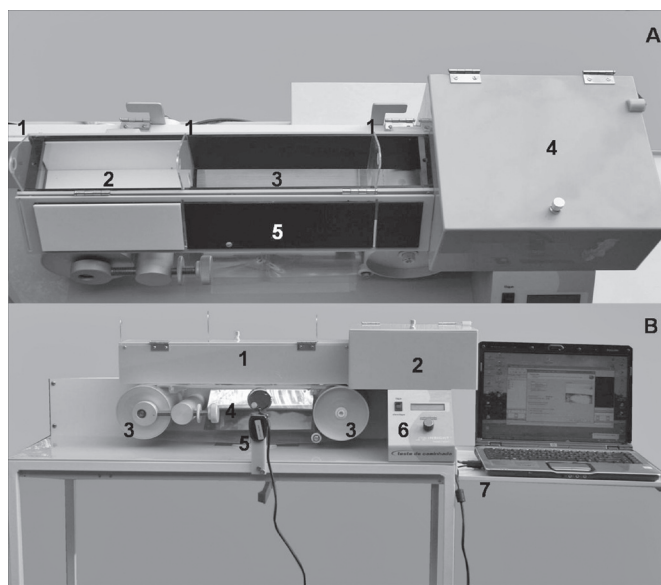


Figura 3 – Esteira para captura de marcha por método de filmagem com controle de velocidade. (A): Vista da área de trabalho: 1 - Porta guilhotina para contenção dos animais, 2 - área de espera, 3 - área de trabalho, 4 - casinhola “abrigo do animal”, 5 - cobertura em acrílico fosco anterefleto. (B): Vista geral da esteira: 1 - corredor de marcha” área de espera e de trabalho”, 2 - casinhola “abrigo do animal”, 3 - cilindros, 4 - espelho, 5 - suporte para webcam, 6 - motor, potenciômetro, display e chave ligadesliga, 7 - suporte para o computador portátil.

Esteira com controle de velocidade

A esteira foi confeccionada em acrílico cinza 4 mm, cristal 4 mm e preto fosco 4 mm, com estrutura metálica com pintura epóxi branca. Possui altura de 1090 milímetros, 400 milímetros de largura e 850 milímetros de comprimento, com peso de 20 quilogramas, tensão de alimentação de 110/220 volts manual, com pés reguláveis de nível, com ajuste de velocidade de 0 a 14 metros por minuto. A esteira foi desenvolvida com lona de policarbonato, que devido à sua transparência permitia a filmagem da marcha do animal, por meio de uma webcam com 1.3 megapixel acoplada a um computador portátil.

Então, realizamos um estudo piloto para testar o funcionamento da esteira cuja metodologia está relatada abaixo.

Animais e grupo experimental

O trabalho experimental foi desenvolvido no Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Foram utilizados 10 ratos machos adultos da linhagem Wistar, com massa corporal variando entre 250 e 300 gramas, fornecidos pelo Biotério Central da Prefeitura do Campus da USP de Ribeirão Preto e mantidos em gaiolas coletivas com cinco animais em cada uma. Aos animais foi permitido livre acesso à alimentação padrão e água. Foi realizada a avaliação funcional dos animais normais, sem lesão por dois dias consecutivos utilizando a nova esteira com método

de filmagem com velocidade controlada e posteriormente realizada a avaliação funcional, em dois momentos distintos, utilizando um *software* desenvolvido em nosso laboratório e modificado recentemente.¹¹

Análise funcional da marcha

A análise funcional da marcha foi realizada através da obtenção das imagens por meio de vídeo utilizando uma esteira com velocidade controlada. A filmagem foi baseada em outros estudos^{13,14} com algumas modificações.

Impressão das pegadas pelo novo método proposto de filmagem com velocidade da marcha controlada

Inicialmente foi desenvolvida pelo grupo Insight® uma esteira confeccionada em acrílico para melhor visualização das pegadas, dotada de um motor controlador de velocidade, baseadas na passarela de madeira proposta por De Medinaceli. O registro da marcha foi realizado com uma *webcam* posicionada, dotada de um cabo USB que a conectava diretamente a um computador portátil. (Figura 3)

Depois de aprender a caminhar na esteira, as pegadas da marcha normal dos ratos foram filmadas em dois dias consecutivos.

As imagens das impressões das pegadas obtidas nas filmagens foram adequadas no tamanho ideal por meio do *software Adobe Photoshop*, versão CS3® e editadas para transformação do tamanho ideal para o uso do programa de análise, de modo a permitir o cálculo do Índice Funcional do Ciático.

Estas imagens foram introduzidas no programa de computador, que permite a identificação, a análise das imagens segundo os parâmetros previamente selecionados e o armazenamento dos dados com o auxílio do programa de análise gráfica especialmente desenvolvido para esse fim¹⁵, no Laboratório de Bioengenharia da FMRP. Este programa foi modificado recentemente¹¹ e é rotineiramente utilizado em nosso laboratório.^{8-10,16,17} Uma vez instalada a impressão da pegada no programa, os parâmetros analisados foram medidos simplesmente clicando o cursor do *mouse* nos pontos correspondentes a cada parâmetro, na sequência pré-determinada. Os parâmetros medidos foram o comprimento da pegada (PL, ou *print length*), a abertura total dos dedos, do 1º ao 5º (TS ou *total spread of toes*) e a abertura dos dedos intermediários, do 2º ao 4º (IT ou *intermediate toes*), como sugerido por Bain et al.² Uma vez registrados os parâmetros, o programa calcula automaticamente o valor do Índice Funcional do Ciático (IFC), que também automaticamente o armazenará em arquivo, de forma a possibilitar a análise das curvas de regeneração em função do tempo.

Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando o método de Kolmogorov e Smirnov, sendo adotado um nível de significância de 5% ($p < 0,05$), programa GraphPad InStat, versão 3,06.

RESULTADOS

Um total de dez animais foram submetidos a marcha na esteira com controle de velocidade e suas marchas filmadas. Foram analisadas e medidas, portanto, 20 pegadas. (Tabela 1)

Na primeira avaliação da marcha os valores médios do IFC foram de -2,7 (variação de -0,7625 a -4,5458) \pm 1,2 e na segunda avaliação os valores médios foram de -2,6 (variação de -0,0257 a -4,0693) \pm 1,2 (Tabela 1). Não foi observada diferença estatística significativa na comparação destes dados ($p = 0,5618$). (Figura 4)

Tabela 1 – Valores do IFC na primeira e segunda avaliação

Rato	Marcha 1	Marcha 2
R1	-0,916	-3,473
R2	-0,763	-3,457
R3	-1,658	-2,785
R4	-3,683	-2,412
R5	-2,635	-0,026
R6	-1,151	-2,566
R7	-4,546	-4,069
R8	-3,211	-3,285
R9	-1,781	-3,065
R10	-2,389	-0,970
Média	-2,273	-2,611
DP	1,255	1,234

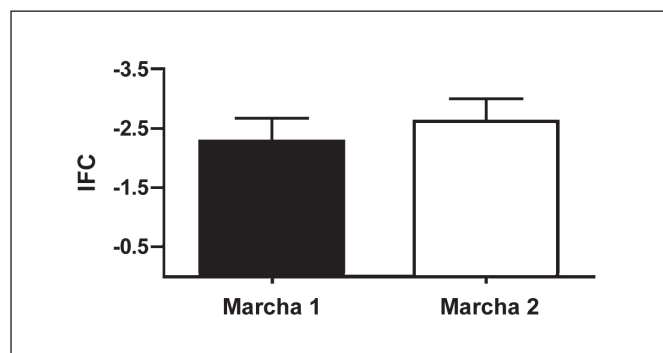


Figura 4 – Comportamento do IFC na primeira avaliação e na segunda avaliação.

DISCUSSÃO

Muito dos conhecimentos acumulados sobre degeneração, tratamento e regeneração dos nervos periféricos tem sido produzido por estudos experimentais em pequenos animais, particularmente em ratos, cuja velocidade de regeneração espontânea favorece estudos de curta duração. O nervo ciático de ratos é um modelo confiável para estudar diferentes tipos de lesão e métodos de tratamento e a lesão por esmagamento é um dos tipos preferidos, pois causa ruptura das fibras nervosas sem ruptura da maior parte das estruturas de sustentação do nervo, o que facilita a regeneração subsequente à lesão.¹⁸⁻²⁰

Avaliações funcionais são muito difíceis em animais, por motivos óbvios, mas De Medinaceli et al.¹, introduziram o método do índice funcional do ciático (IFC) de ratos, modificado por Bain et al.², que permite avaliar satisfatoriamente a recuperação do nervo ciático lesado em função do tempo. Estudos anteriormente conduzidos por nosso grupo mostraram a existência da correlação entre regeneração, avaliada pela morfometria dos nervos, e recuperação funcional, medida pelo IFC.^{8-10,16}

Em nosso laboratório, a captação das pegadas eram realizadas com base no método proposto por Lowdon et al.⁷, que descreveram um método alternativo ao das tiras de filme de raios-X para registro de pegadas, propondo o uso de tiras de papel, nas mesmas dimensões usadas com os filmes e tratadas com uma solução a 0,5% de anidrosulfona de azul de bromofenol em acetona.

Depois de secas, as tiras de papel assim tratadas adquiriam uma coloração laranja e necessitavam de acondicionamento em local seco, pois a umidade as tornavam paulatinamente azuladas. O preparo das tiras de papel é simples e rápido, e seu funcionamento é adequado se a secagem e estocagem forem satisfatórias. A principal vantagem desse método é seu baixo custo, além do menor risco de escorregões do animal durante sua marcha, e da melhor qualidade de imagem do que a do Raio-X.

Apesar da confiabilidade do método do IFC em todos os nossos trabalhos anteriores ficou patente a dificuldade de avaliação nas primeiras semanas após a produção da lesão do nervo ciático, porque as impressões das pegadas eram invariavelmente de má qualidade, visto que a paralisia imposta ao membro do animal impedia a pisada bem marcada. Com a regeneração subsequente do nervo e a recuperação funcional do animal, as pegadas tornavam-se mais claras, permitindo a marcação mais adequada dos pontos-chave das pegadas. As dificuldades observadas, então, nas semanas iniciais após a produção da lesão lançaram dúvidas sobre a fidelidade do método nesta fase, motivo que nos levou à investigação da confiabilidade do método de análise.¹⁸

Recentemente no nosso departamento,¹² o método de captação das pegadas evoluiu para captação por meio de filmagem em uma esteira fabricada em acrílico baseada nos estudos de Varejão et al.¹³

Destas observações surgiu a idéia de construir uma esteira com velocidade controlada dotada de uma *webcam* ligada diretamente a um computador portátil permitindo a captação da marcha dos animais e, eliminando algumas variáveis observadas em estudos

anteriores pelo nosso grupo. O controle da velocidade permite a marcha constante sem a parada do animal que poderia proporcionar uma medida não fidedigna pois o peso do animal poderia propiciar o espalhar dos dedos possibilitando uma falsa impressão de melhora funcional. Além disso, o uso da *webcam* permitiu uma análise visual imediata da marcha, possibilitando ao pesquisador selecionar a mais adequada durante a execução da mesma.

Um total de dez animais foi treinado e submetidos à marcha na esteira com controle de velocidade. As marchas dos animais foram filmadas em duas situações distintas, dois dias diferentes, e na comparação dos dados não foi observado diferença estatística.

CONCLUSÃO

A esteira com controle de velocidade idealizada, construída e testada em investigação experimental mostrou-se de emprego mais fácil e prático que as outras utilizadas nos experimentos anteriores, pois o controle da velocidade e o uso da *webcam* diminuíram algumas variáveis encontradas em estudos prévios.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à FAPESP pela concessão de bolsa de Pós-doutorado (Processo 07/52754-8) e pelo auxílio à pesquisa concedido para a confecção da esteira (Processo 07/54084-0), e aos Profs. Drs. José Batista Volpon e Antônio Carlos Shimano e funcionários do Laboratório de Bioengenharia da FMRP-USP de Ribeirão Preto, local do desenvolvimento deste estudo.

REFERÊNCIAS

1. 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;77:634-43.
2. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter RT. Functional evaluation of complete sciatic peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg*. 1989;83:129-38.
3. Varejão AS, Cabrita AM, Geuna S, Pinto PM, Filipi VM, Gramsbergen A, Meek MF. Toe out angle: a functional index for the evaluation of sciatic nerve recovery in the rat model. *Exp Neurol*. 2003;183:695-9.
4. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*. 1995;12:1-21.
5. De Medinaceli L, DeRenzo, E, Wyatt, RJ. Rat sciatic functional index data management system with digitized input. *Comput Biomed Res*. 1984;17:185-92.
6. Brown CJ, Evane PJ, Mackinnon SE, Bain JR, Makino AP, Hunter DA et al. Inter- and intraobserver reliability of walking-track analysis used to assess sciatic nerve function in rats. *Microsurgery*. 1991;12:76-9.
7. Lowdon IM, Seaber AV, Urbaniak JR. An improved method of recording rat tracks for measurement of the sciatic functional index of De Medinaceli. *J Neurosci Methods*. 1988;24:279-81.
8. Oliveira EF, Mazzer N, Barbieri CH, Selli M. Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. *J Reconstr Microsurg*. 2001;17:69-75.
9. Monte Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of peripheral nerves? *J Neurosci Methods*. 2005;142:185-92.
10. 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;13:133-6.
11. Yamasita AC. AFNP - Análise funcional dos nervos periféricos: desenvolvimento de um software flexível no estudo de regeneração nervosa periférica [dissertação]. Ribeirão Preto:Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 2007.
12. Gasparini 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;15:285-9.
13. Varejão AS, Cabrita AM, Patrício JA, Bulas-Cruz J, Gabriel RC, Melo-Pinto P et al. Functional assessment of peripheral nerve recovery in the rat: gait kinematics. *Microsurgery*. 2001;21:383-8.
14. Dijkstra JR, Meek MF, Robinson PH Gramsbergen A. Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex. *J Neurosci Methods*. 2000;96:89-96.
15. Selli MF. Desenvolvimento de um método computadorizado para avaliação das lesões nervosas periféricas através da análise da marcha: modelo experimental em ratos [dissertação]. Ribeirão Preto:Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 1998.
16. Mendonça AC, Barbieri CH, Mazzer N. Directly applied low intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Methods*. 2003;129:183-90.
17. Monte-Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Yamasita AC, Barbieri G. Is the Sciatic Functional Index always reliable and reproducible? *J Neurosci Methods*. 2008;170:255-61.
18. Mira JC. Quantitative studies of the regeneration of rat myelinated nerve fibres: variations in the number and size of regenerating fibres after repeated localized freezing. *J Anat*. 1979;129(Pt 1):77-93.
19. Bridge PM, Ball DJ, Mackinnon SE, Nakao OY, Brandt K, Hunter DA et al. Nerve crush injuries: A model for axonotmesis. *Exp Neurol*. 1984;127:284-90.
20. Cragg BG, Thomas PK. The conduction velocity of regenerated peripheral nerve fibres. *J Physiol*. 1964;171:164-75.