

# Influência da Eletroestimulação Fásica de Baixa Frequência na Morfometria do Músculo Sóleo Desnervado

## Autores

---

Rodrigo Santiago Barbosa Rocha  
Eliane de Fatima Henrique da Silva

## Orientador

---

Viviane Balisardo Minamoto

## 1. Introdução

---

O sistema neuromuscular é plástico, tem a capacidade de adaptar-se à diferentes situações de aumento ou diminuição da atividade. Alguns exemplos de situações que promovem aumento da atividade neuromuscular são eletroestimulação crônica, alongamento crônico, hipertrofia compensatória, treinamento de endurance e de resistência (Pette e Staron, 2001; Lieber, 2002). Por outro lado, pode-se citar a ausência de gravidade, tenotomia, transecção da medula espinhal, imobilização articular e desnervação como algumas condições que promovem diminuição da atividade neuromuscular (Michel e Gardiner, 1989; Ohira et al., 2002; Lieber, 2002).

As lesões de nervos periféricos são comuns, ocorrendo com maior frequência devido a acidentes automobilísticos e de esporte, seguidos de traumas penetrantes e lesões ao nascimento, por tração excessiva (Welch, 1996; Ijkema-Paassen, Gramsbergen e Meek 2004). Essas lesões provocam desnervação de músculos esqueléticos, que respondem a esta condição com diminuição do trofismo muscular, aumento do tecido gorduroso e do tecido conjuntivo intramuscular (Kern et al., 2002).

Na clínica de fisioterapia, um dos métodos mais empregados na busca pela manutenção do trofismo, bem como da recuperação da função muscular é a eletroestimulação fásica. Entretanto, a eletroestimulação, aplicada durante o período de desnervação, pode acelerar ou prejudicar a reinervação, dependendo do protocolo aplicado. Atividade contrátil insuficiente está relacionada à perda de massa muscular, força e diminuição do diâmetro da fibra. Por outro lado, atividade contrátil em demasia, leva ao aumento do metabolismo, o que pode diminuir o tamanho das fibras e da força muscular, além de aumentar a probabilidade de lesão ao tecido, devido ao aumento do fluxo iônico de cálcio (Dow et al., 2004).

Apesar da maioria dos estudos com desnervação e eletroestimulação empregarem o protocolo de eletroestimulação crônica, os resultados destes estudos não podem ser utilizados para o entendimento dos efeitos da eletroestimulação utilizada na clínica de fisioterapia. Isto porque a eletroestimulação crônica não é utilizada como forma de tratamento, devido à necessidade de utilização de eletrodos implantados, o que aumenta o risco de infecções. Baseado neste fato e devido à carência de relatos relacionados com a eletroestimulação utilizada na clínica, o presente estudo tem como enfoque a eletroestimulação fásica, após desnervação muscular.

Os estudos com modelos experimentais de desnervação são de extrema importância, já que contribuem para o conhecimento de alterações morfológicas e fisiológicas do sistema neuromuscular acometido, fornecendo assim subsídios para o desenvolvimento de intervenções fisioterapêuticas que visam à

recuperação funcional.

## 2. Objetivos

---

Investigar a influência de dois protocolos de eletroestimulação fásica sobre a área da fibra muscular e da densidade de tecido conjuntivo do músculo sóleo (S) de ratos desnervados.

## 3. Desenvolvimento

---

Foram utilizados 50 ratos machos albinos da raça Wistar, com idade de 6 a 7 semanas e peso de  $200\pm 50$ g, obtidos no Biotério Central da Universidade Metodista de Piracicaba (UNIMEP).

Os animais foram randomizados em 4 grupos experimentais (n=5): Controle (C); Desnervado (D), Desnervado e Eletroestimulado Diariamente (EED) e Desnervado e Eletroestimulado Alternadamente (EEA).

Para o esmagamento nervoso os animais foram anestesiados com injeção intramuscular com uma mistura de Ketalar® (Cloridrato de Cetamina) 50mg/ml e Rompun® (Cloridrato de Xilazina) 2g/100 mL, na proporção de 1:1 e dose de 0,3ml/100g de peso corporal. Posteriormente à anestesia, os animais foram posicionados em decúbito ventral e submetidos à tricotomia e assepsia da região glútea, sendo realizada incisão de 15 mm na região glútea para exposição e acesso ao nervo isquiático. O mesmo foi lesado por meio de esmagamento nervoso (quatro pinçamentos, com duração de 20 segundos e intervalo de 1 segundo entre eles) utilizando-se pinça hemostática Erwin-Guth de 12 cm adaptada.

Após 24 horas do esmagamento nervoso e com os animais anestesiados conforme citado anteriormente, foi iniciada a eletroestimulação no músculo sóleo, utilizando-se o equipamento DUALPEX 961 – QUARK®, com os seguintes parâmetros: forma de pulso quadrática bifásica simétrica, largura de pulso de 3 ms, frequência de 10 Hz e intensidade de 5 mA, sendo acrescida de 1 mA a cada 5 minutos para evitar acomodação do estímulo, realizada por um período de 30 minutos. Para a aplicação da eletroestimulação, foi realizada a tricotomia das regiões inguinal e posterior da perna esquerda, onde foram acoplados eletrodos percutâneos auto-adesivos, com 1 cm<sup>2</sup> de área, sendo usado gel como meio de contato entre pele e eletrodo.

Após o período de 20 dias, os animais tiveram sob anestesia, o músculo sóleo esquerdo dissecado, sendo a região proximal congelada em isopentano pré-congelado em nitrogênio líquido. As amostras foram armazenadas em nitrogênio líquido até o momento da microtomia. Foram realizados cortes histológicos (12¼m) em criostato, à temperatura de -26°C, sendo os mesmos corados com Hematoxilina-Eosina, para análise morfométrica do músculo sóleo. Para análise da densidade de tecido conjuntivo foi utilizado o sistema de planimetria por contagem de pontos utilizando-se o software Image-Pró Plus 4.0 (*Media Cybernetics*). Para a área de secção transversa das fibras musculares foi realizada mensuração manual de 200 fibras do músculo sóleo de cada animal, através do software *Motic Images 3.2*.

Para a análise estatística foram utilizados os testes estatísticos Shapiro-Wilk, seguido de ANOVA com Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 4. Resultados

---

O grupo D apresentou aumento significativo da densidade de tecido conjuntivo em relação aos grupos EED, EEA e C ( $28 \pm 3,40\%$ ,  $20 \pm 3,35\%$ ,  $20 \pm 1,18\%$ ,  $9 \pm 1,07$  respectivamente;  $p < 0.05$ ). O grupo D apresentou diminuição significativa da área de secção transversa em relação aos grupos EEA, EED e C ( $968 \pm 257,45 \mu\text{m}^2$ ,  $1224 \pm 116,73 \mu\text{m}^2$ ,  $1421 \pm 164,52 \mu\text{m}^2$ ,  $1477 \pm 198,94 \mu\text{m}^2$ , respectivamente;  $p < 0.05$ ). Não houve diferença significativa nos resultados obtidos na área de secção transversa e na densidade de tecido conjuntivo quando comparado ambos protocolos de eletroestimulação.

Após a desnervação ocorrem alterações do músculo, como aumento da densidade de tecido conjuntivo (Salonen et al., 1985) e atrofia da fibra muscular (Fernandes, 2005). Essas alterações estão correlacionados com a diminuição ou ausência da capacidade contrátil do músculo, sendo mais pronunciadas com prolongados períodos de desnervação (Aydin, 2004; Dow et al., 2004).

Estudos com desnervação demonstram que a perda da massa muscular inicia-se imediatamente após a desnervação, e após 21 dias a área de secção transversa da fibra muscular está reduzida 80% quando comparado ao grupo controle (Michel e Gardiner, 1989; Keilhoff e Fansa, 2005).

O uso da eletroestimulação em músculos desnervados é controverso, já que alguns autores relatam que o uso da eletroestimulação pode minimizar os efeitos deletérios da desnervação (Hennig, 1987; Pette e Vrbová, 1999; Fernandes, 2005), enquanto outros demonstram que a eletroestimulação pode retardar a reinervação e ser prejudicial ao músculo (Dow et al., 2004).

No presente estudo, ambos os protocolos de eletroestimulação, aplicados diariamente ou em dias alternados, foram eficientes para diminuir a densidade de tecido conjuntivo e prevenir a atrofia das fibras musculares. Esses resultados sugerem eficiência da eletroestimulação em acelerar a reinervação muscular, uma vez que o aumento da densidade de tecido conjuntivo retarda a reinervação muscular (Gauthier e Dunn, 1973). Além disso, a prevenção da atrofia, observada nos grupos eletroestimulados, sugere maior capacidade de desenvolvimento de força muscular contrátil.

## 5. Considerações Finais

---

A eletroestimulação fásica, como aplicada no presente estudo, pode ser tratamento de escolha utilizado em músculos desnervados após lesões nervosas periféricas.

A aplicação da eletroestimulação em dias alternados pode ser o tratamento de escolha, uma vez que não houve diferença quando comparado o tratamento diário com o alternado.

## Referências Bibliográficas

---

Aydin MA, Mackinnon S, Gu XM, Kobayashi J, Kuzon WM. Force deficits in skeletal muscle after delayed reinnervation. **Plastic and Reconstructive Surgery**, n.113, p.1712-1718, 2004.

Dow DE, Cederna PS, Hasset CA, Kostrominova TY, Faulkner JA. Number of contractions to maintain mass and force of a denervated rat muscle. **Muscle Nerve**, n.30, p.77-86, 2004.

Fernandes KC, Fuentes CB, Campos GE, Somazz MC, Polacow ML, Guirro RR, Teodori RM, Pinto VF. Análise morfométrica dos tecidos muscular e conjuntivo após desnervação e estimulação elétrica de baixa

freqüência. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, n.9, v.2, p. 235-241, 2005.

Hennig R. Late reinnervation of the rat soleus muscle is differentially suppressed by chronic stimulation and by ectopic innervation. **Acta Physiological of Scandinavia**, n.130, p.156-160, 1987.

[Ijkema-Paassen J, Meek MF, Gramsbergen A.](#) Reinnervation of muscles after transection of the sciatic nerve in adult rats. **Muscle Nerve**, n.25, v.6, p.891-7, 2002.

[Keilhoff G, Fansa H.](#) Successful intramuscular neurotization is dependent on the denervation period. A histomorphological study of the gracilis muscle in rats. **Muscle Nerve**, n.31, v.2, p.221-8, 2005.

Kern H, Hofer C, Modlin M, Forstner C, Raschka-Hogler D, Mayr W, Stohr H. Denervated muscles in humans: limitations and problems of currently used functional electrical stimulation training protocols. **Artificial Organs**, n.26, v.216-218, p.2002.

Lieber RL. **Skeletal muscle structure, function & plasticity: the physiological basis of rehabilitation**, 2. ed. San Diego: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

Michel RN, Gardiner PF. Influence of overload on recovery of rat plantaris from partial denervation. **American Physiological Society**, n.1, p.732-740, 1988.

Mödlin M, Forstner C, Hofer C, Mayr W, Richter W, Carraro U, et. al. Electrical Stimulation of Denervated Muscles: First Results of a Clinical Study. **Artificial Organs**, n.29, v.3, p.203-206, 2005.

Ohira Y, Yoshinaga T, Nomura T, Kawano F, Ishihara A, Nonaka I, Roy RR, Edgerton VR. Gravitational unloading effects on muscle fiber size, phenotype and myonuclear number. **Advanced Space Research**, n.30, p.777-781, 2002.

Pette D, Staron RS. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. **Histochem Cell Biol**, n.115, p.359-372, 2001.

[Pette D, Vrbova G.](#) What does chronic electrical stimulation teach us about muscle plasticity? **Muscle Nerve**, n.22, v.6, p.666-77, 1999.

[Salonen V, Lehto M, Kalimo M, Penttinen R, Aro H.](#) Changes in intramuscular collagen and fibronectin in denervation atrophy. **Muscle Nerve**, n.8, v.2, p.125-31, 1985.

Welch JA. Peripheral nerve injury. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, n.11, v.4, p.273-284, 1996.

## Anexos

---



