

ELESTROESTIMULAÇÃO SELETIVA MANTEM ESTRUTURA E FUNÇÃO DO TIBIAL ANTERIOR DESNERVADO DE RATOS

STRUCTURE AND FUNCTION OF DENERVATED TIBIALIS ANTERIORES ARE MAINTAINED BY ELECTRICAL STIMULATION IN RATS

JULIANA DE TILLIO POLÔNIO, NILTON MAZZER, CLÁUDIO HENRIQUE BARBIERI, ANA CLAUDIA MATTIELLO-SVERZUT

RESUMO

Objetivo: A eletroestimulação para tratamento de músculos desnervados deve ser aplicada através do tratamento seletivo. Este estudo avaliou o efeito da eletroestimulação seletiva do músculo desnervado sobre sua estrutura e função. **Métodos:** Foram utilizados cinquenta ratos Wistar distribuídos em controle, desnervado estimulado e desnervado não-estimulado. Após avaliação eletrodiagnóstica de estímulo pré-desnervação, os animais sofreram desnervação proximal completa do músculo tibial anterior unilateral. Houve reavaliação semanal para adaptação dos parâmetros de tratamento seletivo, aplicado três vezes por semana. Os animais foram mortos após 7, 14, 28 e 56 dias do pós-cirúrgico. Foram realizados procedimentos histoquímicos e estudos morfológicos e morfométricos. **Resultados:** Os animais desnervados estimulados não apresentaram contratura da articulação do tornozelo e não houve automutilações nas patas. Alterações significativas nas áreas das fibras musculares tipo IIB (desnervados estimulados aos 7 dias) e tipo IIA e híbridas (desnervados estimulados 28 e 56 dias) indicaram menor atrofia. Transição do tipos de fibras musculares foi significativa, indicando uma manutenção do padrão funcional do músculo tibial anterior nos períodos de 7 e 14 dias. **Conclusão:** Conclui-se que houve manutenção temporária da estrutura e função do músculo tibial anterior desnervado através da eletroestimulação seletiva.

Descritores: Estimulação elétrica. Denervação. Músculo esquelético. Atrofia. Eletrodiagnóstico. Reabilitação.

ABSTRACT

Objective: Electrical stimulation for treatment of denervated muscles should be implemented by selective treatment. This study evaluated the effect of selective electrical stimulation on the structure and function of denervated muscle. **Methods:** Fifty Wistar mice were allocated to control, stimulated denervated and non-stimulated denervated groups. Following an electrodiagnostic evaluation, the animals underwent complete unilateral denervation of the proximal anterior tibialis muscle. Weekly re-assessment was carried out in order to adjust the parameters of the selective treatment, applied three times a week. The animals were sacrificed at 7, 14, 28 and 56 days after undergoing the surgical procedures. Histochemical procedures and morphologic and morphometric studies were carried out. **Results:** The denervated stimulated animals did not present contracture of the ankle joint and self-mutilation was not found on the feet. Significant alterations around the type IIB (denervated stimulated at 7 days), type IIA and hybrid (denervated stimulated at 28 and 56 days) fibers showed less atrophy. The transition of muscle fibers types was significant, indicating the preservation of the functional pattern of the anterior tibialis muscle at 7 and 14 days. **Conclusion:** We found that the selective electrical stimulation was able to temporarily maintain the structure and function of the denervated anterior tibialis muscle.

Keywords: Electrical stimulation. Denervation. Muscle, skeletal. Atrophy. Electrodiagnosis. Rehabilitation.

Citação: Polônio JT, Mazzer M, Barbieri CH, Mattiello-Sverzut AC. Eletroestimulação seletiva mantém estrutura e função do tibial anterior desnervado de ratos. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2010; 18(2):85-9. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>

Citation: Polônio JT, Mazzer M, Barbieri CH, Mattiello-Sverzut AC. Structure and function of denervated tibialis anteriores are maintained by electrical stimulation in rats. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2010; 18(2):85-9. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>

INTRODUÇÃO

O músculo esquelético é um tecido especializado constituído por células alongadas, na maioria das vezes do comprimento do músculo, denominadas fibras musculares. Essas células, quando observadas em corte transversal, possuem forma poliédrica ou hexagonal e núcleos múltiplos periféricos e achatados.¹ Esse tecido é capaz de se adaptar frente aos mais diversos estímulos. A interrupção do suprimento nervoso é capaz de tornar fibras musculares lentas mais rápida e fibras musculares rápida

em mais lentas devido a alteração da concentração das isoformas de MHC.^{2,3} As fibras musculares esqueléticas, rápidas e lentas, sofrem atrofia após a desnervação. Quando a desnervação do músculo acontece através da secção completa de seu ramo motor, todas as suas fibras se atrofiarão.⁴ O principal efeito direto da atrofia por desnervação é a redução da área e do diâmetro da fibra muscular e conseqüente redução em sua força. Há também a conversão de tipos de fibra, de lenta para rápida, em músculos desnervados.^{5,6}

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

Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP – USP.

Endereço para correspondência: Nilton Mazzer. Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor – 13º andar – Hospital das Clínicas – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP – USP – Av. Bandeirantes, 3900 – Campus Universitário – Monte Alegre – Ribeirão Preto – SP, Brasil. CEP 14098-900 E-mail: nmazzer@fmrp.usp.br

Trabalho recebido em 23/05/09 aprovado em 09/02/09

A Fisioterapia é capaz de auxiliar os pacientes portadores de lesões nervosas periféricas, tendo como principal objetivo o tratamento das consequências dessa lesão. Para esse tratamento, vários recursos terapêuticos podem ser usados, entre eles cinesioterapia passiva e ativa, reeducação neuromuscular, massoterapia e eletroterapia.

A eletroestimulação de músculos desnervados tem como objetivo exercitar eletricamente esse músculo para que ele se mantenha o mais saudável possível enquanto os axônios lesados se regenerem e voltem a inervá-lo. Assim sendo, a recuperação funcional ficará facilitada após a reinervação. Os efeitos da eletroestimulação do músculo desnervado podem ser feitos sob vários aspectos. Já foram realizadas análises dos efeitos da estimulação elétrica sobre o metabolismo das fibras musculares, influências sobre a reinervação e sobre a manutenção das propriedades contráteis do músculo desnervado, conversão entre os tipos de fibras, análises eletrofisiológicas, efeitos sobre a atrofia por desnervação.⁷⁻⁹

A eletroestimulação dos músculos desnervados, exige uma adaptação dos parâmetros de estimulação às características de excitabilidade do tecido.¹⁰ Esse é o papel do Eletrodiagnóstico de Estímulo, teste que determina os exatos parâmetros que um músculo desnervado necessita para ser estimulado num determinado momento, respeitando suas alterações de excitabilidade. Ele compreende a construção das curvas de intensidade-duração usando-se pulsos quadrados e exponenciais além do conhecimento dos pontos indicativos de eletrodiagnóstico (reobase, cronaxia, acomodação).¹¹ O objetivo deste estudo foi analisar o efeito da eletroestimulação transcutânea na manutenção do músculo esquelético totalmente desnervado do rato, através da utilização de um gerador universal de pulsos e parâmetros de estimulação específicos adquiridos por meio da construção de uma curva intensidade-duração e de pontos indicativos de eletrodiagnóstico.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho experimental foi desenvolvido no Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal – CETEA, da Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto.

Foram utilizados 50 ratos machos adultos da linhagem Wistar, com peso corporal variando entre 250 - 300 gramas, agrupados e mantidos em gaiolas plásticas padrão, em condições ambientais controladas (luminosidade: 12 horas de ciclo claro/escuro) com livre acesso à água e ração peletizada ad libitum. Tais animais foram alocados aleatoriamente em três grupos: um grupo controle e dois grupos experimentais, grupo desnervado e grupo desnervado e estimulado.

Antes do procedimento de desnervação, os animais dos grupos experimentais foram anestesiados com injeção intramuscular de Ketamina (70mg/kg de peso corporal) e Xylazina (10mg/kg de peso corporal) e submetidos ao eletrodiagnóstico de estímulo inicial.

Procedimento de desnervação proximal completa (Figura 1)

Os animais dos grupos experimentais foram anestesiados com injeção intramuscular de Ketamina (70mg/kg de peso corporal) e Xylazina (10mg/kg de peso corporal) e posicionados em decúbito ventral, com a face lateral do membro experimental devidamente tricotomizada e fixado em mesa operatória. A anti-sepsia foi realizada com solução de álcool-iodado à 20%. O nervo ciático foi abordado através de uma incisão cutânea longitudinal retilínea, na face lateral da coxa, que se estendia da coluna vertebral até o joelho. O espaço entre os músculos bíceps femoral e glúteo superficial foi desenvolvido por dissecação roma e o nervo foi identificado desde sua emergência da coluna até sua trifurcação no joelho. O nervo ciático foi completamente seccionado proximal-

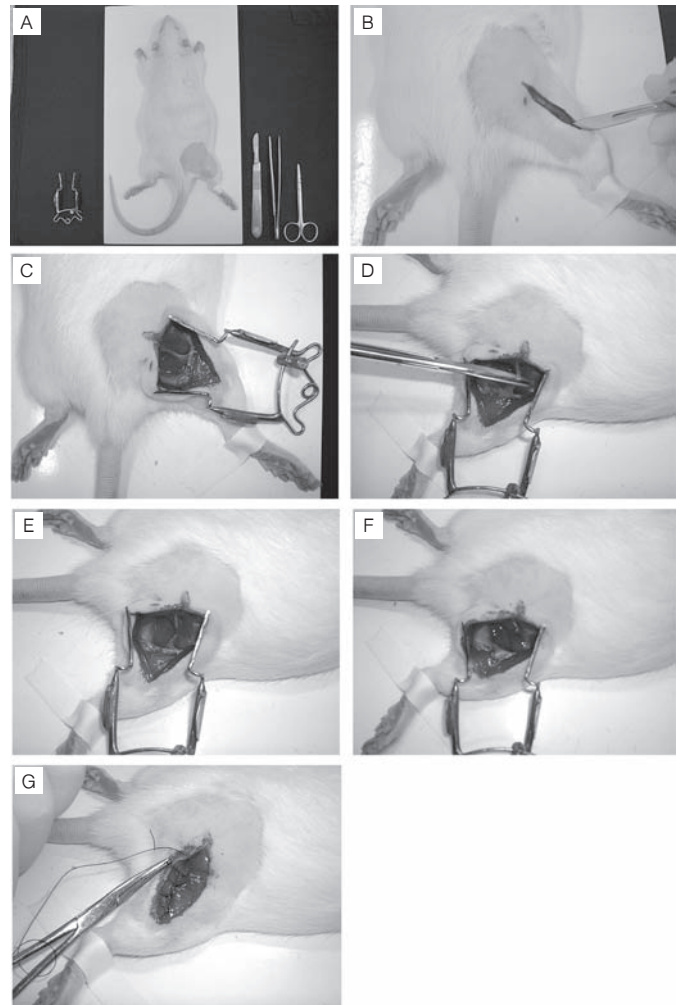


Figura 1 – Procedimento cirúrgico. A) posicionamento do animal; B) incisão cutânea; C) exposição do nervo ciático; D) secção do nervo ciático; E) nervo ciático seccionado; F) nervo ciático suturado em musculatura contralateral e G) sutura final.

mente a uma distância aproximada de 01 cm de sua emergência na coluna e seus cotos proximal e distal foram suturados (Prolene 6/0, Ethicon®) em musculatura adjacente, impedindo a reinervação do músculo tibial anterior. A musculatura e a pele dos animais foram posteriormente suturadas.

O músculo tibial anterior foi escolhido para ser desnervado devido à fácil localização e fácil visualização da contração muscular durante a avaliação e do tratamento, além da acessibilidade para colocação do eletrodo de superfície também nesses momentos do experimento.

Protocolo de tratamento através da eletroestimulação

O tratamento do músculo tibial anterior desnervado foi realizado 03 dias por semana, alternadamente, tendo um tempo indeterminado para cada sessão, dependendo da fadiga muscular (aos primeiros sinais de fadiga, a sessão era encerrada). Como sinal de fadiga foi considerado uma queda no vigor da contração muscular.

Ao início de cada semana de tratamento, os pontos indicativos de eletrodiagnóstico (reobase, cronaxia e acomodação) foram quantificados para que sempre fossem adaptados parâmetros de eletroestimulação a estado de excitabilidade atual do músculo.

Todo o procedimento de eletroestimulação foi realizado com um aparelho gerador universal de pulsos Nemesys 941, da Quark

(Figura 2). Para realização dos protocolos pré e pós-desnervação e para o tratamento do músculo tibial anterior desnervado, a colocação dos eletrodos foi padronizada: um eletrodo dispersivo (positivo) de metal com anteparo de esponja embebida em água e preso ao dorso do animal através de fita adesiva e eletrodo ativo (negativo) em forma de caneta, também com ponta embebida em água, com tamanho suficiente para estimular apenas a região do ponto motor do músculo eletroestimulado.

Os animais de cada grupo foram mortos por meio de deslocamento cervical após 07, 14, 28 e 52 dias do pós-cirúrgico e tiveram seus músculos tibiais anteriores experimentais retirados. Esses músculos foram pesados isoladamente em balança de precisão e suas extremidades distal e proximal foram excluídas.

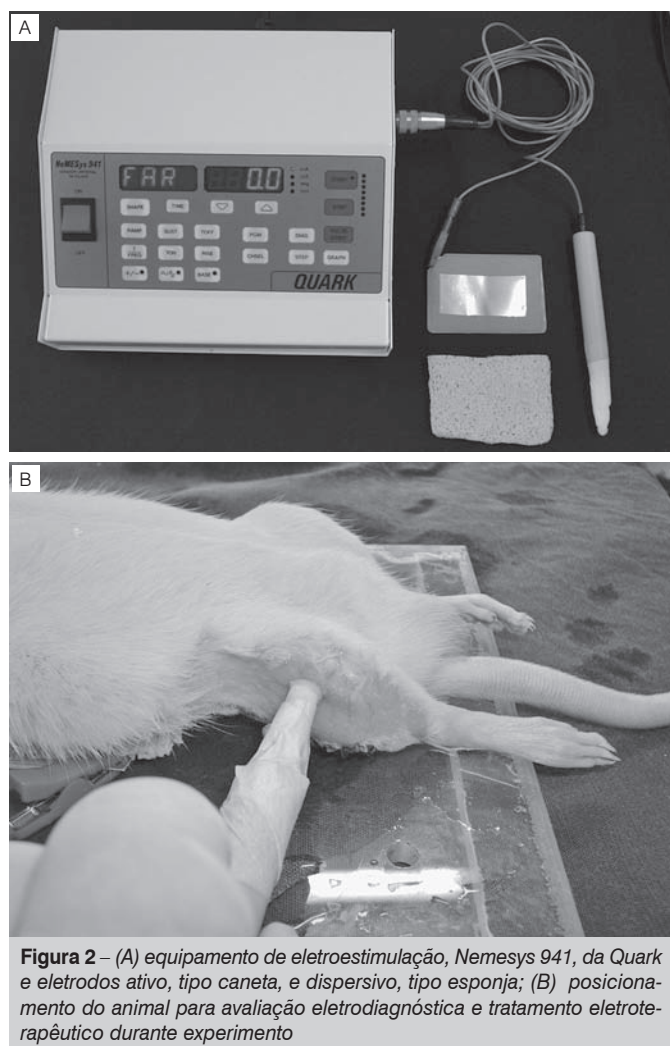


Figura 2 – (A) equipamento de eletroestimulação, Nemesys 941, da Quark e eletrodos ativo, tipo caneta, e dispersivo, tipo esponja; **(B)** posicionamento do animal para avaliação eletrodiagnóstica e tratamento eletroterapêutico durante experimento

Análise histoquímica dos músculos

O músculo tibial anterior foi exposto e retirado através de uma incisão distal no membro posterior direito, próxima a articulação do tornozelo. De cada músculo foi retirado um fragmento da porção média do ventre muscular. Tais fragmentos foram envolvidos em talco e submetidos ao congelamento em nitrogênio líquido. Após o congelamento, os fragmentos foram estocados em um freezer a -80°C até o processamento do material.

De todos os músculos foram obtidos cortes transversais com espessura de $5\ \mu\text{m}$ através de Criótomo Mícron HM 505 E a temperatura de -25°C . Os cortes foram colocados em lâminulas de

$24 \times 32\ \text{mm}$ e, posteriormente, montadas em lâminas. Os cortes foram processados para coloração de Hematoxilina-Eosina (HE) e reações histoenzimológicas para Adenosina Trifosfatase Miofibrilar (mATPases. E.C. 2.1.3.5.7.9.1) em valores de pH ácido e básico. Foi feita análise qualitativa das lâminas em microscópio óptico Leica DM 2500. Os aspectos gerais do tecido muscular esquelético foram avaliados nas colorações HE e os diferentes tipos de fibras musculares esqueléticas foram determinados pela reação de mATPase. Através do software UTHSCSA ImageTool, a análise morfométrica foi realizada após a captura das imagens a partir do microscópio óptico Leica DM 2500 pela câmera de vídeo digital Leica DFC 300FX, conectada a um microcomputador.

Análise da proporção

Para o músculo tibial anterior foram utilizadas apenas as lâminas pré-incubadas em pH 4.6, pois neste é possível identificar três tipos de fibras que compõe este músculo como as fibras tipo I (FT I), FT IIA, FT IIB e FT Híbridas. As mensurações foram realizadas a partir da obtenção de imagens colhidas em 3 campos aleatórios das lâminas do músculo tibial anterior.

Análise da área das fibras musculares

Em cada corte histológico foi mensurada a área de 100 fibras musculares, escolhidas de modo aleatório na região central da seção histológica.

Os dados estatísticos foram devidamente tratados e analisados através do teste U de Mann-Whitney com 5% de significância.

RESULTADOS

No dia da morte, o peso médio dos animais foi de 248g em G1, 247g em G1, 307,5g em G2, 312g em GII, 402,5g em G3, 365g em GIII, 508g em G4 e 439g em GIV.

Alterações Macroscópicas

Foi observado durante o período experimental, o comportamento de auto-mutilação dos dedos das patas traseiras que haviam sofrido desnervação. Os animais roeram dedos e patas devido à ausência da sensibilidade e do não reconhecimento daquela extremidade como parte integrante de seu próprio corpo. O mesmo não aconteceu com os animais submetidos ao tratamento com estimulação elétrica.

Observamos ainda a contratura em flexão da articulação do tornozelo dos animais desnervados e não-estimulados nos grupos de 28 e 56 dias. Tal articulação estava rígida, não cedendo a manipulação. Os animais submetidos à estimulação não sofreram esse tipo de comprometimento.

Estimulação Elétrica

Os animais dos grupos desnervados e estimulados foram submetidos ao exame de eletrodiagnóstico e, após a determinação dos parâmetros específicos para estimulação elétrica transcutânea dos músculos, foram submetidos aos respectivos tratamentos seletivos. Na primeira semana após a desnervação, todos os animais estimulados tiveram seus músculos faradizáveis, ou seja, respondendo a uma corrente farádica. Após a primeira semana, os parâmetros de estimulação elétrica ($T =$ tempo de estímulo-largura do pulso e cronaxia) foram gradativamente aumentando, evidenciando a necessidade do músculo desnervado em responder a estímulos de alta intensidade e duração. Essas alterações mostram as mudanças na excitabilidade sofridas pelo músculo esquelético após sua desnervação.

As frequências de estimulação, diretamente relacionadas aos parâmetros de largura e duração de pulso, também variaram no decorrer do experimento, inicialmente, aos 7 dias de experimento, os músculos desnervados responderam a uma frequência de es-

timulação de 50 Hz que foi gradativamente caindo e atingindo os valores mínimos de 10 Hz aos 14 dias, 3 Hz aos 28 dias e 1 Hz aos 56 dias de desnervação.

Os valores de cronaxia, ao contrário da frequência de estimulação, aumentaram gradativamente, tendo seus valores iniciais em 0,1 ms, compatível com valores de músculos normalmente inervados, e atingindo 5 ms ao final do experimento.

O ponto-motor, região de maior excitabilidade do músculo, encontrou-se descaracterizado nos grupos desnervados e estimulados no período de 7 dias e 14 dias. Nesses períodos, tais pontos encontravam-se mais distal ao ventre muscular, próximos ao tendão de inserção do músculo tibial anterior. Nos grupos desnervados e estimulados no período de 28 dias e 56 dias houve um retorno do ponto motor à região do ventre muscular.

Morfologia

Os cortes transversais do músculo tibial anterior no grupo controle apresentaram fibras poliédricas ou hexagonais, multinucleadas, com núcleos periféricos e achatados. A progressão da desnervação evidenciou fascículos musculares mais definidos, contornos das fibras musculares mais irregulares e com aspecto arredondado além de núcleos arredondados e centralizados, e com alterações discrômicas em seu interior. Tais alterações puderam ser observadas a partir do grupo GII (14 dias apenas desnervado). Observamos ainda que os músculos desnervados e estimulados sofreram alterações semelhantes aos apenas músculos desnervados, mas que demoraram mais tempo para se instalar. Estas foram notadas a partir do grupo G3 (28 dias desnervado e estimulado).

Morfometria

Número de fibras musculares

A quantidade dos diferentes tipos de fibras musculares no músculo tibial anterior foi reduzida em todos os quatro grupos de estudo quando comparados os grupos apenas desnervados aos desnervados e estimulados. Tais modificações podem ser observadas no gráfico representada pela figura 3. Houve diferença significativa no período de 7 dias em FT IIB ($p=0,01855$) e FT híbridas ($p=0,001528$), no período de 14 dias em FT híbridas ($p=0,01771$), no período de 28 dias em FT IIA ($p=0,01097$) e FT híbridas ($0,03808$) e no período de 56 dias em FT IIB ($p=0,001122$).

Área das fibras musculares

As áreas dos diferentes tipos de fibras sofreram modificações diferenciadas nos períodos avaliados. Observou-se aumento da área de FT I e FT híbridas enquanto FT IIA e FT IIB sofreram redução nessa medi-

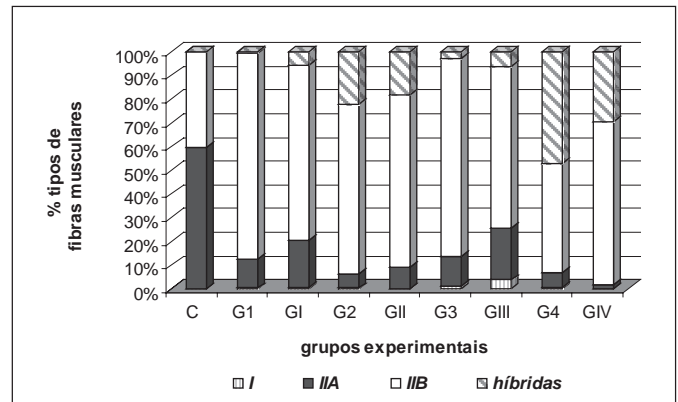


Figura 3 – Porcentagem dos diferentes tipos de fibra muscular (tipo I, IIA, IIB e híbridas) encontrados nos músculos tibial anterior nos diferentes grupos experimentais: C – controle, G1 – desnervado e estimulado 7 dias, GII – desnervado 7 dias, G2 – desnervado e estimulado 14 dias, GIII – desnervado 14 dias, G3 – desnervado e estimulado 28 dias, GIV – desnervado 28 dias, G4 – desnervado e estimulado 56 dias, GIV – desnervado 56 dias.

da. Os valores das áreas de tais fibras musculares podem ser observados na Tabela 1. Houve diferença significativa nos valores das áreas de FT IIB ($p=0,0191$) no período de 7 dias, de FT IIA ($p=0,000001$) e FT híbridas ($p=0,0008$) no período de 28 dias e de FT IIA ($p=0,00001$) e FT híbridas ($p=0,0000001$) no período de 56 dias.

DISCUSSÃO

Macroscopicamente, a ausência de contração da articulação do tornozelo nos animais cujos músculos tibiais anterior foram desnervados e estimulados exemplificou uma das ações benéficas desse tratamento. A desnervação do músculo tibial anterior provocou um desequilíbrio entre os músculos que envolvem a articulação do tornozelo e a manutenção dessa situação durante todo o período do experimento, provavelmente contribuiu para a instalação de um quadro de fibrose e encurtamento permanente da cápsula articular deixando a articulação rígida.¹² A estimulação elétrica do músculo desnervado através de um regime de tratamento constante (três vezes por semana) promoveu a contração do músculo tibial anterior, mobilizando tal articulação, prevenindo a contração. A influência da estimulação elétrica também pôde ser observada na ausência de atitudes auto-mutiladoras nos animais desnervados e estimulados. A mudança da localização do ponto motor, ponto de maior excita-

Tabela 1 – Valores numéricos das áreas (média e desvio-padrão) dos diferentes tipos de fibras nos diferentes grupos experimentais: C – controle, G1 – desnervado e estimulado 7 dias, GII – desnervado 7 dias, G2 – desnervado e estimulado 14 dias, GIII – desnervado 14 dias, G3 – desnervado e estimulado 28 dias, GIV – desnervado 28 dias, G4 – desnervado e estimulado 56 dias, GIV – desnervado 56 dias. Os valores em negrito seguidos de asterisco são os com significância estatística ($p < 0,05$).

		C	G1	GII	G2	GIII	G3	GIV	G4	GIV
			d + ee	d	d + ee	d	d + ee	d	d + ee	d
		7 dias			14 dias		28 dias		56 dias	
I	média		42,9946	41,97	34,481	31,387	52,7924	57,792	66,4467	37,16
	dp		20,1683	12,2719	12,4606	13,6287	37,1504	23,6115	52,1862	27,577
IIA	média	71, 4178	30,023	30,645	29,4594	29,267	34,0108*	24,5424*	51,4803*	11,5069*
	dp		7,64311	7,98806	7,6566	8,3142	18,5174	9,8668	24,3084	3,7089
IIB	média	66,5205	45,2475*	42,7195*	31,3497	31,9325	33,5214	34,5381	50,8485	45,7298
	dp	28,23	17,5955	14,6703	8,0781	9,5325	24,2925	17,1058	33,7254	27,0552
Híbridas	média		44,1006	41,4598	28,4427	28,7653	25,9649*	36,2871*	52,8664*	10,5344*
	dp		11,8472	15,5151	7,3053	8,534	16,9234	17,5918	29,9089	3,3818

bilidade devido a maior sensibilidade à acetilcolina, observada nos músculos desnervados foi compatível com outros estudos.^{5,13} Um músculo esquelético normal possui uma maior sensibilidade a acetilcolina na região da sua placa motora que, na grande maioria das vezes esta localizada no ventre muscular. Secundária a essa região de maior excitabilidade, uma porção próxima a região miotendínea apresentou também uma maior sensibilidade a acetilcolina, consequentemente de maior excitabilidade, intermediária entre a placa motora e o restante da fibra muscular. Após a desnervação, toda a região da fibra muscular esquelética torna-se sensível a acetilcolina e consequentemente, mais excitável, como estímulo a reinervação.^{5,13} A maior excitabilidade pós-desnervação na região distal do músculo observada neste experimento durante as primeiras duas semanas confere com a segunda região de maior excitabilidade do músculo, já que a primeira região, a placa motora, estava descaracterizada devido à desnervação. O retorno do ponto motor a região central do ventre muscular após esse período foi provavelmente devido a influência da estimulação elétrica externa. Dessa forma, o tratamento através da estimulação elétrica serviu como estímulo para que as fibras musculares se adaptassem a reinervação, retomando suas características originais a espera desse acontecimento.

As alterações morfológicas sofridas pelos músculos desnervados observadas neste estudo foram compatíveis com outros achados na literatura. Guth¹³ caracterizou alterações morfológicas evidentes a partir de 14 dias de desnervação semelhantes às aqui observadas como a forma dos núcleos das fibras musculares que se tornaram mais arredondados e mais centralizados além da presença de alteração da coloração central. Tais características foram sugestivas da proliferação nuclear, indicando assim uma adaptação do músculo à desnervação.¹⁴

A principal alteração sofrida pelo músculo esquelético desnervado foi a atrofia por desuso.¹⁵ Ela foi uma das principais justificativas para a utilização da estimulação elétrica nesses casos, para a sua prevenção.¹⁶⁻¹⁸ A redução na área das fibras musculares após a desnervação foram observada neste estudo apenas nos grupos desnervados e foi compatível com os achados na literatura. Vários estudos relataram redução significativa da área de secção transversa das fibras musculares nas primeiras duas semanas após a desnervação.¹⁵ Eles consideraram que ao final das três semanas após esse procedimento, houve uma redução de 80% da área das fibras musculares quando comparadas com fibras normais.¹⁹

O papel da estimulação elétrica no retardo e/ou na prevenção da atrofia do músculo desnervado foi alvo de inúmeras publicações.

No presente estudo, a frequência da estimulação variou durante todo o período do experimento de acordo com a excitabilidade do músculo desnervado. Dessa forma, não houve um padrão pré-programado de estimulação desses músculos. Esta estimulação elétrica mostrou-se eficiente na manutenção da área das fibras musculares dos tipos IIB aos 7 dias de experimento. A frequência manteve-se em 50 Hz, e nas fibras do tipo IIA aos 28 dias (f entre 50 Hz e 3 Hz) e aos 56 dias (f entre 50 Hz e 1 Hz). Além dessas fibras de contração rápida, características do músculo tibial anterior estudado, as fibras híbridas, que surgiram a partir da primeira semana de desnervação, também tiveram sua área mantida significativamente através da estimulação elétrica fornecida aos 56 dias de experimento, com frequência variando entre 50 Hz e 1 Hz.

A transição dos tipos de fibra também pôde ser observada no processo de desnervação do músculo tibial anterior e sofreu alterações frente ao tratamento com estimulação elétrica. Os achados deste experimento estão de acordo com alguns resultados já apresentados em outros trabalhos.^{2,3} Os músculos desnervados e eletroestimulados, aos 7 dias, apresentaram uma manutenção do padrão dos tipos de fibra correspondente ao tibial anterior com predomínio das fibras tipo IIB e aumento significativo das fibras híbridas nos músculos apenas desnervados nesse mesmo período. A partir desse período, a estimulação elétrica foi incapaz de manter o padrão de tipos de fibra do músculo tibial anterior desnervado. Com 14 dias, os músculos desnervados e estimulados sofreram transição de fibras tipo IIB para fibras híbridas, que aumentaram significativamente. Após esse período, nenhuma diferença significativa nos músculos desnervados e estimulados foi observada. O papel da estimulação elétrica na manutenção das características do músculo desnervado restringiu-se aos períodos iniciais de estimulação.

CONCLUSÃO

A estimulação elétrica foi capaz de:

- 1 – Manter a amplitude de movimento do tornozelo, sem sinais de auto-mutilação nos animais cujos músculos sofreram desnervação;
- 2 – Prorrogaram as alterações morfológicas características da desnervação por um período de 28 dias;
- 3 – Permitiu a manutenção da quantidade significativa das fibras musculares do tipo IIB realizada nos primeiros 7 dias de desnervação mantendo as características de músculo de contração rápida do tibial anterior.

REFERÊNCIAS

1. Junqueira LCU, Carneiro J. Tecido muscular. In: Histologia básica – texto e atlas. 11a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2008.
2. Pette D, Staron RS. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc Res Tech*. 2000;50:500-9.
3. Pette D, Staron RS. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem Cell Biol*. 2001;115:359-72.
4. Engel AG, Franzini-Armstrong C. *Miology - basic and clinical*. 2th ed. New York: McGraw-Hill; 1993.
5. Lieber RL. *Skeletal muscle structure, function & plasticity: the physiological basis of rehabilitation*. 2th ed. San Diego: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.
6. Adami N, Biral D, Caccavale S, Rossini K. Histology of the long term denervated rat muscle. *Basic Appl Myol*. 2006;16:113-4.
7. Al-Amood WS, Lewis DM, Schmalbruch H. Effects of chronic electrical stimulation on contractile properties of long-term denervated rat skeletal muscle. *J Physiol*. 1991;441:243-56.
8. Herbison GJ, Teng C, Reyes T, Reyes O. Effect of electrical stimulation on denervated muscle of rat. *Arch Phys Med Rehabil*. 1971;516-22.
9. Nix WA. Effects of intermittent high frequency electrical stimulation on denervated EDL muscle of rabbit. *Muscle Nerve*. 1990;13:580-5.
10. Fischer E. The effect of faradic and galvanic stimulation upon the course of atrophy in denervated skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1939;127:605-18.
11. Castro CES, Longo GJ, Parizotto NA. A importância do eletrodiagnóstico de estímulo na terapia excitomotora. *Rev Paul Fisioter*. 1980;2:54-68.
12. Sunderland SS. *Nerves injuries and their repair: a clinical appraisal*. Philadelphia: Churchill Livingstone; 1991.
13. Guth L. "Trophic" influences of nerve on muscle. *Physiol Rev*. 1968;48:645-87.
14. Lewis DM, al-Amood WS, Schmalbruch H. Effects of long-term phasic electrical stimulation on denervated soleus muscle: guinea-pig contrasted with rat. *J Muscle Res Cell Motil*. 1999;18:573-86.
15. Sakakima H, Yoshida Y, Morimoto N, Sakae K. The effect of denervation and subsequent reinnervation on the morphology of rat soleus muscle. *J Phys Ther Sci*. 2002;14:21-6.
16. Valencic V, Vovovnik L, Stefancic M, Jelnicar T. Improved motor response due to chronic electrical stimulation of denervated tibialis anterior muscle in humans. *Muscle Nerve*. 1986;9:612-7.
17. Salter AD, Richmond FJR, Loeb GE. Prevention of muscle disuse atrophy by low-frequency electrical stimulation in rats. *IEEE*. 2003;11:3:218-26.
18. KANAYA F, TAJIMA T. Effect of electrostimulation on denervated muscle. *Clin Orthop Relat Res*. 1992;(283):296-301.
19. Stonnington HH, Engel AG. Normal and denervated muscle – a morphometric study of fine structure. *Neurology*. 1973;23:714-24.