

# PROPRIEDADES MECÂNICAS DO GASTROCNÊMIO ELETROESTIMULADO PÓS-IMOBILIZAÇÃO

## MECHANICAL PROPERTIES OF GASTROCNEMIUS ELETTROSTIMULATED AFTER IMMOBILIZATION

LEONARDO CÉSAR CARVALHO, JULIANA CRISTINA POLIZELLO, NATALIA PADULA, FERNANDO CASSIOLATO FREITAS, ANTONIO CARLOS SHIMANO, ANA CLAUDIA MATTIELLO-SVERZUT

### RESUMO

**Introdução:** As propriedades mecânicas (PM) consistem num instrumento de aplicabilidade clínica para profissionais de saúde que atuam no sistema músculo-esquelético. **Objetivos:** Avaliar dois protocolos de estimulação elétrica neuromuscular (NMES) na potencialização do restabelecimento das PM no complexo músculo-tendíneo após imobilização segmentar de ratas. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 50 animais distribuídos em: Controle (GC, n=10); Imobilizado (GI, n=10); Imobilizado e remobilizado livre (GIL, n=10), Imobilizado e NMES uma vez ao dia (GIE1, n=10) e Imobilizado e NMES duas vezes ao dia (GIE2, n=10). A imobilização foi realizada por 14 dias. O GIL foi liberado posteriormente por 10 dias. A NMES foi aplicada pós-imobilização por 10 dias, GIE1 aplicado pela manhã (10 minutos) e, GIE2 aplicado pela manhã e à tarde (totalizando 20 minutos). Posteriormente, o músculo gastrocnêmio foi submetido ao ensaio mecânico de tração sendo as PM de rigidez, resiliência, carga e o alongamento no limite máximo avaliadas. **Resultados:** A imobilização reduziu os valores das propriedades de carga e rigidez ( $p < 0,05$ ). A NMES utilizada duas vezes ao dia determinou resultados menos satisfatórios das PM avaliadas que àqueles obtidos uma vez ao dia e no grupo remobilizado ( $p > 0,05$ ). **Conclusão:** O músculo gastrocnêmio tornou-se estruturalmente mais organizado frente à aplicação unitária da NMES e na remobilização.

**Descritores:** Imobilização. Estimulação elétrica. Músculo esquelético.

**Citação:** Carvalho LC, Polizello JC, Padula N, Freitas FC, Shimano AC, Mattiello-Sverzut AC. Propriedades mecânicas do gastrocnêmio eletroestimulado pós-imobilização. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2009; 17(5):269-72. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

### ABSTRACT

**Introduction:** Mechanical properties (MP) are clinically applicable tools for healthcare professionals working on the musculoskeletal system. **Objectives:** The aim of this study was to evaluate two protocols of neuromuscular electric stimulation (NMES) to improve MP regeneration of the myotendinous complex after segment immobilization in female rats. **Materials and Methods:** Fifty animals were equally distributed into five groups: Control (CG, n=10); Immobilized (IG, n=10); Immobilized and freely remobilized (IFG, n=10); Immobilized and NMES once /day (IEG1, n=10); Immobilized and NMES twice/day (IEG2, n=10). Immobilization was kept for 14 days, and remobilization was subsequently released for 10 days. NMES was applied for 10 days, post-immobilization, every morning for 10 minutes to IEG1 animals and every morning and afternoon (total 20 minutes) to the IEG2 group. After these procedures, the gastrocnemius muscle was submitted to the mechanical traction assay to evaluate stiffness, resilience, load and stretching at maximum limit MPs. **Results:** Immobilization reduced the MP values concerning load and stiffness ( $p < 0.05$ ). Results for NMES applied twice a day were less satisfactory than the ones obtained with one application or in the remobilized group ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** It is concluded that the gastrocnemius muscle became structurally better organized through a single NMES application and by remobilization.

**Keywords:** Immobilization. Electrical Stimulation. Muscle skeletal.

**Citation:** Carvalho LC, Polizello JC, Padula N, Freitas FC, Shimano AC, Mattiello-Sverzut AC. Mechanical properties of gastrocnemius electrostimulated after immobilization. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2009; 17(5):269-72. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

### INTRODUÇÃO

A imobilização segmentar<sup>1,2</sup>, atividade física<sup>1</sup>, estimulação elétrica neuromuscular (NMES)<sup>3</sup>, dentre outras formas de estímulos externos<sup>4</sup> são capazes de promover alterações nas propriedades mecânicas do músculo esquelético, tendão e osso.

As propriedades mecânicas dos tecidos apresentam duas fases distintas: a elástica, que representa a extensibilidade tecidual sem desencadeamento de ruptura e a plástica, onde falhas estruturais teciduais são encontradas. Quando um músculo esquelético é passivamente tensionado sem desencadear contração, uma resistência mensurável pode

ser obtida. Esse comportamento tem nome definido como rigidez muscular, elasticidade, extensibilidade ou tônus muscular passivo.<sup>5,6</sup> O complexo músculo-tendíneo apresenta distintos constituintes estruturais responsáveis por realizar suporte de cargas tensionais evitando possíveis rupturas. Tendão, fascia, fascículos, proteínas contráteis e citoarquiteturais representam um conjunto de estruturas que oferecem resistência às forças externas.<sup>7</sup> Estas forças são capazes de alterar a forma e o tamanho do músculo, além de serem influenciadas diretamente pela temperatura do tecido, quantidade e duração da força empregada.<sup>4,7</sup>

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.

Trabalho realizado no Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Endereço de correspondência: Ana Cláudia Mattiello-Sverzut: Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do aparelho locomotor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Av. Bandeirantes, 3900 - 11º Andar - Monte Alegre- Ribeirão Preto - SP, Brasil. CEP: 14048-900 - Email: [acms@fmrp.usp.br](mailto:acms@fmrp.usp.br)

Trabalho recebido em 13/03/08 aprovado em 23/09/08

Algumas estruturas respondem por esse comportamento dentre elas destacam a matrix extracelular<sup>5,6</sup> e a titina<sup>2</sup> tidas como responsáveis pela resistência viscoelástica do complexo músculo-tendíneo.

A propriedade de rigidez pode revelar que o tecido é capaz de promover pequeno alongamento e suportar carga elevada. Mathews et al.<sup>3</sup> afirmaram que esta propriedade quando expressa de modo reduzido pode deixar o músculo suscetível a lesões quando submetido à tensão.

Schleip et al.<sup>8</sup> levantaram a hipótese de que tecido conjuntivo intramuscular, especificamente sua camada mais superficial, o perimísio, seria capaz de se adaptar de modo mais intenso aos estímulos mecânicos externos a ponto de aumentar sua espessura e finalmente, via síntese de colágeno pelos fibroblastos, aumentar a rigidez do músculo.

A imobilização de um segmento é utilizada para o tratamento de lesões músculo-esqueléticas e, conhecidamente, induz alterações deletérias, na massa, na extensibilidade, na força e na resistência da musculatura, associada ao aumento de tecido conjuntivo intramuscular<sup>9</sup> e ainda, alterações ligamentares e rigidez articular.<sup>10</sup> É relatado que após 48 horas de imobilização o músculo desenvolve atrofia e que após 7 dias ocorre redução em 37% de sua massa.<sup>11,12</sup> Willians et al.<sup>11</sup> demonstraram que associado à redução do comprimento longitudinal das fibras, há significativa redução de sarcômeros em série, aumento de tecido conjuntivo perimisial e endomisial. Outros autores confirmaram estes dados utilizando modelos experimentais complementares.<sup>13</sup>

Paralelo a estes achados tem sido sugerido que o aumento de tecido conjuntivo intramuscular<sup>8</sup> e a desorganização macromolecular de seus constituintes determinam modificações significativas das propriedades mecânicas do músculo que sofreu imobilização.<sup>5</sup>

A estimulação elétrica neuromuscular (NMES) é um recurso que comprovadamente preserva a área de secção transversa de um músculo e a síntese de proteínas, minimizando a atrofia induzida pela imobilização.<sup>7,14,15</sup> Quando aplicada durante o período de imobilização, foi capaz de evitar o aumento de tecido conjuntivo.<sup>11</sup> Em situações similares à anterior, este recurso promoveu manutenção das propriedades mecânicas de rigidez, carga e alongamento no limite proporcional.<sup>3</sup>

A avaliação das propriedades mecânicas dos tecidos consiste numa ferramenta de grande utilidade para o estabelecimento de protocolos clínico/cirúrgicos e programas de reabilitação, pois fornece conhecimento relevante sobre as possíveis adaptações que ocorrem nos músculos, tendões, ligamentos e ossos frente a estímulos externos.

Em paralelo, a utilização de NMES associada ao período de imobilização tem sido relatada em alguns estudos, porém os protocolos utilizados são variados<sup>3,11</sup> e os resultados obtidos são inconsistentes. Portanto, este estudo analisou algumas propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas que sofreram imobilização gessada e foram posteriormente, uma e duas vezes ao dia, em períodos distintos, remobilizadas por NMES ou sofreram livre mobilização.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Animais

Foram utilizadas 50 ratas (*Rattus Norvegicus Albinus*) da variedade Wistar, adultas jovens, com massa corporal média de  $200 \pm 30$ g, fornecidas pelo Biotério Central da Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo (USP).

### Grupos experimentais

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso Animal (CEUA) - Universidade de São Paulo - Campus Ribeirão Preto - SP (Protocolo nº 06.1.692.53.8).

Os animais foram divididos em 5 grupos (n=10): Controle (GC) – os animais desse grupo não receberam intervenção sendo mantidos por 24 dias em gaiolas no biotério do Laboratório de Bioengenharia da Universidade de São Paulo com água e ração *ad libitum*; Imobilizado (GI) – os músculos gastrocnêmios deste grupo foram imobilizados por 14 dias em posição de encurtamento; Imobilizado e mobilizado livre (GIL) os animais desse grupos foram previamente imobilizados por 14 dias e em seguida liberados na gaiola por 10 dias com água e ração *ad libitum*. Imobilizado e eletroestimulado uma vez ao dia (GIE1) esse grupo foi imobilizado por 14 dias e, posteriormente, submetido a técnica de NMES aplicada por 10 dias consecutivos, uma vez ao dia, por 10 minutos diários; Imobilizado e submetido a NMES duas vezes ao dia (GIE2) os animais foram imobilizados por 14 dias e submetido ao mesmo protocolo de NMES do GIE1, no entanto realizado duas vezes ao dia em períodos distintos, sendo uma aplicação pela manhã e outra a tarde, com intervalo de 6 horas entre as aplicações. Não houve perda amostral durante a execução dos grupos experimentais. A massa corpórea média inicial dos animais foi de  $202,08 \pm 15,91$ g e a final de  $233,33 \pm 16,57$ . A idade dos animais estava entre 42 e 49 dias. Após as intervenções, os animais foram submetidos à eutanásia por meio de uma dose excessiva de cloridrato de ketamina (80mg/kg) e cloridrato de xilazina (15mg/kg) via intraperitoneal, em seguida tiveram o músculo gastrocnêmio dissecado mantendo as inserções proximais ao fêmur e distal no calcâneo o que permitiu a fixação do músculo à máquina universal de ensaios mecânicos de tração longitudinal. Até o momento de realização do ensaio o músculo gastrocnêmio foi mantido em uma solução fisiológica 0,9% de cloreto de sódio (NaCl) e a temperatura de 25°C.

### Imobilização

A imobilização do membro posterior direito dos animais foi realizada após aplicação de anestésico intramuscular, sendo elaborado um aparelho gessado que incluía a pelve, quadril, joelho em total extensão e tornozelo em flexão plantar máxima como previamente descrito.<sup>4</sup> Neste método os músculos gastrocnêmios e sóleos permaneceram em posição de encurtamento, principalmente devido ao posicionamento em flexão plantar máxima, o que permite a aproximação entre a origem e inserção de ambos os músculos.

### Estimulação elétrica neuromuscular (NMES)

Foi utilizado um equipamento de estimulação elétrica neuromuscular da marca Bioset® modelo *Physiotonus Four*, com unidades geradoras de baixa frequência, bifásica, (despolarizada), assimétrica e pulsos de pequena duração, aplicados sob frequência controlada. Para a condução do estímulo elétrico ao músculo foram utilizados dois eletrodos. O primeiro tido como dispersivo com 6cm<sup>2</sup> de área, foi fixado à região lombar e o segundo denominado de ativo, em forma de caneta, com 0,5cm de diâmetro foi aplicado sobre o ponto motor do músculo gastrocnêmio direito.

Uma camada de gel entre os eletrodos e as regiões de contato foi aplicada para permitir melhor contato entre a pele e os eletrodos, facilitando a condução do estímulo elétrico.

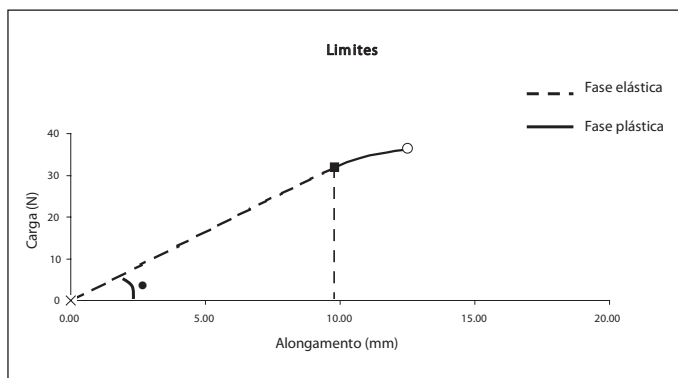
Os parâmetros utilizados para estimulação dos animais foram: frequência de 50Hz<sup>2</sup>, ciclo *on* de 8s, ciclo *off* de 22s e intensidade de aproximadamente 1mA (resistência de 100Ω), capaz de promover uma contração sustentada e visível do músculo. Antes do desenvolvimento da técnica de estimulação elétrica todos os animais foram submetidos à tricotomia das regiões lombar e porção ventral do músculo gastrocnêmio direito. Tal medida foi adotada para facilitar a condução da corrente elétrica. Durante a realização do procedimento de NMES o joelho permaneceu em extensão e o tornozelo em flexão plantar o que deixava os músculos em posição de encurtamento. Durante o período de tratamento pela NMES os animais foram previamente anestesiados com associação de cloridrato de ketamina

(80mg/kg) e cloridrato de xilazina (15mg/kg), na dose de 0,05ml da mistura para cada 100 gramas de massa corporal via intramuscular. No grupo eletroestimulado apenas uma vez ao dia, a NMES foi realizada por 10 dias consecutivos com tempo de estimulação de 10 minutos diários, sendo desenvolvida 20 contrações e tendo sido aplicada no mesmo período do dia, pela manhã. Quando utilizada duas vezes ao dia a NMES foi aplicada uma vez pelo período da manhã e outra à tarde com intervalo de seis horas entre os procedimentos totalizando um tempo de aplicação de 20 minutos e um número total de 40 contrações. Em ambos protocolos de NMES não foi identificado fadiga.

### Ensaio de tração

O ensaio de tração do músculo gastrocnêmio das ratas foi realizado utilizando a máquina universal de ensaio EMIC® - modelo DL10000, equipada com uma célula de carga 50Kgf, pertencente ao Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. Foi utilizado um acessório especial que permitiu a fixação do fêmur e da pata do animal preservando a origem e inserção do músculo. Após a fixação do músculo aos acessórios da máquina universal de ensaios, este foi submetido à tração axial. Os parâmetros adotados para o ensaio foram pré-carga de 0,30Kgf, velocidade do ensaio de 10mm/min, limites de carga e alongamento de 8,00Kgf e 25mm, respectivamente os ensaios foram realizados até o momento de ruptura dos músculos e seguiu protocolo descrito.<sup>1,3</sup>

Por intermédio de uma interface com um microcomputador (equipado com o software Tesc®) foi gerado um gráfico carga versus alongamento para cada ensaio. (Figura 1) As propriedades mecânicas avaliadas foram rigidez, carga e alongamento no limite máximo. A rigidez, que corresponde à tangente do ângulo formado pela reta obtida na fase elástica do músculo (representada em N/m), demonstrando a relação entre a carga e o alongamento durante a fase elástica. A carga no limite máximo (CLM) demonstra o maior valor de carga registrado na fase plástica antes do músculo se romper totalmente, sendo representada em Newtons (N). O alongamento no limite máximo (ALM), demonstra a máxima capacidade do músculo em se deformar na fase plástica quando imposto carga tracional sem a ocorrência de ruptura completa, é expresso em metros ( $\times 10^{-3}$ m).



**Figura 1** – Curva carga vs alongamento obtida nos ensaio mecânico dos músculos. O ■ representa o ponto referente a carga e o alongamento no limite de proporcionalidade (LP) obtidos na fase elástica. A tangente do ângulo  $\alpha$  representa os valores de rigidez. A área do triângulo representa a energia absorvida na fase elástica (resiliência). O ○ representa os valores de carga e alongamento no limite máximo (LM)

### Análise estatística

Inicialmente os resultados tiveram a normalidade testada utilizando o método de Kolmogorov e Smirnov. Para comparação entre os grupos foi utilizado os testes ANOVA e Tukey-Kramer, sendo adotado um nível de significância 5%.

## RESULTADOS

A imobilização reduziu significativamente os valores das propriedades de rigidez, carga e alongamento nos limites máximo dos músculos gastrocnêmios em relação aos músculos do grupo controle ( $p < 0,05$ ). (Tabela 1) Considerando as propriedades de carga e rigidez, os músculos dos animais submetidos à imobilização apresentaram valores inferiores em relação aos obtidos pela aplicação dos protocolos de NMES (uma vez e duas vezes ao dia). (Tabela 1) A remobilização por NMES aplicada uma e duas vezes ao dia devolveu ao músculo a propriedade mecânica de carga similares às condições controle (GC vs GIE1, GC vs GIE2  $p > 0,05$ ), entretanto a propriedade de alongamento no limite máximo não foi restabelecida. (Tabela 1)

**Tabela 1** – Valores de médias e respectivos desvios-padrão das propriedades mecânicas de rigidez, carga e alongamento no limite máximo nos diferentes grupos estudados

	CARGA (N)	ALONGAMENTO ( $\times 10^{-3}$ m)	RIGIDEZ ( $\times 10^3$ N/m)
GC	33.19 $\pm$ 1.66 <sup>#</sup>	12.73 $\pm$ 1.19 <sup>#,▲,●</sup>	3.62 $\pm$ 0.33 <sup>●</sup>
GI	17.85 $\pm$ 5.71 <sup>▲,●,♦</sup>	9.96 $\pm$ 2.61 <sup>♦</sup>	1.83 $\pm$ 0.71 <sup>▲,●,♦</sup>
GIL	34.42 $\pm$ 5.55 <sup>#</sup>	11.37 $\pm$ 1.63 <sup>#,▲,●</sup>	3.43 $\pm$ 0.64 <sup>#</sup>
GIE1	31.36 $\pm$ 4.50 <sup>#</sup>	8.55 $\pm$ 1.45	4.24 $\pm$ 0.96 <sup>#</sup>
GIE2	28.44 $\pm$ 3.59 <sup>#</sup>	7.61 $\pm$ 1.28	4.74 $\pm$ 0.62 <sup>#</sup>

■:  $p < 0,05$  (comparado com GC); #:  $p < 0,05$  (comparado com GI); ▲:  $p < 0,05$  (comparado com GIE1); ●:  $p < 0,05$  (comparado com GIE2); ♦:  $p < 0,05$  (comparado com GIL).

Quando avaliada a propriedade de rigidez, a NMES aplicada uma vez ao dia (GC vs GIE1,  $p > 0,05$ ), assim como a liberação dos animais (GC vs GIL  $p > 0,05$ ) favoreceram o restabelecimento dessa propriedade, enquanto a NMES aplicada duas vezes ao dia determinou valores superiores aos obtidos na condição controle (GC vs GIE2,  $p < 0,05$ ).

Os valores médios e desvios obtidos na análise das diferentes propriedades para os diferentes grupos experimentais estudados são observados na Tabela 1.

## DISCUSSÃO

A imobilização de um segmento corpóreo é capaz de reduzir as propriedades mecânicas do complexo músculo-tendíneo.<sup>1,3,5</sup> Paralelamente é sabido que a imobilização altera a orientação das fibras de colágeno<sup>5</sup>, promove a atrofia das fibras musculares<sup>13</sup>, reduz a extensibilidade de proteínas sarcoméricas (titina) e suas isoformas ( $\alpha$  e  $\beta$ )<sup>2</sup>, além de promover modificações na matrix extracelular<sup>6</sup> tidas como as prováveis causas para a redução das propriedades mecânicas avaliadas neste estudo.

Quando um segmento corpóreo é imobilizado os músculos estão sujeitos a adaptações que podem deixá-los susceptíveis a lesões posteriores por estresse mecânico<sup>5,9</sup>, no entanto, algumas destas alterações podem ser prevenidas ou mesmo revertidas com a utilização de técnicas remobilização.<sup>1</sup> Em nosso estudo, os métodos de remobilização adotados foram a NMES e a liberação dos animais em gaiolas.

Os resultados obtidos demonstram que a rigidez reduziu consideravelmente no grupo imobilizado se comparado aos demais grupos, corroborando com achados obtidos por outros pesquisadores.<sup>1,3,5</sup> Quando aumentada, a propriedade em questão revela que o músculo é capaz suportar alta carga e apresentar pequeno alongamento. Tal alteração pode estar presente nos casos de encurtamento muscular e em locais que sofreram lesão, com subsequente formação de tecido cicatricial, pois ambos alteram as configurações das fibras de colágeno reduzindo a capacidade de alongamento do tecido.<sup>5</sup> Em nosso estudo observamos que os grupos submetidos

à NMES uma e duas vezes ao dia apresentaram os maiores valores de rigidez e os menores valores de alongamento no limite máximo quando comparado aos demais grupos.

Cargas mecânicas cíclicas funcionam como um importante regulador de diferentes funções musculares dentre elas a expressão gênica na matriz extracelular<sup>16</sup>, a expressão de fatores de crescimento<sup>6,16</sup>, bem como a síntese de proteínas e citocinas da matriz.<sup>17</sup> A NMES gera cargas cíclicas tensionais capazes de promover mudanças estruturais no complexo músculo-tendão contribuindo para a modificação das propriedades mecânicas.

Em nosso estudo os resultados obtidos nos grupos que sofreram intervenção por NMES podem ter sofrido aumento na degradação do colágeno intramuscular. Autores demonstram que os músculos com predominância de fibras de contração rápida apresentam aumento na expressão de metaloproteinases do tipo 2 após a realização de exercícios de alta intensidade.<sup>18</sup> Todavia, quando a atividade é interrompida o restabelecimento da síntese de colágeno ocorre entre 1-3 dias.<sup>6</sup> Nos grupos em que a NMES foi realizada não houve a utilização de intervalos diários nas aplicações o que poderia ter acentuado a degradação de colágeno.

Acreditamos na hipótese que esse fato tenha contribuído para redução das propriedades de rigidez e alongamento do limite máximo dos grupos submetidos a NMES se comparado ao grupo imobilizado-livre, visto que os animais desse último após o período de imobilização permaneceram livres em gaiolas o que permitiu a execução de atividade física de baixa intensidade (deambulação) capaz de reduzir a expressão de metaloproteinases<sup>18</sup>, restabelecer a síntese de colágeno e subsequente reorientação de suas fibras<sup>5</sup>, provavelmente estas mudanças contribuíram para o restabelecimento das propriedades de rigidez, aumento no suporte de carga e capacidade de se alongar no limite máximo do grupo imobilizado-liberado.

Estudos demonstram que o restabelecimento das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio, a padrões controle, é conseguida com a liberação dos animais em gaiolas por quatro semanas<sup>1</sup>, entretanto esta resposta não foi obtida por Matheus et al.<sup>3</sup>, que utilizaram a liberação por dez dias. Em nosso estudo a liberação foi de quatorze dias, intervalo de tempo suficiente para promover o restabelecimento a padrões controle de todas as propriedades avaliadas.

No grupo onde a intervenção por NMES ocorreu duas vezes ao dia foi observado que a propriedade de rigidez alcançou valores superiores aos obtidos nas condições controle, resultado que poderia ser considerado benéfico, como demonstrado por outros autores.<sup>3</sup> Todavia, deve ser observado que mesmo apresentando maior rigidez, os músculos deste grupo suportaram menor carga e sofreram

um pequeno alongamento se comparado aos demais grupos, sugerindo maior suscetibilidade do tecido à lesão.

Subsidiados pelos achados acima descritos e que, a remobilização por exercícios físicos após imobilização altera a quantidade e a orientação do conjuntivo no músculo<sup>10</sup>, acreditamos na hipótese que, ainda que aumentada a expressão de tecido conjuntivo perimial após o período de imobilização, a estimulação elétrica possa ter acentuado, assim como no exercício físico de alta intensidade<sup>18</sup>, a atividade das metaloproteinases reduzindo o a proliferação de colágeno no músculo com conseqüente redução na capacidade de suporte a cargas tensionais.

Outra hipótese sugerida nesse estudo refere ao estado de alerta dos animais. O grupo submetido a imobilização e posteriormente liberado permaneceram nos locais de contenção sem alterações em seu estado de alerta. Esses locais permitiram ao animal se locomover dentro de seus limites fisiológicos, o que não ocorreu com os grupos submetidos a NMES visto que os mesmos foram anestesiados e posteriormente submetidos à eletroestimulação. A NMES quando imposta a um músculo com inervação íntegra promove recrutamento das unidades motoras de modo diferenciado dos padrões fisiológicos, ou seja, recrutamento inicial das unidades suscetíveis à fadiga e posteriormente das mais resistentes.<sup>19</sup> Um estímulo elétrico gerado sobre um determinado segmento corpóreo evoca potenciais de ação em todos os axônios do nervo, sejam autonômicos, motores e sensoriais.<sup>20</sup> Assim uma contração convicta como a realizada em nosso estudo pode ter sido agressiva e acentuado o processo de microlesões.

## CONCLUSÕES

Portanto, os resultados obtidos neste modelo experimental demonstraram que a NMES quando aplicada pós-imobilização deve ser utilizada de forma progressiva, apresentando intervalos entre dias. Não é sugerida a aplicação desta técnica mais que uma vez ao dia. A livre mobilização pode ser incentivada, respeitando os limites dolorosos do sujeito. Estes achados devem ser considerados durante o processo de reabilitação e na eleição de um recurso terapêutico, para que possíveis lesões musculares por sobrecarga sejam maximamente prevenidas.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem os profissionais do laboratório de Bioengenharia, FMRP-USP pelo apoio técnico durante a execução deste estudo. Este estudo recebeu apoio financeiro da FAEP (Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência do Hospital das Clínicas, FMRP-USP).

## REFERÊNCIAS

- Carvalho CMM, Shimano AC, Volpon JB. Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético. *Rev Bras Eng Biomed.* 2002;18:65-73.
- Goto K, Okuyama R, Honda M, Uchida H, Akema T, Ohira Y, Yoshioka T. Profiles of connectin (titin) in atrophied soleus muscle induced by unloading of rats. *J Appl Physiol.* 2003;94:897-902.
- Matheus JPC, Oliveira JGP, Gomide LB, Volpon JB, Shimano AC. Efeitos da estimulação elétrica neuromuscular durante a imobilização nas propriedades mecânicas do músculo esquelético. *Rev Bras Med Esporte.* 2007;13:1-5.
- Caiizzo VJ. Plasticity of skeletal muscle phenotype: mechanical consequences. *Muscle Nerve.* 2002;26:740-68.
- Järvinen TA, Jozsa L, Kannus P, Järvinen TL, Järvinen M. Organization and distribution of intramuscular connective tissue in normal and immobilized skeletal muscles. *J Muscle Res Cell Motil.* 2002;23:245-54.
- Kjøer M. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev.* 2004;84:649-98.
- Lieber RL, Leonard ME, Brown-Maupin CG. Effects of muscle contraction on the load-strain properties of frog aponeurosis and tendon. *Cells Tissues Organs.* 2000;166:48-54.
- Schleip R, Naylor IL, Ursu D, Melzer W, Zorn A, Wilke H et al. Passive muscle stiffness may be influenced by active contractility of intramuscular connective tissue. *Med Hypotheses.* 2006;66:66-71.
- Silva C, Guirro R, Polacow M, Cancelliero K, Durigan J. Rat hindlimb joint immobilization with acrylic resin orthoses. *Braz J Med Biol Res.* 2006;39:979-85.
- Kannus PL, Jozsa M, Kvist M, Vieno T, Jarvinen TA, Natri A, Jarvinen M. Free mobilization and low-to high-intensity exercise in immobilization-induced muscle atrophy. *J Appl Physiol.* 1998;84:1418-24.
- Williams PE, Catanese T, Lucey EG, Goldspink G. The importance of stretch and contractile activity in the prevention of connective tissue accumulation in muscle. *J Anat.* 1988;158:109-14.
- Gamrin L, Bug HE, Essen P, Tesch PA, Hultman E, Garlick PJ et al. The effect of unloading on protein synthesis in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand.* 1998; 63:369-77.
- Mattiello-Sverzut AC, Carvalho LC, Cornachione A, Nagashima M, Neder L, Shimano AC. Morphological effects of electrical stimulation and intermittent muscle stretch after immobilization in soleus muscle. *Histol Histopathol.* 2006;21:957-64.
- Arvidsson I, Arvidsson H, Eriksson E, Jansson E. Prevention of quadriceps wasting after immobilization: An evaluation of the effect of electrical stimulation. *Orthopedics.* 1986;9:1519-27.
- Gibson JN, Smith K, Rennie MJ. Prevention of disuse muscle atrophy by means of electrical stimulation: maintenance of protein synthesis. *Lancet.* 1988;7:767-70.
- Yang G, Crawford RC, Wang H-C. Proliferation and collagen production of human patellar tendon fibroblasts in response to cyclic uniaxial stretching in serum-free conditions. *J Biomech.* 2004;37:1543-50.
- Arnoczky SP, Tian T, Lavagnino M, Gardner K, Schuler P, Morse P. Activation of stress-activated protein kinase (SAPK) in tendon cells following cyclic strain: the effects of strain frequency, strain magnitude, and cytosolic calcium. *J Orthop Res.* 2002;20:947-52.
- Carmeli E, Moas M, Lennon S, Powers SK. High intensity exercise increases expression of matrix metalloproteinases in fast skeletal muscle fibres. *Exp Physiol.* 2005; 90:613-9.
- Avramidis K, Strike PW, Taylor PN, Swain ID. Effectiveness of electric stimulation of the vastus medialis muscle in the rehabilitation of patients after total knee arthroplasty. *Arch Phys Med Rehabil.* 2003; 84:1850-3.
- Qin L, Appell HJ, Chan KM, Maffulli N. Electrical stimulation prevents immobilization atrophy in skeletal muscle of rabbits. *Arch Phys Med Rehabil.* 1997;78:512-7.