UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INTERUNIDADES BIOENGENHARIA

**ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS**

**Estimulação elétrica neuromuscular e alongamento passivo manual na
recuperação das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio
imobilizado. Estudo experimental em ratas.**

LEONARDO CÉSAR CARVALHO

**SÃO CARLOS
2004**

LEONARDO CÉSAR CARVALHO

**Estimulação elétrica neuromuscular e alongamento passivo manual
na recuperação das propriedades mecânicas do músculo
gastrocnêmio imobilizado. Estudo experimental em ratas.**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós - graduação Interunidades Bioengenharia - Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. Celso Hermínio Ferraz Picado.

**SÃO CARLOS
2004**

FICHA CATALOGRÁFICA

Carvalho, Leonardo César

Estimulação elétrica neuromuscular e alongamento passivo manual na recuperação das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio imobilizado. Estudo experimental em ratas./ Leonardo César Carvalho. -- São Carlos, 2004.

Dissertação (Mestrado) -- Interunidades Bioengenharia - Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo, 2004.

Área: Bioengenharia.

Orientador: Prof. Dr. Celso Hermínio Ferraz Picado.

1.Propriedades mecânicas. 2.Imobilização. 3.Estimulação elétrica neuromuscular. 4.Alongamento Passivo Manual. 5.Músculo gastrocnêmio. I.Título

*Aos meus pais, José e Maria pelo
incentivo e dedicação em mais esta etapa
de minha vida.*

*A Fernanda, pelo apoio e compreensão,
A Alexandre, Mayra e Alexandre Jr pelo
incentivo e compreensão.*

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Celso Hermínio Ferraz Picado pela orientação deste trabalho.

Ao Professor Dr. Antônio Carlos Shimano pelos valiosos ensinamentos e orientações não apenas neste trabalho, mas para vida.

Aos Professores Dr. José B. Paulin e Dr. José B. Volpon pela colaboração ao ceder as dependências deste Laboratório para desenvolvimento desta pesquisa. Em especial ao professor Volpon pela cordialidade em ceder o equipamento para realização dos ensaios mecânicos.

Aos amigos Fabrício Borges Oliveira e Gustavo Silva Abrahão pelo apoio, amizade e companheirismo ao longo de mais esta etapa de nossas vidas.

Ao amigo Marcos Shimano pela amizade, pelos valiosos ensinamentos e auxílios neste trabalho.

Aos Funcionários Francisco Carlos Mazzocato, Luiz Henrique Alves, Carlos Alberto Moro e Maria Terezinha de Moraes, pela amizade e ajuda durante as varias fases deste trabalho.

Aos amigos Giovana, Suraya, Sabrina, Fernando, Vitor, Giuliano, Juliana, João Paulo, Liana, Vanessa e todos os demais pós-graduandos pela amizade, companheirismo e auxílio durante a realização desta pesquisa.

A secretária do Laboratório de Bioengenharia da EESC – USP, Janete Ferreira Rodrigues pela cordialidade e presteza junto a mim e meus colegas de pós-graduação.

A Indústria Brasileira de Equipamentos Médicos – **IBRAMED** – meu agradecimento pelo empréstimo do aparelho para desenvolvimento deste trabalho.

A todos que de forma direta e indireta contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

CARVALHO, L. C. (2004) *Estimulação elétrica neuromuscular e alongamento passivo manual na recuperação das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio imobilizado. Estudo experimental em ratas*. Ribeirão Preto, 2004. 79p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos /Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto /Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Avaliamos a influência da imobilização, remobilização livre, remobilização com alongamento passivo manual, remobilização com estimulação elétrica neuromuscular (EENM) e remobilização com estimulação elétrica e alongamento passivo associados sobre algumas propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas. Foram utilizadas 60 ratas albinas da variedade Wistar e divididas em 6 grupos experimentais. Um grupo foi utilizado como controle. Cinco grupos tiveram o membro posterior direito imobilizado por 14 dias consecutivos. Destes 5 grupos um foi submetido à morte logo após o período de imobilização, um foi liberado da imobilização permanecendo em gaiolas plásticas por 10 dias, outro foi submetido a técnica de alongamento passivo manual por 10 dias consecutivos, outro foi submetido a EENM por 10 dias consecutivos e o último foi submetido a EENM somado ao alongamento passivo manual por 10 dias consecutivos. Após os períodos de intervenção os animais foram mortos e em seguida realizados os ensaios mecânicos de tração longitudinal dos músculos. As propriedades mecânicas avaliadas foram a carga e alongamento no limite de proporcionalidade e no limite máximo, a rigidez e a capacidade de absorver energia na fase elástica (resiliência) do músculo, obtidas a partir das curvas carga versus alongamento. Observamos que a imobilização provocou redução significativa nos valores das propriedades mecânicas avaliadas no músculo gastrocnêmio. A remobilização por alongamento passivo manual devolveu ao músculo as propriedades de alongamento no limite de proporcionalidade, rigidez e resiliência a padrões controle, entretanto não foi capaz de restabelecer as propriedades de carga no limite de proporcionalidade, carga e alongamento no limite máximo. A remobilização constituída por EENM restabeleceu todas as propriedades estudadas a padrões controle. A remobilização por estimulação elétrica somada ao alongamento passivo restabeleceu as propriedades mecânicas de alongamento no limite máximo e de proporcionalidade e rigidez, no entanto não foi capaz de devolver ao músculo suas propriedades carga no limite máximo, carga no limite de proporcionalidade e resiliência. A remobilização livre não foi capaz de restabelecer nenhuma das propriedades a padrões controle.

Palavras-chave: Estimulação elétrica neuromuscular, imobilização, músculo gastrocnêmio, propriedades mecânicas.

ABSTRACT

CARVALHO, L. C. (2004) *Neuromuscular electric stimulation and manual passive stretching in the recuperation of the mechanical properties of the immobilized muscle gastrocnemius. Experimental study in rats*. Ribeirão Preto, 2004. 79p. Essay (Master's Degree) – São Carlos Engineering School/ Ribeirão Preto Medicine College/ São Carlos Chemical Institute, São Paulo University.

We evaluated the influence of immobilization, free remobilization, remobilization with manual passive stretching, remobilization with neuromuscular electric stimulation (NMES) and remobilization with electric stimulation and passive stretching associated upon some mechanical properties of the gastrocnemius muscle of female rats. We used sixty female albinic rats of the variety Wistar and divided them in 6 experimental groups. One of these groups was used as control. The animals of the five other groups had their right hind immobilized for 14 consecutive days. From the five groups, one was submitted to death right after the immobilization period, a second was set free from the immobilization remaining in plastic cages for 10 days, a third was submitted to the manual passive stretching technique for 10 consecutive days, a fourth was submitted to NMES for 10 consecutive days and the last one was submitted to NMES and manual passive stretching for 10 consecutive days. After the intervention periods, the animals were submitted to death and afterwards the mechanical tests of longitudinal traction of the muscles were done. The mechanical properties evaluated were the load and the stretching in the limit of proportionality and in the maximum limit, the stiffness and the capacity to absorb energy in the elastic phase (resilience) of the muscle, obtained based on the curves load versus stretching. We observed that the immobilization has provoked significant reduction of the values of the mechanical properties evaluated in the gastrocnemius muscle. The remobilization by the manual passive stretching gave back to the muscle the mechanical properties of stretching in the limit of proportionality, stiffness and resilience like the standard ones of the control group, but it was not capable of reestablishing the properties of load in the limit of proportionality, load and stretching in the maximum limit. The remobilization done by the NMES reestablished all of the properties studied like ones of the control group. The remobilization by electric stimulation and passive stretching reestablished the mechanical properties in the maximum limit and in the proportionality and stiffness, although it was not capable of giving back to the muscle its properties of load in the maximum limit, load in the limit of proportionality and resilience. The free remobilization was not capable of reestablish any of the properties like the ones of the control group.

Key-words: neuromuscular electric stimulation, immobilization, gastrocnemius muscle, mechanical properties.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Animal com o membro posterior direito imobilizado.....	39
Figura 2 - Aparelho NEURODYN II Compact®	39
Figura 3 – Caneta eletrodo desenvolvida em menor escala para a estimulação do músculo gastrocnêmio.....	40
Figura 4 – Técnica de estimulação elétrica neuromuscular (EENM) em detalhe: Figura A – disposição das fixações das fitas adesivas e eletrodos. Figura B – Ângulos de visualização da EENM na superfície cutânea do animal.....	41
Figura 5 – Técnica de alongamento passivo manual do músculo gastrocnêmio.	41
Figura 7 – Peça dissecada; detalhes para origem e inserção preservada.....	42
Figura 8 - Máquina universal de ensaio EMIC® - modelo DL10000.	43
Figura 9 - Peça fixada pelos acessórios na máquina universal de ensaios.....	44
Figura 10- Gráfico carga <i>versus</i> alongamento, a partir do qual são obtidas as principais propriedades mecânicas do ensaio de tração.....	44
Figura 11 – Curvas carga <i>vs</i> alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo controle.....	49
Figura 12– Curvas carga <i>vs</i> alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo imobilizado.....	49
Figura 13 – Curvas carga <i>vs</i> alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo imobilizado e submetido ao tratamento por alongamento.	49
Figura 14 – Curvas carga <i>vs</i> alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo imobilizado e submetido ao tratamento por EENM.....	50

Figura 15 – Curva carga vs alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo imobilizado e submetido ao tratamento por EENM somado a técnica de alongamento passivo manual.	50
Figura 16– Curvas carga vs alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo imobilizado e submetido à liberação por 10 dias consecutivos.	50
Figura 17 - Comparações entre os valores médios de carga no limite de proporcionalidade.....	51
Figura 18 - Comparações entre os valores médios de alongamento no limite de proporcionalidade.....	52
Figura 19– Comparações entre os valores médios de carga no limite máximo.	53
Figura 20- Comparações entre os valores médios de alongamento no limite máximo.	54
Figura 21 - Comparações entre os valores médios de rigidez.....	55
Figura 22 - Comparações entre os valores médios de resiliência.	56
Figura 23 – Curvas representativas dos valores médios do limite de proporcionalidade e do limite máximo	57

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Valores médios de massa corporal dos animais.....	47
TABELA 2 – Locais de ruptura dos músculos gastrocnêmio avaliados.....	48
TABELA 3 – Análise estatística da carga no limite de proporcionalidade obtida entre os grupos experimentais.....	51
TABELA 4 – Análise estatística do alongamento no limite de proporcionalidade..	52
TABELA 5 – Análise estatística dos valores médios de carga no limite máximo entre os grupos experimentais.....	53
TABELA 6 – Análise estatística dos valores médios de alongamento no limite máximo entre os grupos experimentais.....	54
TABELA 7 – Análise estatística dos valores de rigidez.....	55
TABELA 8 – Análise estatística capacidade de absorver energia na fase elástica...	56
TABELA 9 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais controle.....	74
TABELA 10 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais imobilizados.	74
TABELA 11 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais imobilizados e reabilitados com a técnica de alongamento.	75
TABELA 12 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais imobilizados e reabilitados com EENM	75
TABELA 13 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais imobilizados e reabilitados com EENM somado ao alongamento passivo manual.....	76

TABELA 14 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais do	
imobilizados e liberados.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
APTA	- American Physical Therapy Association
ATP	- Adenosina trifosfato
EENM	- Estimulação Elétrica Neuromuscular
EESC	- Escola de Engenharia de São Carlos
FMRP	- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
IQSC	- Instituto de Química de São Carlos
USP	- Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

θ	- ângulo de inclinação da curva carga x deformação na fase elástica
cm	- centímetro
E'	- energia absorvida pelo material na fase elástica (resiliência)
g	- grama
Hz	- Hertz
J	- Joule
Kgf	- quilograma força
m	- metro
mg	- Miligramas
mm	- milímetro
N	- Newton
NaCl	- Cloreto de sódio
Rad	- Radiano
Tg	- tangente
mA	- Miliampére
ms	- Milisegundos

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	12
LISTA DE SÍMBOLOS.....	8
1 INTRODUÇÃO	17
1.1 O Tecido muscular	18
1.2 Imobilização.....	21
1.3 Estimulação elétrica neuromuscular	24
1.3.1 Características e os tipos de ondas elétricas.....	25
1.3.2 Transmissão do estímulo elétrico.....	27
1.3.3 Controles de ciclos On e Off.....	27
1.3.4 Os efeitos da EENM no músculo	28
1.4 Técnica de alongamento	31
1.5 Ensaio mecânico de tração	34
1.6 Objetivo.....	35
2 MATERIAL E MÉTODO.....	36
2.1 Animais	36
2.1.1 Grupos Experimentais	36
2.2 Descrição dos grupos	37
2.2.1 Controle (GC)	37

2.2.2	Imobilizado (GI).....	37
2.2.3	Imobilizado e reabilitado com alongamento passivo manual (GIA)	37
2.2.4	Imobilizado e reabilitado com estimulação elétrica neuromuscular (GIE)	37
2.2.5	Imobilizado e reabilitado com estimulação elétrica neuro-muscular somado ao alongamento passivo manual (GIEA).....	38
2.2.6	Imobilizado e liberado (GIL)	38
2.3	Técnica de imobilização.....	38
2.4	Técnica de estimulação elétrica neuromuscular.....	39
4.5	Técnica de alongamento passivo manual.	41
2.6	Coleta do material	42
2.7	Ensaio de tração	43
2.8	Propriedades mecânicas	44
2.8.1	Limite de Proporcionalidade (LP).....	45
2.8.2	Limite Máximo (LM).....	45
2.8.3	Rigidez (R).....	45
2.8.4	Resiliência (E').....	45
2.9	Análise Estatística	46
3	RESULTADOS.....	47
3.1	Curvas carga <i>versus</i> alongamento	48
3.2	Carga no limite de proporcionalidade	51
3.3	Alongamento no limite de proporcionalidade	52
3.4	Carga no limite máximo	53
3.5	Alongamento no limite máximo	54

3.6	Rigidez.....	55
3.7	Resiliência	56
4	DISCUSSÃO.....	58
5	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	66
	ANEXOS	66
	ANEXO A	74
	ANEXO B.....	77

1 INTRODUÇÃO

O estudo da mecânica corporal e seus segmentos são indispensáveis para a intervenção terapêutica. A combinação entre o conhecimento biomecânico e histomorfofuncional dos tecidos biológicos, principalmente do sistema musculoesquelético, é importante para o esclarecimento de lesões e alterações nas capacidades adaptativas (WHITING e ZERNICKE, 2001), além de auxiliar durante os processos de reabilitação.

Os materiais biológicos exibem propriedades que influenciam sua resposta a uma carga e podem determinar a ocorrência ou agravamento de uma lesão (CORNWALL, 1984).

A avaliação do comportamento mecânico dos tecidos biológicos é realizada com o uso de técnicas de ensaios mecânicos estáticos ou dinâmicos. As propriedades mecânicas do tecido muscular podem ser obtidas a partir dos ensaios estáticos de tração que avaliam as capacidades do material (WHITING e ZERNICKE, 2001).

A tensão é uma força aplicada perpendicularmente à área de secção transversal de um tecido. A sobrecarga de tensão é uma força de alongamento. A tensão é muito comum nos tecidos vivos, sendo encontrada em todos os tendões durante a contração do músculo correspondente, assim como nos ligamentos quando resistem a uma carga e fixam a articulação. As lesões ligamentares e tendinosas são quase sempre consequências diretas de forças tencionais que ultrapassam a resistência do tecido biológico. Os músculos estriados esqueléticos sofrem constantes adaptações aos diferentes estímulos, sejam eles, externos ou internos. Um exemplo é a imobilização de um segmento corpóreo que provoca alterações, tais como redução na síntese de proteínas (BOOTH, 1977; TUCKER et al. 1981), aumento de tecido conjuntivo

(GOLDSPINK e WILLIAMS, 1984), redução do trofismo do músculo (MUSACCHIA, 1988), dentre outras.

A atrofia muscular pode ocorrer nos casos em que há necessidade de implementação de repouso local contínuo e rígido (imobilização), como após lesões ósseas, musculares, luxações, rupturas ligamentares, além de outras patologias degenerativas submetidas ou não a correção cirúrgica (WILLIAMS e GOLDSPINK, 1971, SALTER, 1985; APPELL, 1986).

Nos casos de perda de flexibilidade, trofismo e força muscular a reabilitação do músculo acometido pode ser realizada com a utilização de diferentes técnicas, entre elas a estimulação elétrica neuromuscular (EENM) e o alongamento muscular (WILLIAMS et al. 1988; KIRSCH et al. 1985).

A EENM consiste na aplicação de estímulos elétricos terapêuticos sobre o músculo, por meio do sistema nervoso não comprometido (APTA, 1990).

Esta técnica tem sido utilizada por décadas, principalmente para o tratamento de disfunções musculoesqueléticas e neuromusculares, por promover alterações fisiológicas como a recuperação da força e trofismo muscular após um período de desuso ocasionado pela imobilização gessada (FULBRIGHT, 1984, ERIKSON et al. 1981; WILLIAMS e STREET, 1976).

O alongamento muscular é um procedimento terapêutico empregado com frequência na clínica fisioterápica, sendo muito utilizado na reabilitação de segmentos submetidos à imobilização.

O termo alongamento é utilizado para descrever uma manobra terapêutica que visa aumentar o comprimento das estruturas de tecidos moles encurtados, melhorando a amplitude de movimento (KISNER e COLBY, 1998). Entretanto o que parece ser um procedimento simplificado é na verdade um complexo mecanismo que nem sempre é bem compreendido (DURIGON, 1995), principalmente quanto ao entendimento da ação fisiológica e biomecânica dos tecidos envolvidos.

1.1 O Tecido muscular

O músculo estriado esquelético é a estrutura responsável pela manutenção e execução dos movimentos do corpo. Dentre seus constituintes estão numerosas fibras musculares cilíndricas, com células alongadas que variam principalmente em

diâmetros de 10 e 80 micrômetros (GUYTON e HALL, 1996).

O músculo está contido em um invólucro de composição fibrosa, denominada epímísio, de onde partem septos conjuntivos definidos como perímísio, os quais penetram na substância muscular gerando pequenos feixes. Estes feixes são constituídos de um conjunto de fibras musculares finas e longas, que irão compor as unidades funcionais do músculo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

Dentre os principais elementos musculares está o sarcolema, que consiste na membrana celular da fibra muscular e no seu interior encontram-se os núcleos e as miofibrilas, que em subunidades são preenchidas pelo sarcoplasma (GUYTON e HALL, 1996).

O sarcolema encontra-se perfurado por uma fibra nervosa que forma a placa terminal, dependente do sistema nervoso central, que emite cargas elétricas que provocam as contrações musculares (MARTINI, 1995).

As miofibrilas apresentam alternâncias de bandas de proteínas claras e escuras a microscopia óptica, onde se observa a formação da unidade contrátil do músculo denominada de sarcômeros.

O número de sarcômeros em série determina a distância na qual um músculo poderá executar uma contração. O controle no número de sarcômeros é considerado como sendo uma adaptação às alterações que ocorrem no comprimento funcional do músculo (WILLIAMS e GOLDSPINK, 1971; WILLIAMS e GOLDSPINK, 1973).

Denoth et al. (2002), propuseram um modelo teórico para descrever a composição de sarcômeros em série e em paralelo do músculo, relataram que o resultado de alongar e relaxar, experimentalmente, depende muito do comprimento inicial e velocidade de recrutamento dos sarcômeros, assim como da sua estrutura e propriedades do material.

O fuso muscular é um receptor sensorial envolvido no mecanismo de controle do comprimento muscular, a sua localização privilegiada entre as fibras musculares permite o alongamento e encurtamento de suas fibras em conjunto com as fibras musculares promovendo estímulos em suas terminações primárias e secundárias. (DURIGON, 1995).

Fisiologicamente é comprovado que os músculos estão envolvidos em um

processo contínuo de remodelagem, podendo ocorrer alterações em seu comprimento e diâmetro (GUYTON e HALL, 1996). Os músculos respondem aos diferentes estímulos com alterações bioquímicas, morfológicas e biomecânicas não sendo diferente quando o mesmo é imobilizado por determinado período, o qual se atrofia (APPELL, 1986).

Quanto a sua constituição o músculo esquelético da maioria dos mamíferos é composto em média por três diferentes tipos de fibras musculares, dentre elas temos as fibras tipo I e fibras tipo II (GUYTON e HALL, 1996; ROBINSON, 2001).

As fibras do tipo I são conhecidas como fibras de contração lenta, apresentam como características um pequeno diâmetro, rico suprimento capilar, alta atividade de enzimas oxidativas, alto conteúdo mitocondrial, baixa atividade de enzimas glicolíticas, baixo conteúdo de glicogênio e alto conteúdo de mioglobina (ARMSTRONG e PHELPS, 1984; ROBINSON, 2001).

As fibras tipo II são ditas fibras de contração rápida se dividem em tipos IIA e IIB. A primeira apresenta como características um diâmetro médio, um rico suprimento capilar, a atividade de enzimas oxidativas é relativamente alta, o conteúdo mitocondrial é alto, a atividade de enzimas glicolíticas é alta, o conteúdo de glicogênio e mioglobina são altos. A segunda apresenta um grande diâmetro, o suprimento capilar é escasso, a atividade de enzimas oxidativas é baixa, o conteúdo mitocondrial é baixo, a atividade das enzimas glicolíticas é alta, o conteúdo de glicogênio é alto e o conteúdo de mioglobina é baixo (ARMSTRONG e PHELPS, 1984; ROBINSON, 2001).

Quanto à histologia o músculo gastrocnêmio é misto quanto às fibras que o compõem, porém a disposição dessas demonstra regionalização sendo que as fibras do tipo I estão concentradas na região anterior e as fibras do tipo II estão posteriores, ou seja, mais superficiais (WANG e KERNELL, 2001).

Armstrong e Phelps (1984), avaliaram a disposição e área das fibras de vários músculos do membro inferior de ratos da variedade *Sprague-Dawley* e observaram que os músculos gastrocnêmio destes animais também apresentam esta regionalização sendo que superficialmente há fibras tipo II e mais profundamente fibras tipo I.

1.2 Imobilização

A imobilização pode ser definida como um repouso local, contínuo e rígido, utilizada em casos de lesões como fraturas, luxações, traumas musculares, manipulações cirúrgicas e outras enfermidades (SALTER, 1985; LOITZ et al. 1989).

O aparelho de gesso é freqüentemente instituído para a imobilização de um segmento e é um dispositivo de compartilhamento de estresse. O compartilhamento de estresse permite a formação de calo ósseo quando há a presença de uma fratura (HOPPENFELD, 2001).

As alterações induzidas pela imobilização de um segmento corpóreo não se limitam apenas ao músculo, pois comumente são observados transtornos de inervação e circulação, atrofia óssea, alterações ligamentares, edema e rigidez articular (NOYES, 1977; LOITZ et al. 1989).

Vários modelos são exemplificados para denominar as possíveis alterações fisiológicas que ocorrem nos músculos após um período de imobilização. As técnicas invasivas como a denervação, tenotomia e fixação da articulação por meio de pinos e técnicas não invasivas, como a imobilização gessada são alguns exemplos (BOOTH, 1977; WILLIAMS e GOLDSPINK, 1971; MUSACCHIA, 1988; COUTINHO et al. 2002).

Dentre as alterações em um músculo imobilizado temos que a partir de 4 a 6 dias de imobilização ocorre perda de proteínas, porém a quantidade de mioglobina permanece inalterada (BOOTH, 1977). A partir do 7º dia de imobilização ocorre aumento na perda de tecido conectivo e também de fibras musculares por área de secção do músculo, promovendo alterações como atrofia das fibras musculares e redução da atividade contrátil (WILLIAMS et al. 1988, BOOTH e KELSO, 1973 b; MUSACCHIA, 1988).

O decréscimo na síntese de proteínas do músculo gastrocnêmio imobilizado inicia-se 6 horas após a instituição da imobilização e em 72 horas ocorre o início do declínio da massa do músculo (BOOTH e SEIDER, 1979).

Booth e Kelso (1973a), avaliaram as propriedades contrátil e histoquímica dos músculos reto femoral e sóleo de ratos, após 4 semanas de imobilização, e

concluíram que ocorre redução na quantidade de fibras tipo I e aumento das fibras tipo II. O tempo de contração isométrica do músculo sóleo imobilizado foi avaliado sendo observado um menor tempo em relação ao grupo controle, enquanto que para o tempo de relaxamento não houve diferença significativa. Neste mesmo estudo foi observada a frequência de contrações tetânicas sendo que este número foi maior no músculo imobilizado em relação ao controle.

As adaptações bioquímicas do músculo esquelético humano submetido à imobilização e treino de força foram avaliadas por MacDougall et al. (1977). Os resultados demonstraram um aumento nas concentrações de creatina (39%), creatina fosfato (22%), adenosina trifosfato (ATP) (18%) e glicogênio (66%) nos músculos treinados e redução nos músculos imobilizados de glicogênio (40%). O treinamento foi realizado durante 5 meses e a imobilização foi realizada por 5 semanas.

Goldspink e Williams (1978), afirmaram que tecido conectivo impõem uma resistência natural ao exercício passivo depois de determinados períodos de imobilização do músculo sóleo. Relataram também que ocorre a remodelação reduzindo a espessura do tecido conectivo, principalmente no perimísio e endomísio, quando instituído o exercício.

Williams e Goldspink (1984), demonstraram que duas semanas de imobilização são capazes de promover aumento na concentração de colágeno e perda de sarcômeros em série no músculo imobilizado em posição encurtada. Relataram ainda que períodos de imobilização superiores promovem redução do tecido conectivo por área de secção transversal, e as fibras de colágeno formam maiores números de ângulos agudos com as miofibrilas em relação ao músculo imobilizado em posição alongada.

Sugama et al. (1999) avaliaram a solubilidade do colágeno nos músculo gastrocnêmio e sóleo de ratos e observaram que após três e sete semanas de imobilização ocorre um aumento significativo de sua concentração.

Algumas alterações pertinentes aos músculos não ocorrem somente durante períodos de imobilização. A redução do comprimento da fibra muscular é um exemplo que ocorre durante longas jornadas de inatividade (WILLIAMS et al. 1988), como nos casos de indivíduos acamados por longo período.

Williams et al. (1988), em um estudo realizado com coelhos, tentaram limitar as perdas induzidas pela imobilização por 7 dias consecutivos com o uso da estimulação elétrica no mesmo período. A técnica foi empregada com uma frequência de 5Hz e 0,5 voltz capaz de promover uma contração visível sem causar desconforto aos animais. Concluíram que a técnica utilizada nos músculos imobilizados em posição encurtada não evitou a perda de sarcômeros, contudo não permitiu o aumento do tecido conectivo.

Tucker et al. (1981), avaliaram a síntese protéica do músculo gastrocnêmio de ratos da variedade *wistar* após a imobilização por 7 dias consecutivos e após a instituição de remobilização por corrida em esteira. Observaram redução de cerca de 3.6% nas 6 primeiras horas de imobilização na síntese proteínas. Dois dias de corrida em esteira foram capazes de gerar um aumento na síntese de proteínas. Concluem que a atividade física é importante para a recuperação da atrofia muscular.

A avaliação das propriedades mecânicas de forma estática restringe-se a estudos experimentais. As dificuldades para tal desenvolvimento em humanos é a não possibilidade de avaliação *in vivo*, o que faz dos modelos animais e matemáticos saídas para execução e aprendizado dos estudos (MACDOUGALL et al. 1977; DENOTH et al. 2002).

Järvinen et al. (1992), avaliaram as propriedades do músculo gastrocnêmio de ratos imobilizados em posição encurtada e alongada. O membro contralateral foi utilizado como controle. As curvas carga *versus* alongamento e o peso das peças foram avaliados após 7 e 21 dias de imobilização. Neste estudo foi observada a redução na propriedade de rigidez em ambos os grupos, entretanto a capacidade de absorver energia foi menor nos músculos imobilizados em posição encurtada (64%) em relação aos imobilizados em posição alongada (49%). O peso das peças dos animais imobilizados em posição encurtada também foi menor em relação ao outro grupo. Concluíram que a imobilização em posição encurtada gera maior atrofia e acentuada diminuição das propriedades mecânicas.

Loitz et al. (1989), estudaram as mudanças nas propriedades mecânicas e a concentração de tecido colágeno no tendão do músculo tibial anterior de coelhos imobilizados e tratados com mobilização passiva contínua (MPC). As propriedades mecânicas foram obtidas através da delimitação de uma reta de regressão linear sobre

a região retilínea dos gráficos carga *versus* tempo. O estudo em questão não demonstrou diferença significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com MPC quando avaliado a carga no limite de proporcionalidade. A carga no limite máximo e a rigidez calculada neste estudo são coerentes com a hipótese que as cargas tencionais cíclicas podem limitar a reorientação das fibras de colágeno visualizadas na imobilização, assim mantendo as propriedades mecânicas com valores próximos do grupo controle.

Carvalho (2001), avaliou os efeitos da imobilização por 3 semanas e a remobilização por atividade física de natação por 4 semanas em algumas propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas. Concluiu que a imobilização provocou reduções significativas nos valores das propriedades de rigidez, resiliência, carga e alongamento no limite de proporcionalidade, além da carga e alongamento no limite máximo. E a remobilização por 4 semanas devolveu ao músculo suas propriedades mecânicas.

1.3 Estimulação elétrica neuromuscular

A estimulação elétrica neuromuscular (EENM) é uma forma de estímulo capaz de induzir o músculo estriado esquelético a alterações como melhora da função (WILLIAMS e STREET, 1976), aumento da capacidade de gerar força muscular (CURRIER et al. 1979; KRAMER, 1987), além de ser utilizada para estimulação nervosa e controle da dor (ROSEMBERG et al. 1978).

Esta técnica quando aplicada no sistema neuromuscular periférico intacto é capaz de produzir potenciais de ação em nervos e músculos descaracterizados dos emitidos pelo sistema nervoso normal (DELITO e SNYDER-MACKLER, 2001).

Nas últimas décadas as pesquisas sobre os efeitos da EENM ganharam destaque junto à comunidade científica. Dois fatores contribuíram para que esse assunto se transformasse em alvo de interesse de pesquisadores. O primeiro foi à popularização dos geradores de correntes, deixando-os mais versáteis. Os relatos apresentados na metade da década de 70 sobre a eficácia da EENM atuante na

musculatura de atletas de elite e indivíduos saudáveis para a promoção de maior ganho de força foi o segundo fator (DELITO e SNYDER-MACKLER, 2001).

Durante um programa de EENM algumas características devem ser observadas, tais como: número de sessões, intensidade da corrente e a frequência da onda. Quanto ao número de sessões, alguns relatos afirmam a possibilidade de ganho significativo de força em um período de 10 sessões (CURRIER et al. 1979; SOO et al. 1988).

1.3.1 Características e os tipos de ondas elétricas

As correntes utilizadas na eletroterapia clínica contemporânea se dividem em três tipos: contínuas, alternadas e pulsadas. A corrente contínua é caracterizada pela apresentação de um fluxo contínuo de partículas carregadas. A corrente alternada se caracteriza por um fluxo bidirecional contínuo de partículas carregadas. A corrente pulsada apresenta um fluxo uni ou bidirecional de partículas carregadas e interrompidas por um tempo específico (DELITO e SNYDER-MACKLER, 2001).

A corrente pulsada é caracterizada por uma unidade elementar denominada de pulso elétrico. Este por sua vez é definido como um evento elétrico isolado, separado por um tempo finito do próximo evento (DELITO e SNYDER-MACKLER, 2001). Pulsos elétricos podem apresentar diferentes formas como exemplo a forma fárdica, a exponencial, a senoidal, a quadrada e a triangular, dentre outras.

Além do formato do pulso, os tipos de corrente se classificam em monofásica e bifásica. A primeira indica que existe apenas uma fase para cada pulso e, desta forma o fluxo de corrente é unidirecional, sendo que a polaridade de um eletrodo será sempre positiva e a do outro negativa. O segundo tipo de corrente apresenta duas fases opostas contidas em um único pulso. Os pulsos bifásicos podem ser divididos em simétricos e assimétricos (BRASILEIRO, 2001).

Com o surgimento das diferentes formas de ondas elétricas vários tipos de geradores surgiram no mercado. Atualmente sabemos que estes geradores de corrente são denominados de estimuladores elétricos transcutâneos (TENS), por serem aplicados sobre a pele objetivando a excitação nervosa e muscular.

Laufer et al. (2001), relataram que os estimuladores elétricos neuromusculares são comumente utilizados com o objetivo de promover o fortalecimento muscular.

Kantor et al. (1994), avaliaram o efeito de cinco formas de ondas utilizadas comumente para estimulação de nervos sensoriais e motores, além de analisarem características variáveis associadas com o limiar do estímulo. Observaram que a forma de onda bifásica é a preferida para estimulação de nervos periféricos. Baseado nos resultados deste estudo os autores acreditam que o tipo de onda bifásica simétrica possa ser a preferida não somente pelo fato de estimular nervos periféricos, mas sim devido à mesma minimizar a carga total de pulso diminuindo o potencial irritativo na pele. McNeal e Baker (1988), também relataram que a onda bifásica é mais confortável em relação à onda monofásica na estimulação do quadríceps femoral e isquiotibiais.

Laufer et al. (2001), avaliaram a influência dos tipos de ondas na capacidade de geração do torque isométrico do músculo quadríceps femoral em homens e mulheres. Neste estudo utilizaram formas de ondas do tipo monofásica retangular, bifásica retangular simétrica e senoidal alternada. Todas as ondas avaliadas tiveram uma duração de pulso de 200 μ s, uma frequência de 50Hz com exceção da onda senoidal alternada que possui uma frequência de 2500Hz porém foi modulada com bursts de 50 Hz com intervalos de 10 ms. Os resultados indicaram que as correntes monofásicas e bifásicas geram torques superiores à forma de onda senoidal.

Bickel et al. (2003), avaliaram a variabilidade de frequência de estimulação em dois músculos de diferentes composições de fibras através do torque desenvolvido. O grau de fadigabilidade do músculo durante a variação da frequência e no treino de frequência constante foi avaliado. Os resultados encontrados demonstraram aumento na força do músculo fadigado e estimulados com variação da frequência.

1.3.2 Transmissão do estímulo elétrico

A aplicação da eletroestimulação é realizada por meio de eletrodos de superfície que devem ser específicos para o tamanho do músculo funcionando como interface entre o aparelho e os tecidos do animal. Na superfície da pele existe um ponto onde com menor quantidade de corrente é possível estimular o músculo, sendo denominado de ponto motor. Os eletrodos para EENM são posicionados nestes locais permitindo a máxima estimulação com a menor corrente possível (DELITO e SNYDER-MACKLER, 2001).

O tamanho do eletrodo é importante para a aplicação da técnica de EENM. A área de contato dos eletrodos dependem em parte da área de tecidos excitáveis a serem estimulados. Assim um eletrodo com tamanho exagerado pode promover a estimulação de estruturas indesejadas, como outros músculos e nervos, fazendo com que sofram à ação da corrente elétrica aplicada e interferindo nos resultados (DELITO e SNYDER-MACKLER, 2001).

Na prática clínica os eletrodos utilizados são constituídos de uma borracha de silício ou polímero eletricamente condutor impregnado de carvão. Também são utilizados alguns eletrodos de metais como aço inoxidável ou alumínio. Witzmann et al. (1982), utilizaram eletrodos de platina para a realização da EENM e não relatam dificuldades para transmissão do estímulo elétrico.

O uso de eletrodos invasivos com modelos animais, sugere que a despolarização e o padrão de propagação do potencial de ação independem das formas de onda. Porém quando humanos são estimulados através de eletrodos de superfícies ou invasivos os estímulos variam quanto às formas de ondas utilizadas (KANTOR et al. 1994).

1.3.3 Controles de ciclos On e Off

A aplicação da EENM em programas terapêuticos, principalmente os que visam fortalecimento muscular, necessitam de ajustes na duração da estimulação elétrica e no período de repouso entre os estímulos.

Tal controle é necessário devido à contração muscular ter como fonte energética primária o sistema trifosfato de adenosina e fosfocreatina (ATP-PC), que está em ação durante a produção de contrações musculares máximas. Porém a utilização deste substrato energético fica limitada à apenas 10 a 15 segundos (MARTINI, 1995). Assim quando os músculos são eletricamente estimulados devem ser instituídos os chamados controles “on time/ off time” que permitem o restabelecimento deste substrato energético, evitando a produção de ácido láctico e também a instituição do processo de fadiga (BRASILEIRO, 2001).

Alguns autores avaliaram a resistência do músculo gastrocnêmio de ratos, utilizando ensaios de tração em condições normais e sob fadiga. Concluíram que o músculo se encontra no estado de fadiga por EENM, este apresenta menor resistência à tração em relação a um grupo controle não estimulado (CARAZZATO et al. 1985).

Binder-Macleod e Snyder-MacIer (1993), relataram que a fadiga muscular induzida pela contração elétrica é maior que pela contração voluntária.

1.3.4 Os efeitos da EENM no músculo

A capacidade de alterar as propriedades do músculo através de estimulação elétrica foi demonstrada por Buller et al. (1960) que reverteram o suprimento nervoso entre um músculo de contração predominantemente rápida com um de contração lenta em gatos. Mostraram que não somente as propriedades contráteis se alteraram, assim como ocorrem alterações metabólicas e histológicas.

Witzmann et al. (1982), avaliaram o tempo de recuperação das propriedades contráteis isométricas e isotônicas de músculos com predomínio de fibras rápidas e lentas após 6 semanas de imobilização. Para desenvolver as contrações isométricas utilizaram estimulações supramáximas através de um eletroestimulador que emitia um pulso quadrado de 0.5ms e para contrações tetânicas pulso quadrado de 0.5ms modulados em 50Hz e 150Hz. Concluíram que o músculo com predomínio de fibras de contração lenta (tipo I) leva cerca de 4 dias para recuperar as propriedades contráteis isométricas, enquanto os músculos compostos de fibras rápidas (tipo IIa e IIb) se recuperam após 14 dias.

Kramer (1987), avaliou a aplicação da EENM em frequências de 20Hz, 50Hz e 100Hz no torque gerado pelo músculo quadríceps femoral. As características do estímulo eram uma onda bifásica assimétrica com tempo de pulso de 1ms. Afirma que as fibras do tipo II são preferencialmente recrutadas e que as contrações estimuladas eletricamente por frequências de 50Hz e 100Hz, podem produzir torques isométricos 84 % maiores em relação a contrações voluntárias máximas.

Low & Reed (2001), também afirmaram que faixas de frequência de 50 à 150HZ são ideais para recrutar fibras musculares do tipo II responsáveis melhora da força.

Lucas et al. (1992), descreveram e compararam as mudanças funcionais, estruturais e bioquímicas do músculo latíssimo do dorso em cães submetidos à estimulação elétrica por 4, 8, 12 e 24 semanas ininterruptas. Os parâmetros utilizados neste estudo foram um pulso de duração de 0,21ms, uma frequência de 30Hz pulsada, sendo que cada pulso possuía uma duração de 250ms intervalados por 1750ms. A pausa entre os pulsos foi reduzida progressivamente resultando em aumento no número de contrações por minuto. Observaram que em relação ao controle, o grupo estimulado por 4 semanas 24h/dia promoveu um aumento no número de fibras tipo I e progressivo declínio nas fibras tipo II. Quanto ao diâmetro das fibras tipo I e II não ocorreu alterações significativas em todos os períodos avaliados. Também foi constatado aumento no volume de mitocôndrias por fibra muscular durante 12 semanas de estimulação.

James et al. (1997), também estudaram o músculo latíssimo dorsal com a utilização da EENM realizada 24 h/dia durante 6 a 8 semanas. Os parâmetros adotados neste estudo foram uma frequência de 10Hz, com amplitude de 4.6 volts e uma largura de pulso de 2ms. Os resultados demonstraram que a EENM foi capaz de induzir mudanças das fibras tipo II para as do tipo I em até 100% em ambos períodos avaliados. Concluem que as fibras do tipo I são extremamente resistentes à fadiga. Porém tal mudança proporcionou redução na capacidade de gerar força acima de 75% após 3 e 6 semanas e a massa muscular reduziu 32%.

Palacow et al. (2003), avaliaram a estimulação do músculo denervado e utilizaram uma frequência de 10Hz, com um pulso de 3ms, uma corrente com pulso quadrado bifásico assimétrico, ciclo on de 2 segundos e ciclo off de 2 segundos,

20 minutos por dia. A estimulação no músculo denervado aumenta a concentração de glicogênio. Entretanto a estimulação não foi capaz de reverter à atrofia do músculo denervado, porém melhorou sua densidade em relação ao músculo denervado e não estimulado eletricamente.

Erikson et al. (1981), avaliaram o treino do músculo quadríceps femoral através da EENM e por contrações isométricas realizadas por 5 semanas. Utilizaram neste estudo uma onda quadrada de 0,5ms de duração de pulso e frequência de 200Hz, um ciclo on de 15 segundos e off de 15 segundos por 6 minutos. Observaram ganho de força de 16% no membro estimulado.

Nos músculos fracos ou que estejam enfraquecendo, o valor da estimulação elétrica é muito mais clara. Brasileiro (2001) sugere que a aplicação da EENM pode ser válida quando aplicada em populações de pacientes com déficit significativos de força, pois esta técnica promove aumento na capacidade de geração do torque isométrico.

Morrissey et al. (1985), observaram que a EENM do quadríceps femoral durante a imobilização é de grande valia para manutenção do trofismo muscular, contudo afirmam que tal efeito de melhora foi temporário. Já quando empregada simultaneamente à imobilização de um segmento corpóreo a EENM é capaz de não permitir o aumento de tecido conectivo no músculo durante o período de imobilização, no entanto não evita a perda de sarcômeros (WILLIAMS et al. 1988).

A associação da EENM a outras técnicas são poucos estudadas. Munsat et al. (1976) publicaram que a EENM associada ao alongamento passivo manual se mostra efetiva na redução da contratura dos músculos isquiotibiais melhorando a amplitude de movimento (ADM) do joelho.

A aplicação da EENM é também instituída na reabilitação de indivíduos portadores de lesão no sistema nervoso central, como descrito por Baker et al. (1983). Afirmam que esta técnica terapêutica empregada por um período de 6 meses é capaz de melhorar a amplitude de movimento nestes pacientes proporcionando independência aos mesmos.

Em 1979, pesquisadores relataram a utilização da EENM no controle das contraturas dos músculos flexores dos dedos e punho em 16 pacientes hemiplégicos. O tratamento consistiu inicialmente de 15 minutos de EENM para os músculos

extensores do punho e músculo extensores dos dedos duas vezes ao dia. Os resultados demonstraram que os pacientes que apresentaram hemiplegia há mais de quatro meses antes do tratamento com EENM aumentaram a ADM passiva das articulações do punho, metacarpofalangeana e da interfalangeana proximal em média 36°, 27° e 17°, respectivamente. Essas mudanças na ADM passiva ocorreram na ausência de outros tipos de terapias específicas para redução de deformidades flexoras (BACKER et al. 1979).

As dificuldades encontradas na comparação dos resultados entre os vários estudos sobre EENM são a grande variedade de correntes e de técnicas de aplicação existentes (KRAMER, 1987).

1.4 Técnica de alongamento

O alongamento é um termo utilizado para descrever uma manobra terapêutica que visa aumentar o comprimento das estruturas dos tecidos moles encurtados (KISNER e COLBY, 1998).

O alongamento passivo é uma técnica que consiste em afastar a origem da inserção muscular aplicando uma força externa controlada em direção, velocidade, intensidade e a duração (FLITNEY e HIRST, 1978). Frequentemente é instituída em programas de treinamento após a imobilização de um membro, pois como observado durante este período o músculo é capaz de se adaptar, reduzindo seu comprimento, diâmetro e elasticidade, dentre outras alterações (BOOTH e KELSO, 1973a; MACDOUGALL et al. 1977; GOLDSPINK e WILLIAMS, 1978; BOOTH & SEIDER, 1979; WILLIAMS e GOLDSPINK 1984; WILLIAMS et al. 1988; JÄRVINEN et al. 1992; DENOTH et al. 2002).

A manutenção do comprimento muscular é de grande importância clínica, pois quanto maior o comprimento muscular, maior será sua capacidade de gerar tensão até um determinado limite (DURIGON, 1995).

A análise do músculo em diferentes comprimentos leva em consideração a presença de dois componentes, um elástico e o outro visco-elástico (CAVAGNA et al. 1968).

Quando avaliamos a curva carga *versus* alongamento de um material observamos a presença de dois comportamentos. Um desses comportamentos é o elástico. Um material responde elasticamente quando retorna à sua forma e comprimento originais após a retirada de uma determinada carga inicialmente imposta (HIBBELER, 2000). Na unidade músculo-tendínea este componente é representado pelas estruturas capazes de absorverem energia como os tendões e parte das estruturas que unem os filamentos de actina e miosina (HUXLEY e SIMMONS, 1971). Flitney & Hirst (1978) consideram que quando um músculo é alongado passivamente o alongamento inicial ocorre no componente elástico em série.

O outro comportamento visualizado nos materiais é o plástico, presente quando um leve aumento na carga acima do limite elástico resulta em uma acomodação do material causando alongamento permanente, mesmo após a retirada desta carga (HIBBELER, 2000).

Madding (1987 *apud* KISNER e COLBY, 1998) avaliaram o alongamento passivo dos abdutores do quadril em humanos saudáveis por 15 segundos, 45 segundos e 2 minutos na mesma intensidade. O alongamento de 15 segundos foi tão efetivo quanto ao de dois minutos para o ganho de amplitude de movimento. Já Bandy & Irion (1994) realizaram o alongamento diário dos músculos isquiotibiais durante 15, 30 e 60 segundos. Concluíram que alongamentos de 30 e de 60 segundos aumentaram mais a amplitude de movimento que o de 15 segundos, mas não havia diferença estatisticamente significativa entre o alongamento de 30 e 60 segundos.

Os treinos apropriados de flexibilidade e alongamento pré-exercício podem reduzir a rigidez articular, retração dos músculos e tendões e a dor muscular relacionada ao exercício. Por exemplo, os músculos gastrocnêmio e sóleo podem ter a probabilidade da incidência de uma nova lesão reduzida a 1% como resultado a exercícios de alongamento (WHITING e ZERNICKE, 2001).

Kirsch et al. (1985), observaram que o alongamento muscular e dos tecidos adjacentes são comumente usados para manter ou aumentar a flexibilidade e a amplitude de movimento. Neste estudo avaliaram a técnica de alongamento aplicado em três movimentos iniciais de dorsiflexão da articulação do tornozelo de humanos, além de avaliarem o torque gerado nessa articulação. A técnica empregada foi

realizada com uma variação inicial da amplitude em 0 rad a 0,4 rad intervalados por 5 segundos, em seguida foi realizado um único movimento sustentado por 60 segundos, e posteriormente foram realizados outros três movimentos com 5 segundos de intervalo até o final da amplitude. Os resultados desse estudo demonstraram que o alongamento empregado não promoveu alterações permanentes na amplitude de movimento do tornozelo.

Estes mesmos autores relataram que as propriedades viscoelásticas do material rico em colágeno durante a técnica de alongamento mantido por 60 segundos produz um decréscimo transitório na resistência articular para a realização do movimento melhorando a amplitude, porém esta mudança só se torna permanente durante a aplicação da técnica por um longo período.

Poucos estudos foram encontrados descrevendo o uso do alongamento e a avaliação das propriedades mecânicas dos músculos.

Almeida-Silveira et al. (1994), observaram as propriedades mecânicas e a transição das fibras no músculo sóleo de ratos. Afirmaram que a aplicação de exercícios cíclicos de encurtamento-relaxamento por um período de 12 semanas de treinamento induz a um significativo aumento na porcentagem de fibras tipo II e uma redução nas fibras tipo I. Tal alteração promove redução no tempo e aumenta a velocidade de contração máxima do músculo. Ainda relataram que o componente elástico em série também sofre alterações com aumento na sua complacência.

James et al. (1997), avaliaram as propriedades do músculo latíssimo dorsal submetido a uma técnica de alongamento passivo produzido progressivamente através da infusão de solução salina no interior de um balão envolvido pelo músculo. Quando combinado alongamento e EENM promovem aumento de massa muscular, porém a capacidade de gerar força reduz cerca de 80%. O alongamento mantido e progressivo promoveu um aumento de 36% na força do músculo, porém não houve diferença significativa com o controle.

Lin et al. (1999), avaliaram o mecanismo de lesão por estiramento da unidade músculo tendínea durante um alongamento passivo de alta velocidade. Esse método de avaliação demonstrou que grande parte do alongamento ocorreu no músculo, resultando em falha estrutural. Concluíram que o músculo é um bom armazenador de energia durante um processo de ruptura por estiramento, conseqüentemente,

prevenindo a completa falha de sua estrutura, além de proteger ossos e articulações de possíveis danos.

Okita et al. (2001), avaliaram a ação do alongamento do músculo sóleo de ratas da variedade *wistar*. A técnica foi empregada 6 vezes por semana por um período de 4 semanas após 3 semanas de imobilização gessada realizada bilateralmente. O alongamento passivo foi empregado em um único exercício mantido por 30 minutos com os animais sobre anestesia. Observaram que após o período de tratamento o diâmetro das fibras tipo I e II aumentaram significativamente em relação aos grupos imobilizado e o imobilizado e liberado, porém não foi constatada diferença em relação ao controle. Quanto à porcentagem das fibras foi observado redução no número de fibras tipo I e aumento do número de fibras tipo II em todos os grupos em relação ao controle. Concluíram que a atrofia induzida pelo desuso e tratada com alongamento passivo mantido por 30 minutos é capaz de acelerar a recuperação do músculo, além de torná-lo hipertrófico.

1.5 Ensaio mecânico de tração

O ensaio mecânico de tração é um artifício utilizado pela engenharia para avaliar as propriedades mecânicas dos materiais. Esta técnica de avaliação consiste em submeter o material a um esforço que promova alongamento, em que os parâmetros utilizados devem ser previamente padronizados para permitir possíveis reproduções dos resultados (Souza, 1974). Este teste é o mais utilizado para determinação das propriedades mecânicas dos materiais biológicos (SHIMANO e SHIMANO, 2000).

Durante a realização do ensaio a deformação sofrida por um determinado material, pela ação de forças externas produz trabalho que é transformado em energia (SOUZA, 1974).

Um exemplo da aplicação deste tipo de ensaio (tração) é descrito por Lin et al. (1999), onde avaliaram o mecanismo de lesão por distensão em uma unidade músculo - tendínea durante a aplicação de alongamento passivo de alta velocidade.

Em seu estudo James et al. (1997) relataram que quando um músculo ou osso está sujeito à ação de cargas externas ocorre uma reação de forças internas. Essas forças distribuem-se pela área dentro do objeto, sendo definidas em termos de força por unidade de área. Afirmaram ainda que é comum ocorrer deformação quando um objeto é submetido a uma carga externa.

Cornwall (1984) relata em seu estudo que os principais tipos de estresse mecânico sofridos pelos tecidos são o de tração, compressão e o cisalhamento. O estresse de tração é encontrado em todos os tendões durante a contração do músculo correspondente, assim como nos ligamentos quando resistem à carga e fixam a articulação. As lesões ligamentares e tendinosas são quase sempre a consequência direta do estresse de tração que ultrapassa a resistência do tecido biológico.

1.6 Objetivo

Avaliar a influência da estimulação elétrica neuromuscular (EENM) e do alongamento passivo manual nas propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio de ratas submetidas à imobilização gessada.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 Animais

Foram utilizadas 60 ratas (*Rattus Norvegicus Albinus*) da variedade *Wistar*, adultas jovens, com massa corporal média de $(196,27 \pm 29,41)$ g, fornecidas pelo Biotério Central da Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo (USP). Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas, separados em número de dois, onde permaneceram em temperatura ambiente, com livre acesso à alimentação padrão e água *ad libitum*, no Biotério do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

Inicialmente os animais foram pesados, identificados e numerados através de furos realizados nas orelhas. Ao final de cada etapa do experimento os animais foram submetidos a uma nova pesagem.

2.1.1 Grupos Experimentais

Os grupos que compõem o experimento foram assim distribuídos: GC - Controle; GI - Imobilizado; GIA - Imobilizado e posteriormente reabilitado com alongamento; GIE - Imobilizado e posteriormente reabilitado com EENM; GIEA - Imobilizado e posteriormente reabilitado com EENM e alongamento e GIL - Imobilizado e liberado por 10 dias consecutivos.

2.2 Descrição dos grupos

2.2.1 Controle (GC)

Composto por 10 animais que permaneceram separados em número de 2 por gaiola plástica por um período de 14 dias, a fim de obedecer o mesmo período de contenção dos demais grupos. Transcorrido o período de permanência nas gaiolas plásticas os animais foram submetidos à morte pela administração via intraperitonal de uma dose letal do anestésico *Tiopental*[®]. Em seguida o material foi coletado para a realização do ensaio mecânico do músculo gastrocnêmio. Este procedimento foi comum a todos os demais grupos.

2.2.2 Imobilizado (GI)

Composto por 10 animais com as mesmas características físicas do grupo controle. Estes permaneceram com o membro posterior direito imobilizado por um período de 14 dias consecutivos.

2.2.3 Imobilizado e reabilitado com alongamento passivo manual (GIA)

Composto por 10 animais nos quais o membro posterior direito foi imobilizado por 14 dias consecutivos conforme os demais grupos. Depois de transcorrido todo o período de imobilização os animais foram submetidos uma técnica de alongamento muscular por 10 dias consecutivos.

2.2.4 Imobilizado e reabilitado com estimulação elétrica neuromuscular (GIE)

Composto por 10 animais nos quais o membro posterior direito foi imobilizado por 14 dias consecutivos e em seguida foram submetidos a EENM num período de 10 dias consecutivos.

2.2.5 Imobilizado e reabilitado com estimulação elétrica neuro-muscular somado ao alongamento passivo manual (GIEA)

Composto por 10 animais nos quais o membro posterior direito foi imobilizado por 14 dias consecutivos e logo após o período de imobilização os animais foram submetidos a técnica de EENM e em seguida aplicada à técnica de alongamento passivo manual.

2.2.6 Imobilizado e liberado (GIL)

Composto por 10 animais. Estes tiveram o membro posterior direito imobilizado por um período de 14 dias. Em seguida foram deixados livres nas gaiolas por um período de 10 dias consecutivos.

2.3 Técnica de imobilização

A imobilização do membro posterior direito dos animais foi realizada através de um aparelho gessado que incluía a pelve, quadril e joelho em total extensão; a articulação do tornozelo também foi incluída dentro do aparelho, sendo que o mesmo permaneceu em flexão plantar (Figura 1). Os animais foram previamente anestesiados por **Tiopental[®]** (*Tiopental Sódico*, 1g de sal diluído em 40 ml de solução fisiológica 0,9 % NaCl) dose estipulada em 0,2mg/100g, administrado via intraperitonal. Em seguida, tiveram o membro posterior direito e cintura pélvica envolvidos por uma malha tubular e ataduras de algodão a fim de evitar ulcerações. Logo, essa mesma região foi envolvida por uma atadura gessada de secagem rápida com 2,5cm de largura, aplicada de maneira convencional. O gesso foi substituído quando necessário. Os animais permaneceram imobilizados por duas semanas (14 dias consecutivos) e separados em número de 2 em gaiolas plásticas com livre acesso a água e ração. A imobilização gessada não impediu a alimentação e locomoção dos animais dentro da gaiola.

Figura 1 - Animal com o membro posterior direito imobilizado.

2.4 Técnica de estimulação elétrica neuromuscular.

Para a intervenção por meio de EENM, foi utilizado um gerador de corrente marca IBRAMED, modelo *NEURODYN II Compact*[®] (Figura 2). Este aparelho apresenta as seguintes características: Faixa de frequência de pulso variável entre 10 a 166Hz; ciclo on entre 2 a 20s; ciclo off de 3,5 a 38s; tempo de subida do trem de pulso: 2.5s tempo de descida do trem de pulso: 0.5s; faixa de amplitude de 0 a 80 mA; duração de pulso variando automaticamente de 25 a 280 μ s e a forma da onda é quadrada bifásica assimétrica.

Figura 2 - Aparelho NEURODYN II Compact[®]

Os parâmetros utilizados para estimulação dos animais foram: frequência de 50Hz, ciclo *on* de 13s, ciclo *off* de 22s e uma intensidade de aproximadamente 1mA (medidos por uma resistência de 100 Ω , conforme estudo piloto) capaz de promover uma contração sustentada e visível do músculo. Antes da estimulação elétrica todos os animais foram submetidos à tricotomia das regiões lombar e porção ventral do músculo gastrocnêmio direito. Tal medida visou facilitar a condução da corrente elétrica. Durante o período de tratamento pela EENM os animais foram previamente anestesiados com *Tiopental*[®] (1g de sal diluído em 40 ml de solução fisiológica 0,9 % NaCl) na dose estipulada em 0,2mg/100g, administrado via intraperitoneal. A EENM foi realizada por 10 dias consecutivos com tempo de estimulação de 10 minutos diários, procurando realizar sempre no mesmo período do dia, pela manhã.

A corrente foi transmitida ao animal através de cabos e eletrodos (carbono-silicone). Inicialmente foi aplicada uma camada fina de gel hidrofílico de pH neutro, com aproximadamente 1mm de espessura a um eletrodo com formato retangular de dimensões 5x3cm, em seguida fixado por fita adesiva a região lombar do animal (Figura 4A e 4B). O outro eletrodo utilizado para a estimulação local do músculo gastrocnêmio foi uma caneta desenvolvida em menor escala e com um diâmetro de 5,4mm (Figura 3). Também foi utilizada uma camada, do mesmo gel para a adequada condução da corrente ao músculo.

Figura 3 – Caneta eletrodo desenvolvida em menor escala para a estimulação do músculo gastrocnêmio.

Figura 4 – Técnica de estimulação elétrica neuromuscular (EENM) em detalhe: A – disposição das fixações das fitas adesivas e eletrodos. B – Outro ângulo de visualização da EENM na superfície cutânea do animal.

4.5 Técnica de alongamento passivo manual.

A técnica de alongamento passivo manual foi realizada com a articulação do joelho do membro estudado em extensão completa, pois nesta posição o alongamento do músculo gastrocnêmio é mais efetivo devido sua origem estar presente no fêmur. Uma força não quantificada foi aplicada na porção plantar da pata posterior direita realizando o movimento de dorsiflexão da articulação do tornozelo, gerando um alongamento passivo do músculo gastrocnêmio das ratas (Figura 5) por um período de 15 segundos cronometrados. Esta técnica de alongamento foi implementada em uma única série de 10 exercícios passivos com intervalos de 30 segundos de descanso, por um período de 10 dias consecutivos. A atividade foi realizada sempre no mesmo período do dia, pela manhã.

Figura 5 – Técnica de alongamento passivo manual do músculo gastrocnêmio.

O grupo imobilizado e reabilitado com as técnicas de estimulação elétrica neuromuscular e alongamento passivo manual obedeceu a mesma padronização técnica utilizada na EENM e no alongamento. Primeiramente foi realizado a EENM e posteriormente foi aplicada à técnica de alongamento passivo manual.

2.6 Coleta do material

Ao final de cada fase experimental, os animais foram pesados e submetidos à eutanásia através da administração via intraperitoneal de uma dose excessiva de *Tiopental*[®].

O membro posterior direito de cada animal foi retirado através da desarticulação do quadril. O músculo gastrocnêmio foi dissecado preservando a origem no terço distal do fêmur e a inserção no calcâneo. A peça obtida após a dissecação está demonstrada na figura 6. Após a dissecação das peças, os músculos tiveram o seu comprimento avaliado. O material coletado era depositado em um recipiente contendo solução de Ringer lactato, em temperatura ambiente, para a realização do transporte até a máquina universal de ensaios.

Figura 6 – Peça dissecada; detalhes para origem e inserção preservada.

2.7 Ensaio de tração

Para o ensaio de tração do músculo gastrocnêmio foi utilizada a máquina universal de ensaio EMIC®- modelo DL10000 (Figura 7) do laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, equipada com uma célula de carga 50Kgf. A máquina universal de ensaio está ligada diretamente a um microcomputador equipada com software capaz de obter os valores de carga e alongamento com precisão.

Foi utilizado um acessório especial para fixação e realização dos ensaios de tração dos músculos, o mesmo permitiu que o músculo fosse submetido ao ensaio preservando a origem e inserção muscular (Figura 8).

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 uma pré - carga de 0,30Kgf, a velocidade do ensaio foi de 10mm/min, os limites de carga e alongamento foram de 8,00Kgf e 25mm, respectivamente. Após a realização de cada ensaio foi observado o local de rompimento das fibras musculares.

Para cada aumento de carga aplicado ao músculo foi obtido um valor resultante de alongamento, o que possibilitou a construção de gráficos carga *versus* alongamento, através do programa *Microsoft Excel 2000*®.

Figura 7 - Máquina universal de ensaio EMIC® - modelo DL10000.

Figura 8 - Peça fixada pelos acessórios na máquina universal de ensaios.

2.8 Propriedades mecânicas

Mediante aos gráficos carga *versus* alongamento, foi possível a realização dos cálculos das seguintes propriedades mecânicas: limite de proporcionalidade, limite máximo, rigidez e resiliência.

Observa-se na figura 9 a forma como foram determinadas as propriedades mecânicas: LP representa o limite de proporcionalidade, LM representa o limite máximo, a rigidez é dada pelo tangente do ângulo e a resiliência é representada pela área do triângulo O - A - LP.

Figura 9- Gráfico carga *versus* alongamento, a partir do qual são obtidas as principais propriedades mecânicas do ensaio de tração

2.8.1 Limite de Proporcionalidade (LP)

O limite de proporcionalidade é o último ponto onde se encontra o segmento linear do gráfico carga *versus* alongamento. As coordenadas obtidas a partir deste ponto representam o limite de proporcionalidade para a carga (C_p) e alongamento (A_p).

2.8.2 Limite Máximo (LM)

É o maior valor da carga e respectivo alongamento observados em cada ensaio realizado até o rompimento muscular.

2.8.3 Rigidez (R)

A rigidez também tida como rigidez estrutural (KISNER e KOLBY, 1998) é obtida na fase elástica do material, determinado pela inclinação da curva carga *versus* alongamento, calculada pela tangente do ângulo θ formado (eq.1).

$$R = \text{Tg}\theta = \frac{C_p}{A_p} \quad (1)$$

2.8.4 Resiliência (E')

A resiliência se define como sendo a capacidade que todo material possui em absorver energia na fase elástica. Pode ser obtida calculando-se a área abaixo da curva carga *versus* alongamento (eq. 2) durante a fase elástica, delimitada pelo triângulo O-A-LP demonstrado na figura 10.

$$E' = \text{área do } \Delta \text{ O - A - LP} = \frac{C_p \times A_p}{2} \quad (2)$$

2.9 Análise Estatística

Os dados obtidos nos ensaios de tração dos músculos foram submetidos a análise estatística. Para a análise simultânea dos grupos foi utilizado o teste *ANOVA* e para comparação entre os grupos foi utilizado o teste “*Tukey-Kramer*”, sendo adotado para ambos um nível de significância 5%. Esta análise foi realizada através do programa *InStat – Graph Pad*[®], v.3.0.

3 RESULTADOS

Os valores médios de massa corporal dos animais avaliados no início e término do período experimental podem ser observados na tabela 1.

TABELA 1 – Valores médios de massa corporal dos animais.

Grupos	Período	Massa corpórea (g)
GC	Início	179,00 ± 6,58
	Após 14 dias	221,00 ± 8,75
GI	Início	183,50 ± 15,64
	Após 14 dias de imobilização	165,50 ± 15,89
GIA	Início	192,50 ± 10,86
	Após 14 dias de imobilização	168,50 ± 18,26
	Após 10 dias de alongamento	205,50 ± 12,12
GIE	Início	196,50 ± 16,33
	Após 14 dias de imobilização	181,00 ± 12,86
	Após 10 dias de EENM	212,50 ± 20,44
GIEA	Início	179,00 ± 15,23
	Após 14 dias de imobilização	165,00 ± 12,01
	Após 10 dias de alongamento e EENM	195,50 ± 7,24
GIL	Início	170,00 ± 8,16
	Após 14 dias de imobilização	160,50 ± 10,65
	Após 10 dias de liberação	211,50 ± 13,13

Em alguns animais foi observada a formação de ulceração cutânea na pata imobilizada. Dentre eles estavam 1 animal do grupo 2, 2 animais do grupo 3 e 1 animal do grupo 5. Estas lesões cicatrizaram espontaneamente após a retirada da imobilização.

Durante os ensaios mecânicos de tração, foram observados os locais de ruptura do conjunto avaliado. Estes resultados estão expressos na tabela 8, sendo observado um total de 86,66% de ruptura no ventre muscular. Na origem e inserção foi observada uma porcentagem de respectivamente 5% e 8,33% das rupturas musculares durante o procedimento de ensaio.

TABELA 2 – Locais de ruptura dos músculos gastrocnêmio avaliados.

Locais de ruptura			
Grupos	Ventre	Origem	Inserção
GC	9	0	1
GI	8	1	1
GIA	9	1	0
GIE	8	0	2
GIEA	9	0	1
GIL	9	1	0
Total	52	3	5

3.1 Curvas carga *versus* alongamento

As curvas carga *versus* alongamento dos grupos experimentais, obtidas a partir dos ensaios mecânicos dos músculos gastrocnêmios, estão expressas nas figuras 10 a 15. Os valores das propriedades mecânicas obtidas nos grupos experimentais podem ser visualizados no anexo A.

Figura 10 – Curvas carga vs alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo controle.

Figura 11– Curvas carga vs alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo imobilizado.

Figura 12 – Curvas carga vs alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo imobilizado e submetido ao tratamento por alongamento.

Figura 13 – Curvas carga vs alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo imobilizado e submetido ao tratamento por EENM.

Figura 14 – Curva carga vs alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo imobilizado e submetido ao tratamento por EENM somado a técnica de alongamento passivo manual.

Figura 15– Curvas carga vs alongamento dos 10 músculos avaliados no grupo imobilizado e submetido à liberação por 10 dias consecutivos.

3.2 Carga no limite de proporcionalidade

Os valores médios de carga no limite de proporcionalidade foram para os grupos, GC ($26,08 \pm 2,28$) N; GI ($14,64 \pm 2,47$) N; GIA ($21,85 \pm 3,54$) N; GIE ($25,95 \pm 5,23$) N; GIAE ($20,56 \pm 3,24$) N e o GIL ($16,46 \pm 1,93$) N.

Figura 16 - Comparações entre os valores médios de carga no limite de proporcionalidade

Na análise estatística simultânea entre os grupos foi observada diferença significativa ($p < 0,001$). A análise estatística para a comparação entre os valores médios de carga no limite de proporcionalidade indicou, diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos GC X (GI; GIA; GIAE e GIL), GI X (GIA; GIE e GIAE), GIA X GIL, GIE X (GIEA; GIL) e GIEA X GIL. As demais comparações estão expressas na tabela 3.

TABELA 3 – Análise estatística da carga no limite de proporcionalidade obtida entre os grupos experimentais.

	GC	GI	GIA	GIE	GIEA	GIL
GC	-	$p < 0,001$	$p < 0,05$	NS	$p < 0,01$	$p < 0,001$
GI	-	-	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	NS
GIA	-	-	-	NS	NS	$p < 0,01$
GIE	-	-	-	-	$p < 0,05$	$p < 0,001$
GIEA	-	-	-	-	-	$p < 0,05$
GIL	-	-	-	-	-	-

NS – Não significante.

3.3 Alongamento no limite de proporcionalidade

Os valores médios de alongamento no limite de proporcionalidade obtidos nos ensaios mecânicos dos músculos gastrocnêmios dos animais foram para os grupos, GC $(7,41 \pm 0,89) \times 10^{-3} \text{m}$; GI $(5,78 \pm 1,10) \times 10^{-3} \text{m}$; GIA $(7,19 \pm 0,99) \times 10^{-3} \text{m}$; GIE $(7,79 \pm 1,69) \times 10^{-3} \text{m}$; GIEA $(6,75 \pm 0,59) \times 10^{-3} \text{m}$ e o GIL $(5,23 \pm 0,94) \times 10^{-3} \text{m}$.

Figura 17 - Comparações entre os valores médios de alongamento no limite de proporcionalidade.

A análise estatística simultânea entre os grupos mostrou diferença significativa ($p < 0,001$). A análise estatística para a comparação entre os valores médios do alongamento no limite de proporcionalidade indicou, diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos GC X (GI e GIL), GI X GIE e GIE X GIL. As demais comparações estão expressas na tabela 4.

TABELA 4 – Análise estatística do alongamento no limite de proporcionalidade.

	GC	GI	GIA	GIE	GIEA	GIL
GC	-	$p < 0,05$	NS	NS	NS	$p < 0.05$
GI	-	-	NS	$p < 0,05$	NS	NS
GIA	-	-	-	NS	NS	NS
GIE	-	-	-	-	NS	$P < 0.05$
GIEA	-	-	-	-	-	NS
GIL	-	-	-	-	-	-

NS – Não significante.

3.4 Carga no limite máximo

Os valores médios de carga no limite máximo obtidos nos ensaios mecânicos dos músculos gastrocnêmios dos animais foram para os grupos GC ($33,45 \pm 1,34$) N; GI ($19,04 \pm 1,96$) N; GIA ($25,23 \pm 3,63$) N; GIE ($31,55 \pm 5,01$) N; GIEA ($26,75 \pm 3,15$) N e GIL ($21,84 \pm 3,51$) N.

Figura 18– Comparações entre os valores médios de carga no limite máximo.

Na análise estatística simultânea dos resultados de carga no limite máximo dos grupos houve diferença significativa ($p < 0,05$). A análise estatística para a comparação entre os valores médios de carga no limite de máximo indicou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos GC X (GI; GIA; GIEA e GIL), GI X (GIA; GIE e GIEA), GIA X GIE, GIE X GIL e GIEA X GIL. As demais comparações estão expressas na tabela 5

TABELA 5 – Análise estatística dos valores médios de carga no limite máximo entre os grupos experimentais.

	GC	GI	GIA	GIE	GIEA	GIL
GC	-	$p < 0,001$	$p < 0,001$	NS	$p < 0,001$	$p < 0,001$
GI	-	-	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	NS
GIA	-	-	-	$p < 0,01$	NS	NS
GIE	-	-	-	-	NS	$p < 0,001$
GIEA	-	-	-	-	-	$p < 0,01$
GIL	-	-	-	-	-	-

NS – Não significativa

3.5 Alongamento no limite máximo

Os valores médios de alongamento no limite máximo apresentados pelos grupos foram para o GC ($12,73 \pm 1,19$) $\times 10^{-3}$ m; GI ($8,77 \pm 1,51$) $\times 10^{-3}$ m; GIA ($9,24 \pm 1,04$) $\times 10^{-3}$ m; GIE ($11,43 \pm 2,32$) $\times 10^{-3}$ m; GIEA ($11,36 \pm 1,99$) $\times 10^{-3}$ m e o GIL ($9,47 \pm 2,05$) $\times 10^{-3}$ m.

Figura 19- Comparações entre os valores médios de alongamento no limite máximo.

Na análise simultânea dos grupos foi observada diferença estatística significativa ($p < 0,001$). A análise estatística para a comparação entre os valores médios de carga no limite máximo indicou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos GC X (GI; GIA e GIL), GI X (GIE e GIEA). As demais comparações estão expressas na tabela 6.

TABELA 6 – Análise estatística dos valores médios de alongamento no limite máximo entre os grupos experimentais.

	GC	GI	GIA	GIE	GIEA	GIL
GC	-	$p < 0,001$	$p < 0,001$	NS	NS	$p < 0,001$
GI	-	-	NS	$p < 0,05$	$p < 0,05$	NS
GIA	-	-	-	NS	NS	NS
GIE	-	-	-	-	NS	NS
GIEA	-	-	-	-	-	NS
GIL	-	-	-	-	-	-

NS – Não significante

3.6 Rigidez

Os valores médios de rigidez dos músculos gastrocnêmios dos animais foram para GC ($3,66 \pm 0,33$) $\times 10^3$ N/m; GI ($2,31 \pm 0,64$) $\times 10^3$ N/m; GIA ($3,34 \pm 0,57$) $\times 10^3$ N/m; GIE ($3,40 \pm 0,74$) $\times 10^3$ N/m; GIEA ($3,20 \pm 0,59$) $\times 10^3$ N/m e GIL ($2,83 \pm 0,42$) $\times 10^3$ N/m.

Figura 20 - Comparações entre os valores médios de rigidez.

A análise estatística simultânea dos grupos demonstrou diferença significativa ($p < 0,0001$) com o teste *ANOVA*. A análise estatística para a comparação entre os valores médios de rigidez dos grupos indicou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos GC X (GI e GIL), GI X (GIA; GIE e GIEA). As demais comparações estão expressas na tabela 7.

TABELA 7 – Análise estatística dos valores de rigidez..

	GC	GI	GIA	GIE	GIEA	GIL
GC	-	$p < 0,001$	NS	NS	NS	$p < 0,05$
GI	-	-	$p < 0,01$	$p < 0,001$	$p < 0,05$	NS
GIA	-	-	-	NS	NS	NS
GIE	-	-	-	-	NS	NS
GIEA	-	-	-	-	-	NS
GIL	-	-	-	-	-	-

NS – Não significante.

3.7 Resiliência

Os valores médios de resiliência obtidos foram para GC ($97,15 \pm 22,30$) $\times 10^{-3}$ J; GI ($52,78 \pm 17,09$) $\times 10^{-3}$ J; GIA ($81,95 \pm 18,31$) $\times 10^{-3}$ J; GIE ($93,71 \pm 26,62$) $\times 10^{-3}$ J; GIEA ($70,06 \pm 13,70$) $\times 10^{-3}$ J e GIL ($44,68 \pm 12,71$) $\times 10^{-3}$ J.

Figura 21 - Comparações entre os valores médios de resiliência.

A análise estatística simultânea entre os grupos realizada com o teste ANOVA mostrou diferença significativa ($p < 0,001$). A análise estatística para a comparação entre os valores médios de resiliência dos grupos indicou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos GC X (GI; GIAE e GIL), GI X (GIA e GIE), GIA X GIL e GIE X GIL. As demais comparações estão expressas na tabela 8.

TABELA 8 – Análise estatística capacidade de absorver energia na fase elástica.

	GC	GI	GIA	GIE	GIEA.	GIL
GC	-	$p < 0,001$	NS	NS	$p < 0,05$	$p < 0,001$
GI	-	-	$p < 0,05$	$p < 0,001$	NS	NS
GIA	-	-	-	NS	NS	$p < 0,05$
GIE	-	-	-	-	NS	$p < 0,001$
GIEA	-	-	-	-	-	NS
GIL	-	-	-	-	-	-

NS – Não significante.

As curvas representativas dos limites de proporcionalidade e limite máximo podem ser visualizadas na figura 23.

Figura 22 – Curvas representativas dos valores médios do limite de proporcionalidade e do limite máximo

4 DISCUSSÃO

Para a avaliação das propriedades mecânicas dos tecidos biológicos as variáveis do estudo devem ser previamente padronizadas para permitir confiabilidade e a reprodutibilidade dos resultados (SHIMANO e SHIMANO, 2000).

Um estudo piloto foi realizado com o intuito de promover a padronização das variáveis do experimento, tais como, espécie animal a ser utilizada, faixa etária, massa corpórea ideal, anestésico, técnicas de imobilização, alongamento e estimulação elétrica, eutanásia, coleta do material, metodologia do ensaio mecânico e propriedades mecânicas a serem avaliadas.

Nos estudos consultados para o desenvolvimento deste trabalho observamos que muitos adotam modelos animais para a realização do experimento, dentre eles, ratos da variedade *Sprague - Dawley* e da variedade *Wistar* (BOOTH e KELSO, 1973; BOOTH e SEIDER, 1979; TUCKER et al. 1981, WITZMANN et al. 1982; BINKLEY et al. 1986; WANG e KERNELL, 2000). Neste estudo foram utilizadas ratas da variedade *Wistar* por serem considerados bons modelos experimentais e de fácil manuseio.

A disposição anatômica do músculo gastrocnêmio destes animais se assemelha a do homem, apresentando facilidades quanto a sua localização, identificação e acesso. Este fato permitiu a realização do ensaio mecânico de tração longitudinal preservando a origem e inserção músculo.

A análise histológica da peça não foi realizada devido ao ensaio mecânico ser de caráter destrutivo, o que impossibilita a utilização posterior do material.

As técnicas de manuseio, anestesia e eutanásia dos animais utilizados foram

executadas em conformidade com as normas estabelecidas pela *Comissão de Ética no Uso de Animais* (CEUA) - Universidade de São Paulo - Campus Ribeirão Preto (Anexo B).

A única dificuldade encontrada durante a execução do estudo piloto foi referente ao tempo de permanência do animal com a imobilização. O método de enfaixamento pela malha gessada adotado inicialmente não permitiu que o animal ficasse imobilizado por um período superior a três dias. Assim, após alguns testes, fizemos a opção por um método semelhante ao desenvolvido por Booth e Kelso (1973), porém modificado para apenas um membro permitindo a imobilização por um período superior a 10 dias consecutivos.

O período de imobilização adotado neste estudo foi de 14 dias, período capaz de reduzir a síntese de proteínas e gerar atrofia acentuada do músculo. (BOOTH E SEIDER, 1979; WILLIAMS E GOLDSPIK, 1984).

O posicionamento do membro durante a realização da imobilização deve ser observado para que algumas complicações sejam evitadas. Estudos demonstraram que o músculo se adapta de acordo com o estímulo que lhe é imposto, assim alterações de comprimento estão diretamente relacionadas com a posição de imobilização. A posição encurtada apresenta maior atrofia, maior quantidade de pontes conectivas, reduzindo assim o número de sarcômeros, e conseqüentemente o comprimento muscular (BOOTH e SEIDER, 1979; WILLIAMS e GOLDSPIK, 1984). Neste estudo a imobilização gessada foi utilizada com o músculo em posição encurtada na tentativa de induzi-lo a maiores adaptações em um curto período de tempo.

Um grupo específico para controle foi utilizado, sendo o membro contralateral dos animais imobilizados descartados. Embora vários trabalhos utilizem este membro como controle, é sabido que os músculos contralaterais sofrem alterações na morfologia e nas propriedades funcionais quando o membro oposto é imobilizado (HESLINGA et al., 1992).

O alongamento passivo manual é uma técnica simples de fácil aplicação e freqüentemente utilizada em programas de treinamento após a imobilização (KISNER e COLBY, 1998). Este procedimento foi realizado em um dos grupos experimentais, em que o tempo de aplicação e número de repetições desta técnica

foram de 15 segundos e uma série de 10 repetições. Kisner e Colby (1998) relataram que períodos de 15 a 30 segundos de alongamento são efetivos para o ganho de amplitude de movimento, entretanto não preconizaram o número de aplicações. Outros autores também afirmam que períodos curtos de alongamento, divididos em séries, são capazes de induzir a melhora da contratura e de promover aumento no comprimento muscular (MADDING, 1987 *apud* KISNER e COLBY, 1998; BANDY e IRION, 1994).

A estimulação elétrica neuromuscular (EENM) é uma modalidade eletroterapêutica versátil, geralmente integrada aos planos de tratamentos de seqüelas pós-imobilização. Todavia observamos que a maioria dos estudos presentes na literatura envolvendo a EENM se preocupam em avaliar a reeducação muscular, aumento da capacidade de gerar força (CURRIER et al. 1979; KRAMER, 1987), além da atuação deste estímulo nas propriedades contráteis e no metabolismo do músculo (BULLER et al. 1960). Poucas observações quanto à avaliação das propriedades mecânicas de músculos eletricamente estimulados foram encontradas (GARRET et al. 1987; CARAZZATO et al. 1985; WILLIAMS et al. 1988). Assim um dos objetivos deste estudo foi de avaliar as propriedades mecânicas do músculo estimulado eletricamente após a imobilização.

A EENM foi realizada em uma única aplicação diária por 10 dias consecutivos. O estabelecimento deste período se deu em função de alguns relatos demonstrarem ganho significativo de força em 10 sessões (CURRIER et al. 1979; SOO et al. 1988).

O aparelho utilizado neste estudo foi o *Neurodyn II –compact* que apresenta algumas características semelhantes aos demais presentes no mercado, como o de possuir apenas um tipo de onda. Kantor et al. (1994), relata que estes aparelhos são os ideais, pois na prática clínica a presença de vários tipos de ondas dificulta a correta intervenção e, também eleva os custos do estimulador. Além de que ondas em excesso não possuem vantagens na obtenção de fortes contrações.

A EENM, como relatado anteriormente, é aplicada por meio de eletrodos de superfície. Entretanto, a área de contato dos eletrodos depende da área de tecidos excitáveis a serem estimulados. Assim eletrodos com dimensões elevadas podem fazer com que o estímulo elétrico tenha ação em um músculo indesejado,

interferindo nos resultados finais (DELITO e SNYDER-MACKLER, 2001). Neste estudo foi desenvolvido um eletrodo do tipo “caneta” em menor escala que permitiu a estimulação do músculo gastrocnêmio das ratas de forma eficaz.

Na literatura pesquisada não existe um consenso entre qual a frequência correta para o fortalecimento, variando entre 30 a 75 Hz (DELITO e SNYDER-MACKLER, 2001). Neste estudo foi adotada uma frequência de 50 Hz. Esta frequência é preconizada por alguns autores como ideal para o restabelecimento da força muscular (LOW e REED, 2001; DELITO e SNYDER-MACKLER, 2001; WITZMANN et al. 1982; KRAMER, 1987).

O ciclo “on/ off” possuem a capacidade de evitar que o músculo entre em fadiga durante a EENM (BRASILEIRO, 2001). Neste estudo o ciclo *on* adotado foi de 13 segundos e ciclo *off* de 22 segundos. Conforme relatado por Martini (1995), é necessário um período de intervalo entre as contrações, pois durante uma contração muscular máxima a fonte energética primária (ATP-CP) fica limitada à apenas 10 a 15 segundos.

A intensidade de corrente deve ser determinada pela tolerância máxima de cada voluntário. Segundo SNYDER-MACKLER et al. (1994), existe uma correlação positiva entre força desenvolvida durante o treinamento e o ganho de força observado, devendo ser utilizados protocolos que produzam contrações máximas. Neste estudo, foi adotada uma intensidade de aproximadamente 1mA capaz de promover uma contração sustentada e visível do músculo.

A associação entre EENM a outros recursos é pouca estudada (MUNSAT et al. 1976). Não foram encontrados estudos que avaliassem as propriedades mecânicas do músculo esquelético quando utilizada as técnicas de EENM somada ao alongamento passivo manual.

Os resultados encontrados neste estudo quanto ao local de ruptura dos músculos avaliados estão em conformidade com os estudos de Järvinen (1976) e Carvalho (2001). Estes autores observaram que o local de maior ocorrência de rupturas é o ventre muscular. Atribuem este fato à quantidade de tecido muscular ser maior que a de tecido conjuntivo neste local, o que possivelmente pode favorecer o rompimento.

A avaliação da carga no limite máximo demonstra que os grupos controle e imobilizado/eletro - estimulado são semelhantes, no entanto os grupos remobilizados pelas técnicas de alongamento e estimulação elétrica somado ao alongamento passivo não apresentam valores semelhantes ao controle, mas apresentam uma tendência ao restabelecimento desta propriedade. Tal fato pode ser evidenciado pela diferença entre estes grupos e o grupo imobilizado. Nos grupos imobilizado e imobilizado - liberado a carga máxima foi reduzida significativamente.

Para a propriedade de alongamento limite máximo os grupos controle, imobilizado/eletro - estimulado e imobilizado/alongado/eletro-estimulado são semelhantes, no entanto a técnica de alongamento isolada não apresenta tal semelhança e ainda não apresenta diferença significativa em relação ao grupo apenas imobilizado. Estes resultados sugerem que o músculo remobilizado apenas por alongamento passivo apresenta uma menor capacidade de se alongar embora suporte carga semelhante aos músculos remobilizados pelas outras técnicas. O grupo imobilizado e liberado não apresenta semelhança com o grupo controle, no entanto não apresenta diferença estatística significativa quando comparada aos grupos submetidos às técnicas de eletro-estimulação, alongamento passivo e estas técnicas em conjunto, demonstrando que a liberação auxilia no restabelecimento desta propriedade não a parâmetros ditos controle.

A carga no limite de proporcionalidade foi reduzida significativamente no grupo imobilizado e no grupo imobilizado e liberado em relação aos grupos controle, imobilizado/eletro-estimulado e imobilizado/alongado/eletro-estimulado. Nas comparações entre os grupos controle e imobilizado - eletro-estimulado, não foi observado diferença estatística significativa sugerindo o restabelecimento desta propriedade a parâmetros de normalidade. Na comparação entre os grupos apenas imobilizado e imobilizado – liberado, também não houve diferença significativa o que demonstra que a liberação empregada por apenas 2 semanas não é capaz de devolver ao músculo esta propriedade. Os resultados sugerem que estas propriedades possam ser devolvidas ao músculo com o emprego de técnicas de remobilização e com liberação por um período superior a 2 semanas. Pois como evidenciado por Carvalho (2001) a remobilização livre por um período de 3 semanas é capaz de restabelecer estas propriedades semelhante ao controle. As técnicas de alongamento

e estimulação elétrica associada ao alongamento não foram capazes de restabelecer esta propriedade a valores semelhantes ao grupo controle.

Para a propriedade de alongamento no limite de proporcionalidade foi constatada semelhança entre os grupos controle, Imobilizado/alongado, Imobilizado/eletro-estimulado e imobilizado/alongado/eletro-estimulado. No entanto as técnicas de alongamento e estimulação elétrica associada ao alongamento passivo não apresentaram diferença significativa quando comparadas aos grupos apenas imobilizado e imobilizado/liberado.

Os resultados apresentados no limite de proporcionalidade sugerem que os músculos remobilizados por alongamento passivo e estimulação elétrica somado a técnica de alongamento passivo são capazes de suportar menor carga embora se alonguem semelhantes aos músculos controle. Sugere-se que este resultado seja dependente da carga imposta para a execução da técnica de alongamento passivo manual, carga esta não quantificada neste estudo, o que pode ter promovido a redução no suporte de carga no limite de proporcionalidade.

Houve redução significativa na rigidez para os músculos imobilizados, ou seja, o músculo se alongou mais para uma carga menor. Estas considerações devem ser observadas no processo de reabilitação para se evitar possíveis lesões por sobrecarga nesta estrutura. Os grupos imobilizado/alongado, imobilizado/eletro-estimulado e imobilizado/alongado/eletro-estimulado não apresentaram diferença estatística quando comparados aos grupos Controle e imobilizado/liberado. Os resultados sugerem que a remobilização pelas três técnicas contribui para o retorno desta propriedade. Já remobilização livre demonstra ser efetiva, no entanto necessita de um maior período de liberação para devolver ao músculo esta propriedade a valores semelhantes ao controle.

A energia absorvida na fase elástica ou resiliência foi maior nos grupos controle, imobilizado/alongado e imobilizado/eletro-estimulado. Não houve diferença estatística entre os grupos imobilizado e imobilizado somado a liberação, sugerindo que a menor resiliência destes músculos está relacionada com a posição de encurtamento em que foram mantidos. Segundo Järvinen et al. (1992) há aumento na quantidade de tecido conjuntivo no músculo quando imobilizado em posição encurtada, o que poderia deixá-lo menos elástico. Ao realizar as técnicas de EENM e

alongamento, o músculo não permaneceu imóvel o que sugere que estas técnicas realizadas de forma isolada possam ter contribuído para o retorno desta propriedade. No entanto quando empregadas em conjunto não contribuíram para o retorno desta propriedade. A habilidade do músculo em absorver energia sem se romper é importante para a prevenção de lesões. Como nos casos de algumas fraturas e distensões musculares, quando muita energia é absorvida, o material pode falhar ocasionando a ruptura num determinado local (LE VEAU, 1993). Neste caso um músculo que possua maior capacidade de absorver energia na fase elástica terá menor probabilidade de lesão em esforços extremos.

5 CONCLUSÃO

Concluimos que a imobilização provocou redução significativa nos valores das propriedades mecânicas avaliadas no músculo gastrocnêmio. A remobilização por alongamento passivo manual devolveu ao músculo as propriedades de alongamento no limite de proporcionalidade, rigidez e resiliência a padrões controle, entretanto não foi capaz de restabelecer as propriedades de carga no limite de proporcionalidade, carga e alongamento no limite máximo. A remobilização constituída por EENM restabeleceu todas as propriedades estudadas a padrões controle. A remobilização por estimulação elétrica somada ao alongamento passivo restabeleceu as propriedades mecânicas de alongamento no limite máximo, alongamento no limite de proporcionalidade e rigidez, no entanto não foi capaz de devolver ao músculo suas propriedades carga no limite máximo, carga no limite de proporcionalidade e resiliência. A remobilização livre não foi capaz de restabelecer nenhuma das propriedades a padrões controle.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-SILVEIRA, M.I. et al. (1994). Effects of stretch-shortening cycle training on mechanical properties and fibre type transition in the rat soleus muscle. *Pflügers Archiv*, Berlin, v.427, n.3-4, p.289-294.
- APPELL, H.J. (1986). Skeletal muscle atrophy during immobilization. *International Journal of Sports Medicine*, Stuttgart, v.7, n.1, p.1-5.
- AMERICAM PHYSICAL THERAPY ASSOCIATION. Section on Clinical Electrophysiology. (1990). *Electrotherapeutic terminology in physical therapy*. Chicago.
- ARMSTRONG, R.B.; PHELPS, R.O. (1984). Muscle fiber type composition of rat hindlimb. *Journal of Anatomy*, London, v.171, p.259-272.
- BACKER, L.L. et al. (1979). Electrical stimulation of wrist and fingers for hemiplegic patients. *Physical Therapy*, Chicago, v.59, n.12, p.1495-1499.
- BANDY, W.B.; IRION, J.M. (1994). The effects of time on static stretch on the flexibility of the hamstring muscles. *Physical Therapy*, Chicago, v.74, n.9, p.845-850.
- BICKEL, C.S. et al. (2003). Fatigability and variable-frequency train stimulation of human skeletal muscles. *Physical Therapy*, Chicago, v.83, n.4, p.366-373.
- BOOTH, F.W. (1977). Time course of muscular atrophy during immobilization of hindlimbs in rats. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.43, n.5, p.656-661.
- _____. (1987). Physiologic and biochemical effects of immobilization on muscle. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, Philadelphia, v.219, p.15-20.

BOOTH, F.H.; KELSO, J.R. (1973a). Effect of hind-limb immobilization on contractile and histochemical properties of skeletal muscle. *Pflügers Archiv*, Berlin, v.342, p.231-238.

_____. (1973b). Protection of rat muscle atrophy by cast fixation. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.34, n.3, p.404-406.

BOOTH, F.W.; SEIDER, M.J. (1979). Early change in skeletal muscle protein synthesis after limb immobilization of rats. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.47, n.5, p.974-977.

BRASILEIRO, J.S. (2001). *Efeitos da estimulação elétrica neuromuscular no torque do músculo quadríceps após a reconstrução do ligamento cruzado anterior*. 75p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2001.

BULLER, A.J.; ECCLES, J.C.; ECCLES, E.W. (1960). Differentiation of fast and slow muscles in the cat hind limb. *Journal of Physiology*, London, v.150, p.399-416.

CARAZZATO, J.G. et al. (1985). Estudo experimental da resistência muscular em condições normais e sob fadiga. *Revista Brasileira de Ortopedia*, Belo Horizonte, v.20, n.3, p.103–105.

CARVALHO, C.M.M. (2001). *Efeitos da imobilização e do exercício físico em algumas propriedades mecânicas do músculo esquelético*. 59p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2001.

CAVAGNA, G.A.; DUSMAN, B.; MARGARIA, R. (1968). Positive work done by previously stretched muscle. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.24, n.1, p.21-32.

CORNWALL, M.W. (1984). Biomechanics of noncontractile tissue: a review. *Physical Therapy*, Chicago, v.64, n.12, p.1869.

COUTINHO, E.L. et al. (2002). A new model for the immobilization of the rat hind limb. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, Ribeirão Preto, v.35, n.1, p.1329-1332.

CURRIER, D.P.; LEHMAN, J.; LIGHTFOOT, P. (1979). Electrical stimulation in exercise of the quadriceps femoris muscle. *Physical Therapy*, Chicago, v.59, n.12, p.1508-1512.

DELITO, A.; SNYDER-MACKLER, L. (2001). Estimulação elétrica do músculo: técnicas e aplicações. In: ROBINSON, A.J.; SNYDER – MACKLER, L. *Eletrofisiologia clínica*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed. p.119-145.

DENOTH, J. et al. (2002). Single muscle fiber contraction is dictated by inter – sarcomere dynamics. *Journal of Theoretical Biology*, London, v.216, p.101-122.

DURIGON, O.F.S. (1995). O alongamento muscular. Parte I – a interação neuromuscular. *Revista de Fisioterapia da Universidade de São Paulo*, São Paulo, v.2, n.1, p.40-44.

_____. (1995). O alongamento muscular. Parte II – a interação mecânica. *Revista de Fisioterapia da Universidade de São Paulo*, São Paulo, v.2, n.2, p.72-79.

ERIKSON, E.; HAGGMARK, T.; KIESSLING, H. (1981). Effects of electrical stimulation on human skeletal muscle. *American Journal of Sports Medicine*, Columbus, v.2, n.1, p.18-22.

FLITNEY, F.W.; HIRST, D.G. (1978). Cross bridge detachment and sarcomere “give” during stretch of active frog’s muscle. *Journal of Physiology*, London, v.276, p.449.

FULBRIGHT, J.S. (1984). Electrical stimulation to reduce chronic toe- flexor hypertonicity. A case report. *Physical Therapy*, Chicago, v.64, n.4, p.523-525.

GOLDSPINK, G.; WILLIAMS, P.E. (1978). The nature of increased passive resistance in muscle following immobilization of the mouse soleus muscle. *Journal of Physiology*, London, v.289, p.55.

GUYTON, A.C.; HALL, J. (1996). *Tratado de fisiologia médica*. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

HESLINGA, J.W.; ROZENDAL, R.H.; HUIJING, P.A. (1992). Unilateral immobilization affects contralateral rats gastrocnemius muscle architecture. *Acta Anatômica*, Basel, v.143, n.3, p.231-235.

HIBBELER, R.C. (2000). *Resistência dos materiais*. 3.ed. Rio de Janeiro: LTC.

HOPPENFELD, S. (2001). Princípios biomecânicos dos dispositivos de fixação. In: HOPPENFELD, S.; MURTHY V.L. *Tratamento e reabilitação de fraturas*. São Paulo: Manole. Cap.2, p.84-118.

HUXLEY, A.F.; SIMMONS, R.M. (1971). Proposed mechanism of force generation in striated muscle. *Nature*, London, v.233, n.5321, p.533-538.

JAMES, R.S. et al. (1997). Mechanical properties of rabbit latissimus dorsi muscle often stretch and/or electrical stimulation. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.83, n.2, p.398-406.

JÄRVINEN, M. (1976). Healing of crush injury in rat striated muscle. *Acta Chirurgica Scandinavica*, Stockholm, v.142, n.1, p.47-56.

JÄRVINEN, M.; EINOLA, S.A; VIRTANEM, E.O. (1992). Effect of the position of immobilization upon the tensile properties of the rat gastrocnemius muscle. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, Chicago, v.73, n.3, p.253-257.

JUNQUEIRA, J.C.; CARNEIRO, J. (1999). *Histologia básica*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p.159-178.

KANTOR, G.; ALON, G.; HO, H.S. (1994). The effects of selected stimulus waveforms on pulse and phase characteristics at sensory and motor thresholds. *Physical Therapy*, Chicago, v.74, n.10, p.951-962.

KIRSCH, R.F. et al. (1985). Effect of maintained stretch on the range of motion of the human ankle joint. *Clinical Biomechanics*, Oxford, v.10, n.3, p.166-168.

KISNER, C.; COLBY, L.A. (1998). *Exercícios terapêuticos - fundamentos e técnicas*. São Paulo: Manole.

KRAMER, J.F. (1987). Effect of electrical stimulation current frequencies on isometric knee extension torque. *Physical Therapy*, Chicago, v.67, n.1, p.31-38.

LAUFER, Y. et al. (2001). Quadriceps femoris muscle torques and fatigue generated by neuromuscular electrical stimulation with three different wave forms. *Physical Therapy*, Chicago, v.81, n.7, p.1307-1316.

LIN, R.M.; CHANG, G.L.; CHANG, L.T. (1999). Biomechanical properties of muscle-tendon unit under high-speed passive stretch. *Clinical Biomechanics*, Oxford, v.14, p.412-417.

LE VEAU, B.F. (1993). Biomecânica básica na terapia esportiva e ortopédica. In: GOULD III, J.A. *Fisioterapia na ortopedia e na medicina do esporte*. São Paulo: Manole. Cap.2, p.65-83.

LOITZ, B.J. et al. (1989). Effects of short-term immobilization *versus* continuous passive motion on the biomechanical and biochemical properties of the rabbit tendon. *Clinical Orthopaedics and related research*, Philadelphia, v.244, n.6, p.265-271.

LOW, J.; REED, A. (2001). *Eletroterapia explicada: princípios e prática*. São Paulo: Manole.

LUCAS, C.M. et al. (1992). Changes in canine latissimus dorsi muscle during 24 wk of continuous electrical stimulation. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.73, n.3, p.828-835.

MACDOUGALL, J.D. et al. (1977). Biochemical adaptation of human skeletal muscle to heavy resistance training and immobilization. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.43, n.4, p.700-703.

MADDING, S.W. (1998). Effect of duration of passive stretch on hip abduction range of motion. In: KISNER, C.; COLBY, L.A. *Exercícios terapêuticos: fundamentos e técnicas*. São Paulo: Manole. Cap.3, p.154.

MARTINI, F.H. (1995). *Fundamentals of anatomy & physiology*. 3.ed. New Jersey: Prentice Hall.

MCNEAL, D.R.; BAKER, L.L. (1988). Effects of joint angle, electrodes and waveform on electrical stimulation of the quadriceps and hamstrings. *Annals of Biomedical Engineering*, Landove, v.16, p.299-310.

- MORRISEY, M.C. et al. (1985). The effects of electrical stimulation on the quadriceps during post operative Knee immobilization. *American Journal of Sports Medicine*, Columbus, v.11, p.61-63.
- MUNSAT, T.L.; MCNEAL, D.R.; WANTERS, R. (1976). Preliminary observations or prolongada stimulation of peripheral nerve in man. *Archives of Neurology*, Chicago, v.33, p.608-617.
- MUSACCHIA, X.J.; STEFFEN, J.M.; FELL, R.D. (1988). Disuse atrophy of skeletal muscle animal models. *Exercise and Sport Science Reviews*, Baltimore, v.16, p.61-87.
- NOYES, F.R. (1977). Functional properties of knee ligaments and alterations induced by immobilization. *Clinical Orthopaedics*, Philadelphia, n.123, p.210-242.
- OKITA M. et al. (2001). Effects of short duration stretching on disuse muscle atrophy in immobilized rat soleus muscle. *Journal of the Japanese Physical Therapy Association*, Tokyo, v.4, p.1-5.
- PALACOW, M.L.O. et al. (2003). Estudo morfométrico do músculo sóleo denervado de ratos tratados pela associação de metformina e estimulação elétrica. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, Rio de Janeiro, v.7, n.1, p.77-84.
- ROBINSON, A.J. (2001). Fisiologia do músculo e do nervo. In: ROBINSON A.J.; SNYDER – MACKLER, L. *Eletrofisiologia clínica*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed. Cap.2, p.85 - 117.
- ROSEMBERG, M.; CURTIS, L.; BOURKE, D.L. (1978). Trans-cutaneous electrical nerve stimulation for relief of postoperative pain. *Pain*, Amsterdam, v.5, p.129-133.
- SALTER, R.B. (1985). *Distúrbios e lesões músculo-esqueléticas*. 2.ed. Rio de Janeiro: MEDSI.
- SHIMANO, A.C.; SHIMANO, M.M. (2000). Ensaio tecnológicos de materiais biológicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA, 2000, Florianópolis. *Anais...* Florianópolis: CEBEB. p.15-21.
- SNYDER-MACKLER, L. Et al. (1994). Use of electrical stimulation to enhance recovery of quadriceps femoris muscle force production in patients following anterior cruciate ligament reconstruction. *Physical Therapy*, Chicago, v.74, n.10, p.901-907.

SOO, C.L.; CURRIER, D.P.; THRELKELD, A.J. (1988). Augmenting voluntary torque of healthy muscle by optimization of electrical stimulation. *Physical Therapy*, Chicago, v.68, n.3 p.333-337.

SOUZA, S.A. (1974). *Ensaio mecânicos de materiais metálicos*. São Paulo: Edgard Blücher. p.3-58.

SUGAMA, S.; TACHINO, K.; HAIDA, N. (1999). Effect of immobilization on solubility of soleus and gastrocnemius muscle collagen. *Journal of the Japanese Physical Therapy Association*, Tokyo, v.2, p.25-29.

TUCKER, K.R.; SEIDER, M.J.; BOOTH, F.W. (1981). Protein synthesis rates in atrophied gastrocnemius muscle after limb immobilization. *Journal Applied Physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*, Bethesda, v.51, n.1, p.73-77.

WANG, L.C.; KERNELL, D. (2001). Quantification of fibre type regionalization: an analysis of lower hindlimb muscles in the rat. *Journal of Anatomy*, London, v.198, p.295-308.

WILLIAMS, J.P.C.; STREET, M. (1976). Sequential faradism in quadriceps rehabilitation. *Physiotherapy*, London, v.62, n.8, p.252-254.

WILLIAMS, P.E.; GOLDSPINK, G. (1971). Longitudinal growth of striated muscle fibres. *Journal of Cell Science*, Colchester, v.9, p.751-767.

_____. (1973). The effect of immobilization on the longitudinal growth of striated muscle fibres. *Journal of Anatomy*, London, v.116, n.1, p.45-55.

_____. (1984). Connective tissue changes in immobilized muscle. *Journal of Anatomy*, London, v.138, n.2, p.343-350.

WILLIAMS, P.E. et al. (1988). The importance of stretch and contractile activity in the prevention of connective tissue accumulation in muscle. *Journal of Anatomy*, London, v.158, p.109-114.

WITZMANN, F.A.; KIM, D.H.; FITTS, R.H. (1982). Recovery time course incontractile function of fast and slow skeletal muscle after hindlimb immobilization. *Journal of Applied Physics*, Menasha, v.52, n.3, p.677-682

WHITING, W.C.; ZERNICKE R.F. (2001). *Biomecânica da lesão musculoesqueléticas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

7 ANEXOS

ANEXO A

TABELA 9 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais controle.

	Limite máximo		Limite de proporcionalidade		R	E'
	CLM (N)	ALM ($\times 10^{-3}$ m)	CLP (N)	ALP ($\times 10^{-3}$ m)	$\times 10^3$ N/m	$\times 10^{-3}$ J
	30,36	11,22	21,60	5,69	3,19	61,45
	31,55	11,61	22,69	6,34	3,21	73,74
	31,98	11,62	25,30	6,50	3,30	80,20
	32,90	11,64	25,96	6,68	3,49	88,81
	32,98	12,68	26,59	6,94	3,67	95,39
	33,26	12,86	27,49	7,40	3,79	102,02
	33,69	13,28	27,49	7,53	3,96	104,29
	34,04	13,81	27,70	7,86	3,98	110,59
	35,23	14,05	27,70	8,56	3,99	117,65
	35,92	14,62	28,36	8,89	4,03	137,39
Média	33,45	12,73	26,08	7,41	3,66	97,15
Dp	1,34	1,19	2,28	0,89	0,33	22,3
Dp – Desvio padrão			R – Rigidez		E' – Resiliência.	

TABELA 10 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais imobilizados.

	Limite máximo		Limite de proporcionalidade		R	E'
	CLM (N)	ALM ($\times 10^{-3}$ m)	CLP (N)	ALP ($\times 10^{-3}$ m)	$\times 10^3$ N/m	$\times 10^{-3}$ J
	16,81	6,53	11,34	4,5	1,26	32,40
	17,48	6,58	12,17	4,82	1,82	35,13
	17,80	7,35	13,26	4,88	1,91	36,71
	18,04	8,72	13,96	4,93	1,92	36,80
	18,25	9,18	14,40	5,26	2,10	53,59
	18,33	9,21	14,40	5,63	2,20	56,49
	19,41	9,26	14,61	6,30	2,65	56,97
	20,25	9,47	15,27	6,55	2,95	68,72
	20,55	10,70	17,01	7,31	3,16	69,62
	23,48	10,78	20,07	7,64	3,20	81,41
Média	19,04	8,77	14,64	5,78	2,31	52,78
Dp	1,96	1,51	2,47	1,10	0,64	17,09
Dp – Desvio padrão			R – Rigidez		E' – Resiliência.	

TABELA 11 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais imobilizados e reabilitados com a técnica de alongamento.

Limite máximo		Limite de proporcionalidade		R	E'	
CLM (N)	ALM (x10 ⁻³ m)	CLP (N)	ALP (x10 ⁻³ m)	x10 ³ N/m	x10 ⁻³ J	
18,40	7,92	16,14	5,69	2,63	62,13	
20,13	7,94	17,67	6,39	2,82	63,31	
22,66	8,38	19,41	6,39	2,85	66,77	
25,72	8,96	19,63	6,72	2,87	67,03	
26,03	8,99	22,25	6,83	3,10	73,86	
27,13	9,19	22,90	6,88	3,33	85,01	
27,19	9,57	23,12	7,70	3,61	87,96	
27,51	10,00	24,65	8,24	3,89	94,00	
28,32	10,62	26,18	8,45	4,14	106,24	
29,30	10,92	26,61	8,62	4,16	113,25	
Média	25,23	9,24	21,85	7,19	3,34	81,95
Dp	3,63	1,04	3,54	0,99	0,57	18,31
Dp – Desvio padrão		R – Rigidez		E' – Resiliência.		

TABELA 12 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais imobilizados e reabilitados com EENM

Limite máximo		Limite de proporcionalidade		R	E'
CLM (N)	ALM (x10 ⁻³ m)	CLP (N)	ALP (x10 ⁻³ m)	x10 ³ N/m	x10 ⁻³ J
24,01	8,95	16,80	5,86	2,03	54,84
24,58	8,96	18,72	5,86	2,94	69,38
29,38	9,16	22,76	6,08	3,18	71,12
30,30	9,96	26,80	6,25	3,19	77,72
31,32	10,19	26,80	8,26	3,22	84,05
32,13	12,03	27,65	8,31	3,30	91,36
33,76	12,40	27,65	8,42	3,45	112,82
33,89	12,98	28,72	8,75	3,64	119,33
34,96	14,57	28,93	9,40	4,54	126,56
41,17	10,65	34,68	10,76	4,57	129,95
Média	31,55	10,98	25,95	7,79	93,71
Dp	5,01	1,92	5,23	1,69	26,62
Dp – desvio padrão		R – Rigidez		E' – Resiliência.	

TABELA 13 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais imobilizados e reabilitados com EENM somado ao alongamento passivo manual.

	Limite máximo		Limite de proporcionalidade		R	E'
	CLM (N)	ALM ($\times 10^{-3}$ m)	CLP (N)	ALP ($\times 10^{-3}$ m)	$\times 10^3$ N/m	$\times 10^{-3}$ J
	21,39	8,48	16,30	5,72	2,34	53,35
	22,63	9,30	16,59	6,41	2,42	56,89
	24,81	9,81	17,65	6,41	2,70	57,53
	25,30	10,65	18,72	6,46	3,10	63,95
	27,61	11,32	20,42	6,52	3,28	67,07
	27,76	11,41	20,63	6,57	3,31	68,73
	28,22	11,89	21,70	6,98	3,38	69,54
	29,14	11,93	24,03	7,28	3,44	80,39
	29,27	13,72	24,68	7,44	3,85	91,36
	31,42	15,11	24,89	7,71	4,20	91,80
Média	26,75	11,36	20,56	6,75	3,20	70,06
Dp	3,15	1,99	3,24	0,59	0,59	13,70
Dp – desvio padrão			R – Rigidez		E' – Resiliência.	

TABELA 14 – Valores das propriedades mecânicas dos músculos dos animais do imobilizados e liberados.

	Limite máximo		Limite de proporcionalidade		R	E'
	CLM (N)	ALM ($\times 10^{-3}$ m)	CLP (N)	ALP ($\times 10^{-3}$ m)	$\times 10^3$ N/m	$\times 10^{-3}$ J
	18,00	7,18	12,55	3,77	2,11	26,73
	18,34	7,46	14,25	4,20	2,18	26,86
	18,53	7,61	15,74	4,26	2,67	34,84
	18,78	8,26	16,17	4,75	2,72	38,40
	19,93	9,24	16,59	5,24	2,88	45,57
	22,41	9,39	16,59	5,62	2,95	49,05
	24,39	10,00	17,45	5,79	2,99	51,42
	25,26	10,68	18,30	6,06	3,18	52,87
	26,22	11,09	18,30	6,11	3,26	55,90
	26,55	13,85	18,72	6,55	3,40	65,19
Média	21,84	9,47	16,46	5,23	2,83	44,68
Dp	3,51	2,05	1,93	0,94	0,42	12,71
Dp – desvio padrão			R – Rigidez		E' – Resiliência.	

ANEXO B

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus de Ribeirão Preto
Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho (Protocolo nº 03.1.844.53.0), intitulado: "Avaliação das Propriedades Mecânicas do Músculo Gastrocnêmio Imobilizado e Reabilitado com Estimulação Elétrica Neuromuscular Somado ao Alongamento Passivo Manual", de autoria de **Leonardo César Carvalho**, por estar de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotado pela **Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)** do *Campus* de Ribeirão Preto – USP, foi aprovado *ad referendum* da reunião de 17.09.2003.

Ribeirão Preto, 19 de agosto de 2003.

Presidente da CEUA
Prof. Dr. José Clóvis do Prado

Secretária da CEUA
Maria Angélica Silva Depiro