

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

LETÍCIA SOUZA CASADO

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DE MÉDIA
FREQUÊNCIA NA REGENERAÇÃO DO MÚSCULO
EXTENSOR LONGO DOS DEDOS E NA
RECUPERAÇÃO FUNCIONAL APÓS NEURORRAFIA
TÉRMINO-LATERAL DO NERVO FIBULAR COMUM
DE RATOS**

BAURU
2015

LETÍCIA SOUZA CASADO

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DE MÉDIA
FREQUÊNCIA NA REGENERAÇÃO DO MÚSCULO
EXTENSOR LONGO DOS DEDOS E NA
RECUPERAÇÃO FUNCIONAL APÓS NEURORRAFIA
TÉRMINO-LATERAL DO NERVO FIBULAR COMUM
DE RATOS**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração, como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Biomedicina, sob orientação do Prof. Dr. Geraldo Marco Rosa Junior.

BAURU
2015

C3345e

Casado, Letícia Souza

Efeito da estimulação elétrica de média frequência - na regeneração do músculo extensor longo dos dedos e na recuperação funcional após neurraxia término-lateral do nervo fibular comum de ratos / Letícia Souza Casado. -- 2015.

45f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Marco Rosa Junior.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade do Sagrado Coração – Bauru – SP.

1. Neurraxia término-lateral. 2. Eletroestimulação. 3. Nervo fibular. 4. Músculo extensor longo dos dedos. I. Rosa Junior, Geraldo Marco. II. Título.

LETÍCIA SOUZA CASADO

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DE MÉDIA FREQUÊNCIA
NA REGENERAÇÃO DO MÚSCULO EXTENSOR LONGO DOS
DEDOS E NA RECUPERAÇÃO FUNCIONAL APÓS NEURORRAFIA
TÉRMINO-LATERAL DO NERVO FIBULAR COMUM DE RATOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração, como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Biomedicina, sob orientação do Prof. Dr. Geraldo Marco Rosa Júnior.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Geraldo Marco Rosa Júnior
Universidade do Sagrado Coração

Prof. Me. Carlos Henrique Fachin Bortoluci
Universidade do Sagrado Coração

Thais Caroline Pereira dos Santos
Universidade do Sagrado Coração

Bauru, 26 de novembro de 2015.

Dedico este trabalho às pessoas que sempre estiveram ao meu lado, me acompanhando, apoiando e acreditando em mim: meus pais. Pai e mãe, sem vocês o sonho não teria se tornado realidade.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado saúde, foco, força e fé para superar todas as dificuldades e chegar ao final desta jornada.

Aos meus pais, Carlos e Luciene, por todo apoio e incentivo desde o início, sem eles nada disso seria possível; eles foram à peça fundamental para a concretização do meu curso. Com vocês aprendi o verdadeiro valor de uma família. Sempre foram meus exemplos, com toda garra e foco que possuem. Quero me tornar uma profissional competente, correta e segura como vocês. Á vocês expesso meu maior agradecimento, principalmente por todo investimento colocado em mim, que espero, um dia, poder retribuir.

Aos meus avós, Laerte e Maria José, pela alegria que contemplam, sempre me colocando em alto astral; pelos ensinamentos, conselhos e, principalmente, pelas rezas. São minha jóia rara.

Ao meu namorado, Eduardo, por sempre me acalmar nos momentos de estresse, por toda paciência e alegria a mim concebidos, que me fazem hoje, a mulher mais feliz do mundo; e principalmente, por vibrar comigo as minhas conquistas. Á você, meu eterno amor e carinho.

Á minha família e amigos, que sempre estiveram ao meu lado, tanto nos bons como nos maus momentos. Sem vocês, eu não chegaria até aqui. E, claro, à minha madrinha, Heloisa, que para mim é uma segunda mãe.

Á Universidade do Sagrado Coração, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, eivado pela acendrada confiança no mérito e ética aqui presentes.

Aos professores, por toda paciência, incentivo, ensinamento e, acima de tudo, por proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional.

Ao Grupo de Estudos de Interação Mioneural – GEIM, por todo companheirismo e amizade desde meu primeiro ano de faculdade. Não podendo deixar de citar, minha amiga Carla, que desde o início esteve comigo, passando por momentos de muitas alegrias, mas também por vários choros. Você se tornou uma grande amiga, que pretendo levar pelo resto da minha vida.

Em especial, ao meu orientador Dr. Geraldo Marco Rosa Junior, pela paciência e por todos os ensinamentos. Obrigada por ser esse excelente professor e orientador, e acima de tudo, pela amizade. Carrego todos os ensinamentos, conhecimentos adquiridos, palavras de

incentivo e ajuda sempre comigo, juntamente com seu exemplo de profissionalismo. Você se tornou um exemplo a ser seguido.

E por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte da minha formação. O meu muito obrigada.

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.”

Chico Xavier

RESUMO

Introdução: Lesões de nervos periféricos por neurorafia podem levar a uma perda funcional elevada ao paciente. Devido a este fator, muitas pesquisas buscam propor técnicas para melhorar a funcionalidade de um músculo reinervado. A Neurorafia Término-Lateral (NLT), sem lesão no nervo doador, trouxe grande contribuição, pois a partir desta descoberta, qualquer nervo pode ser utilizado como nervo doador sem prejuízos para este ou para as estruturas por ele inervadas. Entretanto, após uma neurorafia, o tempo para a regeneração axonal determinará atrofia das fibras musculares. A estimulação elétrica preveniria este fator negativo. **Objetivo:** Esta pesquisa teve como objetivo estudar a eficiência da estimulação elétrica na regeneração do músculo extensor longo dos dedos após secção e neurorafia termino-lateral do coto distal do nervo fibular à face lateral do nervo tibial. **Metodologia:** Foram utilizados 48 ratos *Wistar*, machos, com 80 dias de vida, fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB/UNESP. Os animais foram divididos, aleatoriamente nos seguintes grupos: Grupo Controle Inicial (GCI) com 8 animais, Grupo Controle Cirúrgico 90 dias (GCC90) com 8 animais, Grupo Neurorafia Término-Lateral com Estimulação Aussie 90 dias (EA90) com 8 animais, Grupo Neurorafia Término-Lateral com Estimulação Russa 90 dias (ER90) com 8 animais, Grupo Desnervado 90 dias (GD90) com 8 animais e Grupo Controle final 90 dias (GCF90) com 8 animais. Foram realizadas análises funcionais, eletrofisiológicas e morfométricas dos tecidos musculares dos ratos de todos os seis grupos, comparando a resposta da regeneração trófica do tecido muscular. **Resultados:** A resposta do grupo EA90 e ER90 foram superiores ao grupo não tratado, entretanto não foram observadas diferenças entre as correntes utilizadas. **Conclusão:** Com base na metodologia apresentada podemos concluir que as correntes Russa e Aussie favorecem a regeneração nervosa e muscular e propiciam uma melhora funcional e morfológica ao indivíduo com lesão nervosa periférica após a neurorafia término-lateral.

Palavras-Chave: Neurorafia Término-Lateral. Eletroestimulação. Nervo Fibular. Músculo Extensor Longo dos Dedos.

ABSTRACT

Injury in peripheral nerve neurorrhaphy can lead to high functional loss to the patient. Due to this factor, many studies seek to propose techniques to improve the functionality of a muscle reinnervation. The neurorrhaphy end to side (NLT), without injury to the donor nerve, brought great contribution, because from this discovery, any nerve can be used as donor nerve without harming themselves or for the structures innervated by it. However, after neurorrhaphy, the time for axonal regeneration determine atrophy of muscle fibers. Electrical stimulation would prevent this negative factor. This research aimed to study the efficiency of electrical stimulation on muscle regeneration after long extensor digitorum section and end-side neurorrhaphy the distal stump of the peroneal nerve to the side aspect of the tibial nerve. Rats wistar were used, 48 males with 80 days old, provided by the Central Animal Vivarium of the Botucatu - School of Medicine - FMB / UNESP. The animals were divided randomly into the following groups: Group Control Initial (GCI) with 8 animals, control group Surgical 90 days (GCC90) with 8 animals, neurorrhaphy Group End to Side with Aussie stimulation 90 days (EA90) with 8 animals, group neurorrhaphy End to Side with Russian stimulation 90 days (ER90) with 8 animals, denervated group 90 days (GD90) with 8 animals and end group control 90 days (GCF90) with 8 animals. Functional analyzes were performed Electrophysiological and morphometric of the muscular tissues of the rats of all six groups comparing the response of trophic muscle tissue regeneration. The response of the EA90 and ER90 group were superior to the untreated group, but no differences were observed between the chains used. Based on the methodology presented we can conclude that Russian current and Aussie favor the nervous and muscle regeneration and provide a functional and morphological improvement to the individual with peripheral nerve injury after the end-side neurorrhaphy.

Keywords: Neurorrhaphy Finish-Side. Electrostimulation. Peroneal Nerve. Muscle Extensor Digitorum Longus.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema demonstrativo dos grupos GCI e GCF.	18
Figura 2 – Esquema demonstrativo do GD.	18
Figura 3 - Esquema demonstrativo dos GCC90, EA90 e ER90.....	19
Figura 4 - Procedimento cirúrgico realizado na face dorso-lateral.....	20
Figura 5 - Exposição do nervo fibular para a realização da neurorrafia término-lateral.	20
Figura 6 - Ratos encapsulados recebendo estimulação elétrica.....	22
Figura 7- Aparelho CatWalk™	23
Figura 8 - CatWalk™.....	23
Figura 9 - Realização da Eletroneuromiografia.....	25
Figura 10 - Gráfico com as médias obtidas pela análise de marcha.	28
Figura 11 - Gráfico da média da amplitude (mV).	30
Figura 12 - Gráfico da média da latência (ms).	31
Figura 13 - Gráfico da média de força muscular (N).....	32
Figura 14 - Gráfico da média da área da fibra muscular (μm^2).....	34
Figura 15 - Gráfico da média do diâmetro mínimo da fibra muscular (μm).....	35
Figura 16 - Protocolo CEUA 1042-2013	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela com média e desvio padrão da Análise Funcional nos grupos estudados. .	29
Tabela 2 - Tabela com média e desvio padrão de amplitude da Análise Eletrofisiológica.	30
Tabela 3 - Tabela com média e desvio padrão de latência da Análise Eletrofisiológica.	31
Tabela 4 - Tabela com média e desvio padrão da Análise da Força Muscular.	33
Tabela 5 - Tabela com média e desvio padrão de área da Análise Morfométrica (μm^2).....	34
Tabela 6 - Tabela com média e desvio padrão de diâmetro da Análise Morfométrica (μm)...	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	METODOLOGIA	17
3.1	ANIMAIS	17
3.2	GRUPOS EXPERIMENTAIS	17
3.3	CIRURGIA	19
3.4	ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA	21
3.5	TESTE DE MARCHA	22
3.6	TESTE DE FORÇA	24
3.7	TESTE ELETROFISIOLÓGICO	24
3.8	COLETA DAS PEÇAS HISTOLÓGICAS E SACRIFÍCIO	25
3.9	PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO DO MÚSCULO EXTENSOR LONGO DOS DEDOS (EDL)	26
3.10	DIGITALIZAÇÃO DAS IMAGENS DOS MÚSCULOS	26
3.11	MORFOMETRIAS DAS FIBRAS MUSCULARES	26
3.12	ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
4	RESULTADOS	28
4.1	ANÁLISE FUNCIONAL DA MARCHA	28
4.2	ANÁLISE ELETROFISIOLÓGICA	29
4.3	FORÇA MUSCULAR	32
4.4	MORFOMETRIA DAS FIBRAS MUSCULARES	33
5	DISCUSSÃO	36
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
	REFERÊNCIAS	40
	ANEXO A – PROTOCOLO CEUA 1042-2013	45

1 INTRODUÇÃO

Os traumas, como acidentes automobilísticos ou quedas e acidentes industriais com objetos perfuro cortantes levam a lesões nervosas periféricas, que causam perda funcional importante para esses pacientes (ROBINSON, 2000) e, dependendo de sua natureza e extensão, poderá ocasionar de uma simples compressão do nervo até sua transecção completa com ou sem perda de tecido (SUNDERLAND, 1990). Esforços têm sido conduzidos na busca por aprimorar técnicas cirúrgicas e tratamentos posteriores com a finalidade de melhorar as condições de vida destes pacientes. (SATO, 2005).

Após uma lesão do nervo periférico, ocorrem alterações morfológicas, fisiológicas, moleculares e metabólicas no segmento distal à lesão, em alguns nodos terminais do coto proximal e no corpo celular do neurônio. Esta série de alterações são denominadas de degeneração “Walleriana” e propiciam o meio adequado à regeneração dos axônios (FU & GORDON, 1997). Por conseguinte, as células de Schwann irão proliferar dispondo-se em cordões paralelos, originando as bandas de Büngner, pelas quais os brotos emitidos pelo coto proximal serão guiados até o tecido-alvo (DEUMENS, *et al.*, 2010). O período de regeneração axonal poderá levar meses, contudo, esse tempo dependerá de alguns fatores, tais como a preservação dos tubos endoneurais e a distância do coto proximal para o tecido-alvo. (GU *et al.*, 2011).

Embora o processo regenerativo esteja prognosticado, o período de convalescência implicará em perdas funcionais e estruturais, justificadas pela desnervação parcial (KERN *et al.*, 2010). Tais prejuízos funcionais seriam caracterizados, principalmente, pela redução do tônus muscular e, conseqüentemente, da sua capacidade de gerar força (MINAMOTO, 2007). Sob uma ótica ultraestrutura, a ausência de estímulo trófico dos neurônios, acarretaria em atrofia da fibra muscular, redução na área de secção transversa da fibra e, também, na transição de todas as fibras, independente de sua morfologia anterior, para fibras do tipo rápidas (FITTS *et al.*, 2001). Além disso, pesquisadores tem afirmado que um longo período de desnervação resultaria na invasão de células adiposas (RODRIGUES *et al.*, 2005; DAVATZ *et al.*, 2007) seguindo-se de apoptose das fibras musculares. (DAVATZ *et al.*, 2007).

Existem várias técnicas que tentam minimizar estes déficits, com o objetivo de devolver totalmente ou parcialmente este comprometimento causado pela lesão (DEUMENS *et al.*, 2010). Assim estudos nas mais variadas áreas do conhecimento científico, como biologia molecular, microcirurgia, morfologia, indutores de crescimento (SEDDON, 1943),

por meio de ações conjuntas buscam encontrar uma técnica que permita melhor recuperação funcional do nervo lesado. (RADTKE; VOGT, 2009).

Em 1943, Seddon classificou as lesões nervosas periféricas em três tipos segundo o nível de gravidade: neuropraxia, axonotmese e neurotmese. A neuropraxia consiste apenas na desmielinização das fibras nervosas sem interrupção axonal, sendo de regeneração rápida e espontânea. Na axonotmese ocorre a perda da continuidade axonal e da bainha de mielina, contudo ainda há um potencial de regeneração espontânea, porém algumas técnicas fisioterapêuticas são utilizadas para potencializar o reparo nervoso. A neurotmese, por sua vez, refere-se à lesão de pior prognóstico por tratar-se da secção total do nervo interrompendo o crescimento axonal.

Sunderland, em 1951, descreveu as lesões em cinco diferentes graus: o primeiro equivale à neuropraxia; o segundo, à axonotmese com lesão axonal; o terceiro trata-se de uma lesão endoneural; o quarto refere-se a uma lesão perineural; e, por fim, o quinto grau, equivalente à neurotmese (lesão epineural).

A classificação das lesões por Seddon é simples e relevante aos eletrofisiologistas, enquanto a de Sunderland é a mais utilizada por médicos cirurgiões a fim de avaliar a melhor opção de cirurgia de reparo. (CHHABRA et al., 2014).

No reparo de lesões de nervos periféricos, quando se dispõem dos cotos proximais e distais, a neurorafia término-terminal (NTT) é frequentemente utilizada para fazer a união dos cotos do nervo lesado através de uma sutura. (CHEN et al., 2015; ROVAK; CEDERNA; KUZON, 2001).

Viterbo & Viterbo *et al.*, (1992) propuseram a Neurorafia Término-Lateral sem lesão no nervo doador e, até mesmo, sem a remoção do epineuro (Viterbo et al., 1994a e b). Com trabalho experimental em ratos, Viterbo et al. (1992) realizaram a secção do nervo fibular, que inerva o músculo tibial cranial (MTC), e seu coto distal foi suturado à face lateral do nervo tibial intacto, sem a remoção do epineuro. Obtiveram, pela primeira vez, reinervação muscular sem prejuízo ao nervo doador. Foi grande a contribuição desta técnica, pois, a partir dela, qualquer nervo pode ser utilizado como nervo doador sem prejuízos para este ou para as estruturas por ele inervadas.

O uso da estimulação elétrica para aumentar o desempenho do músculo esquelético, já é aceito e demonstrado em estudos experimentais e clínicos. (RUFFIN & KININGHAM, 1993; SNYDER-MACKLER *et al.*, 1994; SOO *et al.*, 1988).

A estimulação elétrica com finalidade regenerativa, embora controversa, (WILLIAMS, 1996; NEMETH, 1982; KANAYA and TAJIMA, 1992; IÑIGO, 1998; SOUZA

DEL CARLO and VILORIA, 2001; KOTWAL and SCHMIDT, 2001; CARVALHO *et al.*, 2002), tornou-se objeto de estudo na recuperação funcional muscular, pois a mesma pode ser aplicada como método de prevenção da atrofia muscular que retardaria e, em alguns casos, evitaria a perda de tecido muscular resultante de um período de inatividade ou por desnervação.

Parte do efeito da aplicação da EE (Eletroestimulação) pode estar na facilitação neural em função de um número maior de unidades motoras ativas e aumento na taxa de impulsos ou em um padrão mais eficiente de recrutamento. (RUFFIN & KININGHAM, 1993; MCINTYRE & ROBERTSON, 1992; FOX, 1975).

Como no caso do nervo isquiático em ratos, em que o animal é submetido à análise da marcha, o estudo da regeneração nervosa e da recuperação de um músculo após neurorrafia pode ser realizado pela observação das alterações histológicas, pela medida da velocidade de condução elétrica, pela análise eletromiográfica ou pela resposta isométrica do músculo submetido à contração tetânica. (DE MEDINACELLI *et al.*, 1982; BAIN *et al.*, 1989; SATO, 2005).

Alguns trabalhos confirmaram através de registro de atividade que ocorrem passagens de estímulos elétricos no músculo reinervado, porém, ainda não se conhece todas as possibilidades de recuperação de uma musculatura reinervada por Neurorrafia Término-Lateral. (GIOVANOLI *et al.*, 2000; ISAACS *et al.*, 2005).

Entretanto, o músculo reinervado deveria apresentar características fisiológicas que permitam boa função, pois a necessidade funcional de um paciente vai além da passagem do estímulo pela junção entre o nervo doador e o nervo receptor. Uma das características mais importantes que um músculo íntegro deve apresentar é a capacidade de produzir tensão durante a contração objetivando promover movimento. (ENOKA, 2000).

Com objetivo de reduzir os déficits ocasionados pelo quadro de desnervação, diversas estratégias fisioterapêuticas têm sido propostas. Na esfera da reabilitação neuromuscular, a EE tem surgido como um método de tratamento promissor, sendo objeto de investigação em laboratórios do mundo todo. Sendo que a Corrente Russa têm sido a mais indicada para uso no aumento da força e trofismo muscular. Corrente Russa é uma corrente alternada (AC) com uma frequência de 2,5 kHz, com Burst de 4 ms e com um ciclo de trabalho de até 50%.

A corrente Aussie é uma corrente elétrica terapêutica alternada com frequência na faixa de 1 kHz com alguma semelhança em relação a Corrente Russa. A diferença está no valor da corrente em kHz utilizada, bem como no formato de onda. A corrente Russa apresenta duração de pulso de 4ms, já a corrente Aussie apresenta duração de 2ms.

Estudos sugerem ainda, que para uma estimulação motora intensa e eficiente, com desconforto mínimo, a frequência de 1000 Hz ou 1 kHz deve ser utilizada combinada com a modulação em Burst com duração de 2 ms. (WARD, 2007).

A principal justificativa para aplicação da EE durante o período de desnervação é que esta minimizaria a atrofia das fibras musculares (HASEGAWA *et al.*, 2011) e que tal efeito seria explicado pela capacidade da EE conseguir manter a ação contrátil do músculo. Outra justificativa é que a EE também estimula a proliferação de células satélites e diminui a taxa de apoptose das fibras musculares em desuso (GUO *et al.*, 2012), eventos considerados determinantes para regeneração muscular. (KONOFAOS *et al.*, 2013).

A resistência à fadiga muscular é um fator de extrema importância dentro de procedimentos de reabilitação envolvendo a recuperação dos músculos esqueléticos, particularmente quando se faz opção de uso de uma corrente excito motora (Russa e Aussie). (WARD, 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a eficácia da estimulação elétrica através das Correntes Elétricas Aussie e Russa na regeneração funcional e morfológica da musculatura estriada esquelética após neurorrafia-término-lateral no nervo fibular de ratos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Pesquisar o uso da estimulação elétrica na manutenção dos aspectos funcionais e morfológicos do músculo extensor longo dos dedos;
- Comparar os resultados obtidos no grupo experimental eletro estimulado com o grupo experimental sem eletroestimulação;
- Comparar os resultados dos grupos experimentais e ver qual obteve melhor resultado em comparação com o grupo controle;
- Comparar os resultados funcionais com os resultados morfológicos e verificar se apresentam resultados semelhantes.

3 METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado na USC – Universidade Sagrado Coração (treinamento, aplicação da estimulação elétrica, análise funcional, sacrifício dos animais, coleta das amostras histológicas e morfometria).

3.1 ANIMAIS

Todos os procedimentos realizados estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), que recebeu o protocolo após análise do Comitê de Ética.

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da UNESP – Universidade Estadual Paulista, da Faculdade de Medicina – campus Botucatu, protocolado com o número 1042-2013. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da USC – Universidade Sagrado Coração – campus Bauru.

Foram utilizados 48 ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, machos com 80 dias de vida. Os animais foram divididos em grupos experimentais e controles. Os animais foram sacrificados com 90 dias.

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os ratos foram agrupados em: Grupo Controle Inicial (GCI) com 8 animais, Grupo Controle Cirúrgico 90 dias (GCC90) com 8 animais, Grupo Neurorrafia Término-Lateral com Estimulação Aussie 90 dias (EA90) com 8 animais, Grupo Neurorrafia Término-Lateral com Estimulação Russa 90 dias (ER90) com 8 animais, Grupo Desnervado 90 dias (GD) com 8 animais e Grupo Controle Final 90 dias (GCF) com 8 animais.

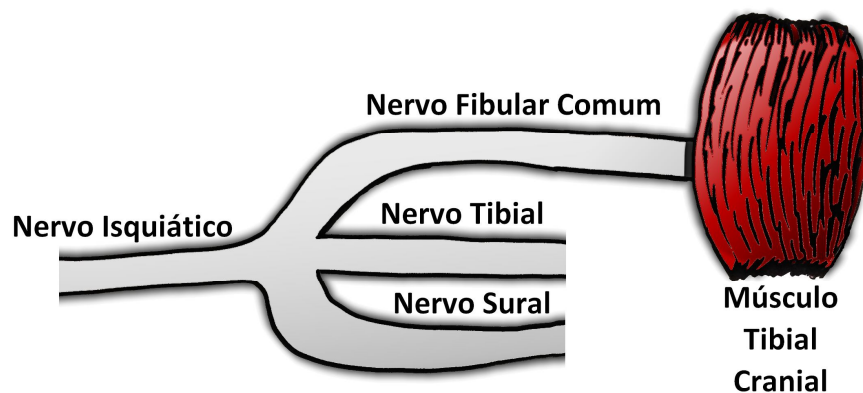
No Grupo GD90, com 8 animais, o nervo fibular foi seccionado e seus cotos foram invertidos 180 graus. O coto distal foi fixado à musculatura subjacente. O coto proximal foi transpassado por uma incisão na musculatura glútea e suturado no plano subcutâneo a fim de impedir reinervação motora, como na Figura 2.

Nos Grupos GCI e GCF com 8 animais cada, o nervo foi mantido intacto, sem nenhuma alteração, como na Figura 1.

Nos Grupos EA90, ER90 e GCC90, com 8 animais cada, o nervo fibular foi seccionado e seu coto proximal encurvado medialmente 100 graus, a musculatura adjacente

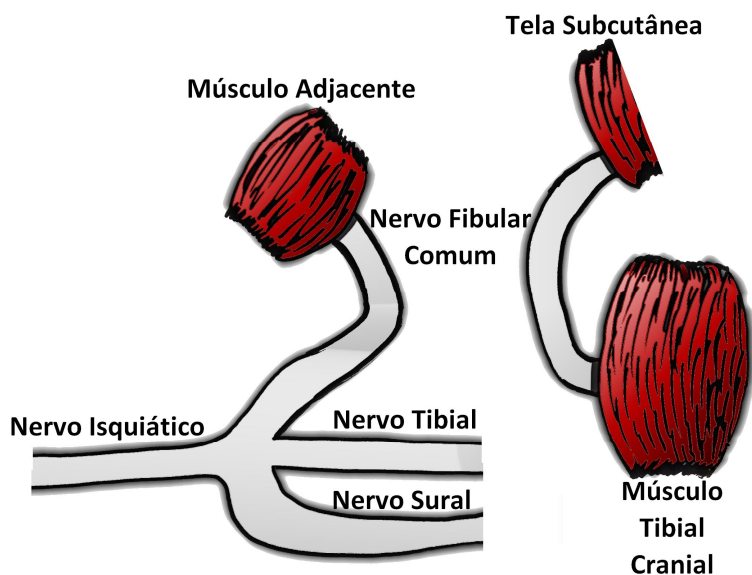
foi transfixada e suturada na face superficial dessa musculatura, impedindo dessa forma, a regeneração espontânea. O coto distal do nervo fibular foi encurvado, aproximadamente 80 graus, e suturado lateralmente ao nervo tibial, como na Figura 3. Nos grupos EA90 e ER90, após a cirurgia, os animais receberam estimulação elétrica Aussie e Russa respectivamente, no músculo extensor longo dos dedos como parte do tratamento.

Figura 1 – Esquema demonstrativo dos grupos GCI e GCF.



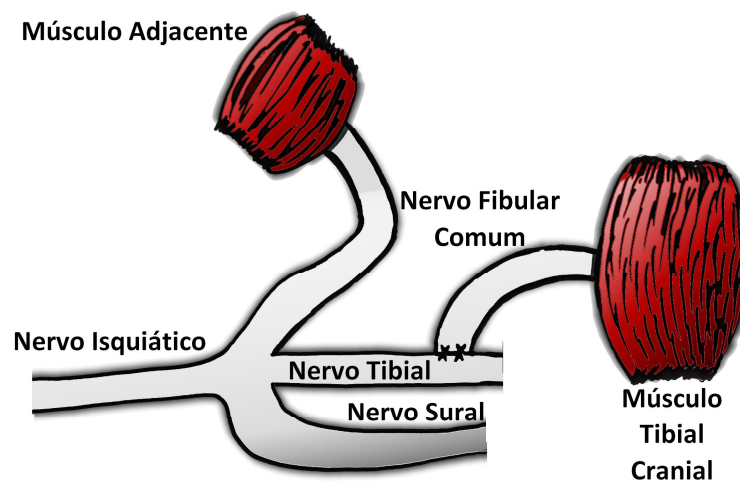
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 2 – Esquema demonstrativo do GD.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 3 - Esquema demonstrativo dos GCC90, EA90 e ER90.



Fonte: Elaborado pela autora.

3.3 CIRURGIA

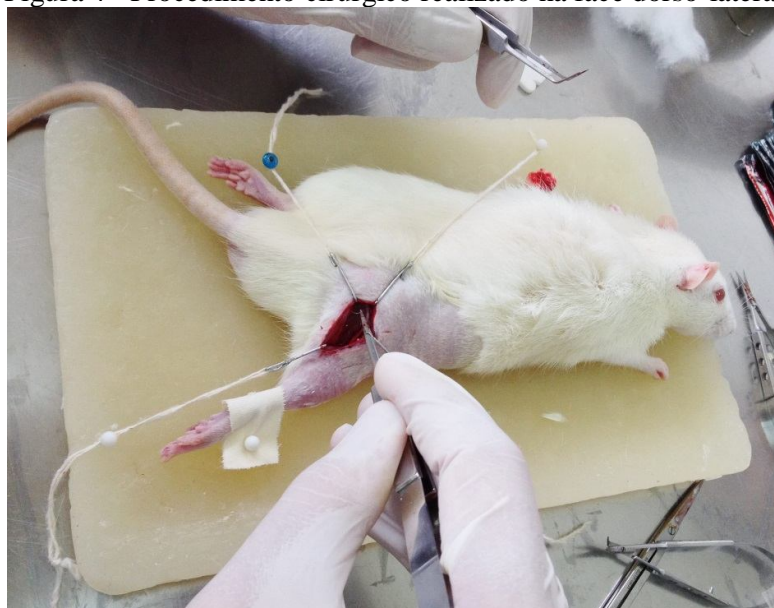
Todos os procedimentos cirúrgicos e de coleta foram realizados pelo pesquisador, padronizando-se dessa forma, o processo. Para cada procedimento cirúrgico, os animais foram anestesiados com ketamina (80 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg) intramuscular, e realizada tricotomia.

A Ketamina é um anestésico geral de uso injetável via intravenosa direta, cujo mecanismo não é bem conhecido (BPR GUIA DE REMÉDIOS®, 2010-2011). Promove um estado de inconsciência denominado de anestesia “dissociativa”, na qual há uma aparente interrupção seletiva na condução de alguns estímulos ao cérebro, levando a uma diminuição da resposta ao sistema nervoso central. A analgesia da Ketamina é atribuída ao bloqueio da transmissão do impulso doloroso ao tálamo e centros dolorosos localizados em áreas corticais. Possui absorção e distribuição rápidas nos tecidos perfundidos, incluindo o cérebro, e é metabolizada no fígado. É indicada em intervenções curtas, cirúrgicas e de diagnóstico, que não requerem relaxamento do músculo esquelético. (P.R. VADE-MÉCUM, 2009-10).

A Xilazina provoca nos animais um estado de sedação e um alto grau de analgesia, cuja profundidade depende da dose utilizada. Também produz um acentuado relaxamento muscular generalizado. A analgesia é produzida por estimulação dos alfarreceptores periféricos e centrais. Não produz excitação e apresenta grande poder anestésico reversível que se caracteriza pelo bloqueio do impulso nervoso.

A face dorso-lateral do membro posterior direito, sofreu incisão de 3 cm longitudinalmente ao maior eixo do membro, comprometendo pele e tecido subcutâneo com posterior divulsão da musculatura. Após, foi realizado o procedimento de acordo com o grupo experimental.

Figura 4 - Procedimento cirúrgico realizado na face dorso-lateral.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 5 - Exposição do nervo fibular para a realização da neurrrafia término-lateral.



Fonte: Elaborado pela autora.

As cirurgias foram realizadas com o auxílio de microscópio cirúrgico DF Vasconcelos.

A neurorrafia foi realizada com fio monofilamentar de nylon 10-0 com agulha cilíndrica e circular, sem retirada de janela de epineuro e com dois pontos simples. Após o procedimento, a incisão foi suturada por planos com pontos simples utilizando-se fio monofilamentar de náilon 4-0 na musculatura e pele.

Os animais foram mantidos em caixas apropriadas, contendo quatro animais cada, em temperatura controlada ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), ciclo claro-escuro de 12 horas, com ração e água *ad libitum*, até o momento do sacrifício.

No pós-operatório os animais foram observados quanto à dor, considerando os seguintes sinais: vocalização, piloereção, postura encurvada, hipotermia, descarga ocular (cromodacriorréia), ato de lambar-se, maior agressividade, relutância em interagir, alteração no consumo de água e alimentos e por último, a perda de peso. Foram usadas as drogas até não haver mais sinais de dor. A analgesia pós-operatória foi feita com acetaminofenol (paracetamol) 2 mg/mL de água, administrados de forma subcutânea, e também, na água do bebedouro.

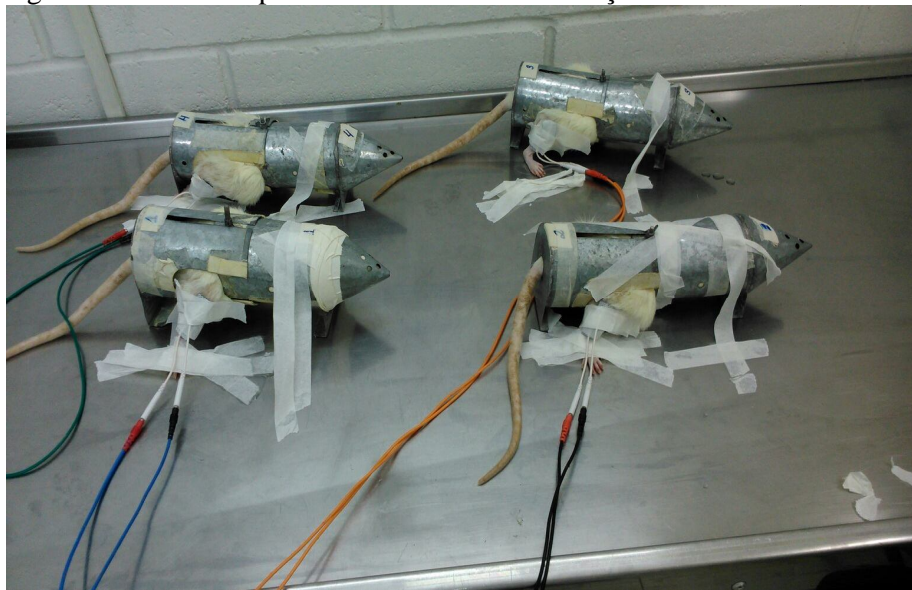
3.4 ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA

A estimulação elétrica Aussie teve início com cinco dias de pós-operatório. Os animais do grupo EA90 foram submetidos a três sessões semanais durante 90 dias, totalizando 12 e 24 sessões respectivamente. Receberam estimulação elétrica para o músculo extensor longo dos dedos com corrente Aussie, com frequência carrier de 1000 HZ, Sincronizada, com frequência de base de 1 KHz, frequência modulada em 30 e 100 Hz, com duração de 2 ms, tempo de contração de 10 segundos por 20 segundos de relaxamento, durante 10 minutos cada modulação. A corrente inicial foi àquela suficiente para promover a contração muscular. Foi utilizado estimulador elétrico Neurodyn® 4 Canais da empresa Ibramed.

A estimulação elétrica Russa teve início com cinco dias de pós-operatório. Os animais do grupo ER90 foram submetidos a três sessões semanais durante 90 dias, totalizando 12 e 24 sessões respectivamente. Receberam estimulação elétrica para o músculo extensor longo dos dedos com corrente Russa, com frequência carrier de 2500 HZ, Sincronizada, com frequência de base de 2,5 KHz, frequência modulada em 30 e 100 Hz, com duração de 4 ms, tempo de contração de 9 segundos por 18 segundos de relaxamento, durante 10 minutos cada modulação. A corrente inicial foi àquela suficiente para promover a contração muscular. Foi utilizado estimulador elétrico Endophasy® - KLD® 4 Canais da empresa Ibramed.

Foram utilizadas frequências moduladas de 30 e 100 Hz para estimular os dois tipos de fibras, vermelha e branca, respectivamente.

Figura 6 - Ratos encapsulados recebendo estimulação elétrica.



Fonte: Elaborado pela autora.

Os animais foram estimulados acordados e sem anestesia. Para isto foi desenvolvida uma cápsula metálica com abertura posterior para a cauda e duas aberturas laterais para fixação dos membros posteriores. Após esta imobilização, os eletrodos de um centímetro quadrado de área foram fixados sobre o ventre dos respectivos músculos. Para aplicação da estimulação elétrica foram utilizados eletrodos autoadesivos.

3.5 TESTE DE MARCHA

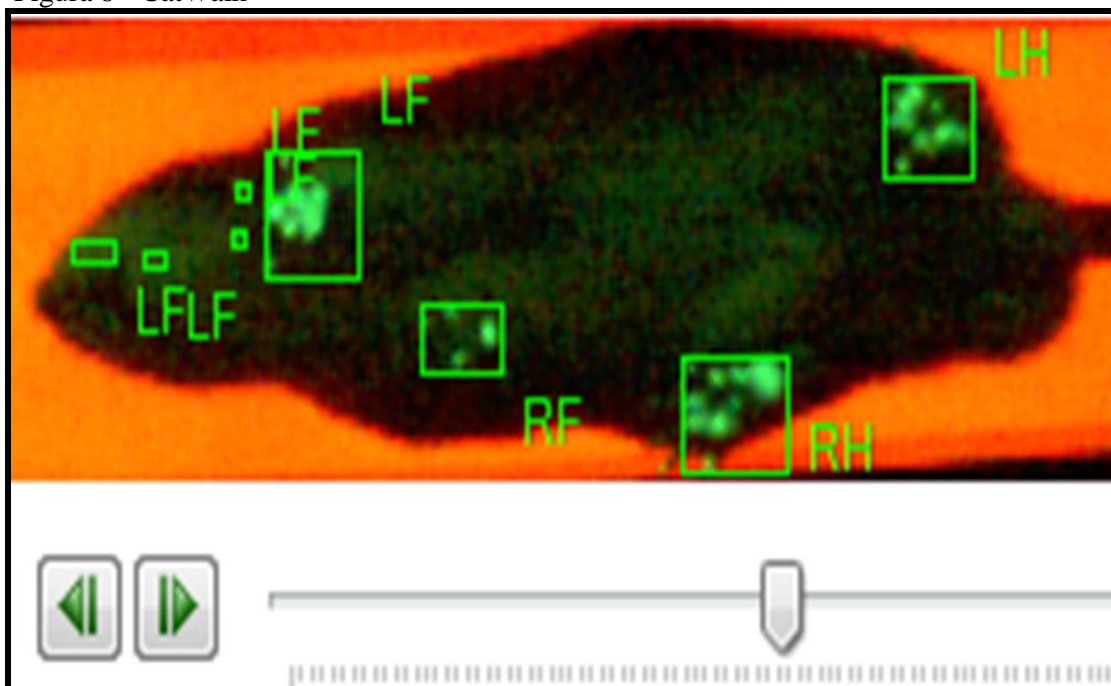
Após os 90 dias de tratamento, os animais foram submetidos à avaliação funcional e, para isto, um a um, caminharam por um aparelho chamado *CatWalk*TM (Figura 9), o qual, automaticamente, registrou as pegadas no assoalho, que foram utilizadas para análise funcional. Este procedimento foi repetido duas vezes com cada animal. Os dados foram submetidos ao tratamento estatístico obedecendo ao índice de $p < 0,05$ para todas as amostras.

Figura 7- Aparelho CatWalk™



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 8 - CatWalk™



Fonte: Elaborado pela autora.

3.6 TESTE DE FORÇA

O tendão distal do MTC foi seccionado e conectado a um transdutor de força FT03 Grass Technologies Company, Astro-Med, Inc. (West Warwick, RI), através do uso de um fio monofilamentar de náilon 4-0. O comprimento ideal do músculo foi mantido em uma carga de pré-tensão de 0,18 N e foi zerada entre os testes.

A estimulação elétrica foi aplicada diretamente do músculo tibial cranial exposto. O teste consistiu em três aplicações sequenciais de um segundo de duração, com a tensão muscular reajustada entre as mensurações. A contração tetânica foi realizada com estímulo de 100 mA e frequência de 100Hz.

3.7 TESTE ELETROFISIOLÓGICO

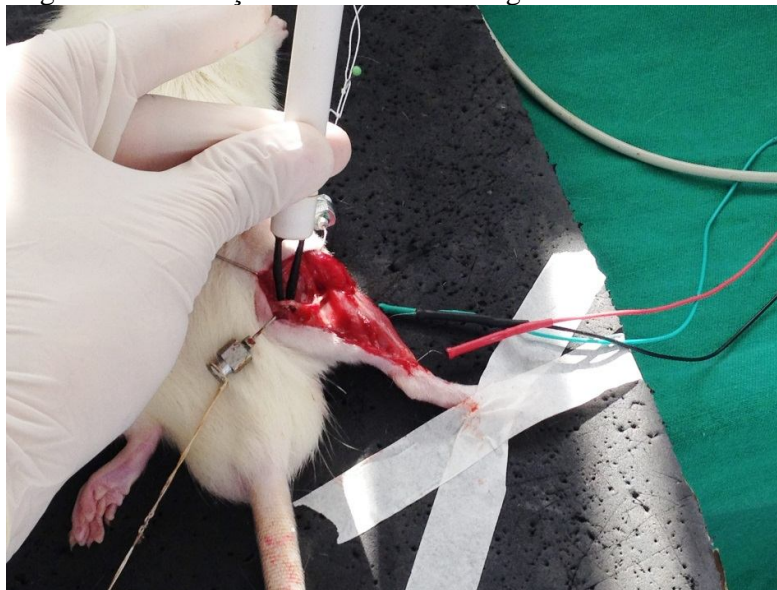
Para a realização do teste eletrofisiológico a temperatura ambiente foi mantida em torno de 25°C.

O teste eletrofisiológico foi realizado antes da eutanásia dos animais.

Após anestesia com ketamina (80mg/kg) e xilazina (10mg/kg) intramuscular, os animais foram imobilizados em decúbito ventral. Foram realizadas tricotomia e ampla incisão no membro posterior previamente operado, permitindo acesso aos nervos isquiático, fibular comum, tibial e músculo tibial cranial. O potencial de ação composto foi registrado por eletrodos de agulha ativo e de referência.

O eletrodo vermelho (referência) foi colocado no tendão do músculo tibial cranial do rato; o eletrodo preto (ativo), no ventre do músculo tibial cranial do rato, e o eletrodo cinza (dispersivo), introduzido em local distante da região estudada.

Figura 9 - Realização da Eletroneuromiografia.



Fonte: Elaborado pela autora.

Os eletrodos registraram a amplitude e a latência do potencial de ação muscular. Foram realizados três conjuntos de medidas para cada animal com o nervo tibial intacto e mais três com a porção do nervo tibial seccionado distalmente à NTL, sendo escolhido um conjunto com o nervo tibial intacto e um conjunto com o nervo tibial seccionado, aquele que apresentava a maior amplitude registrada.

A avaliação das propriedades funcionais do músculo foi através de estímulos elétricos deflagrados por um eletrodo bipolar, especialmente desenvolvido para este propósito, cujo cátodo e ânodo estavam distantes 2 mm. O eletrodo de estimulação bipolar foi posicionado diretamente sobre o nervo isquiático ou tibial, proximalmente à neurorafia, possibilitando a propagação dos impulsos elétricos através dela. A frequência do estímulo foi fixada em 1 pps e a duração em 100 μ s. A intensidade de estímulo utilizada, constante em todos os animais, foi de 5,1 volts. Os dados de amplitude e latência foram comparados entre os grupos. Foi utilizado eletromiógrafo da marca Sapphire II 4ME.

3.8 COLETA DAS PEÇAS HISTOLÓGICAS E SACRIFÍCIO

Após a realização dos procedimentos cirúrgicos, os animais receberam dose letal de pentobarbital sódico (150 mg/kg) e lidocaína a 2% (10 mg/kg), administrados intraperitonealmente.

Os músculos foram retirados e colocados em soro fisiológico, tiveram suas massas aferidas e foram mantidos imersos em nitrogênio líquido (-196°C) até o momento do processamento histológico.

3.9 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO DO MÚSCULO EXTENSOR LONGO DOS DEDOS (EDL)

Os músculos foram congelados em nitrogênio líquido, e submetidos a secções transversais de 10 µm em criostato *Leica* CM1850. As secções foram realizadas na região central, transversalmente ao maior eixo do músculo. Foram realizados de 4 a 6 cortes de um mesmo músculo possibilitando a escolha, durante a análise, de um corte com menos artefatos histológicos. Os cortes histológicos foram corados pela técnica de Hematoxilina–Eosina (HE).

As lâminas foram identificadas com o número de registro no laboratório para que o pesquisador não saiba a qual grupo o animal pertencia. A numeração real foi revelada apenas no momento da análise estatística.

3.10 DIGITALIZAÇÃO DAS IMAGENS DOS MÚSCULOS

As imagens foram capturadas por uma *scanner* de Imagens *Scan Scope (Aperio)* e salvas em notebook DELL, 8 GB DDR, HD 1 TB.

Foram selecionadas, aleatoriamente, 5 imagens de diferentes campos de um mesmo corte histológico (uma de cada quadrante mais o centro) de cada lâmina e foi utilizado aumento de 100 vezes para a análise das fibras musculares.

3.11 MORFOMETRIAS DAS FIBRAS MUSCULARES

As imagens digitalizadas e salvas foram analisadas através de medidas de área, diâmetro mínimo e perímetro das fibras musculares e do músculo como um todo. As medidas foram feitas de modo semiautomático, utilizando-se *software* Image Pro Plus 6.0. Foram aferidas aleatoriamente 220 fibras por animal.

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

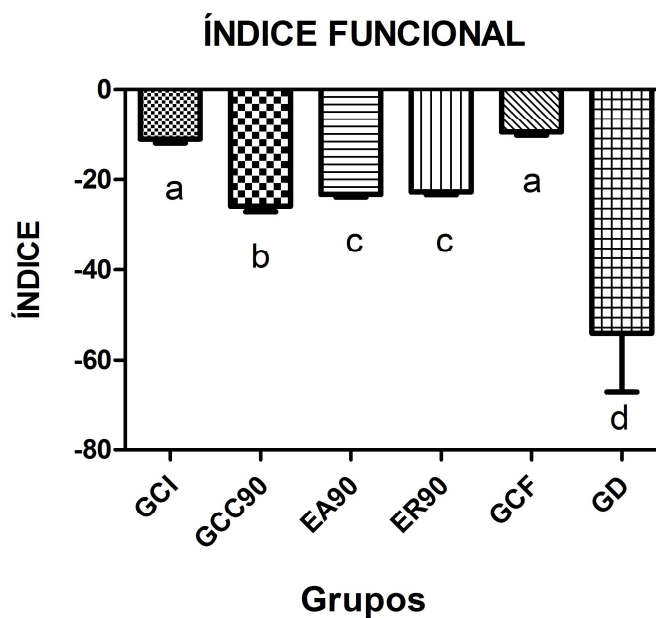
Quando comparados os grupos, foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de TUKEY, quando detectada diferença significativa. Em todas as análises, foi utilizado o nível de significância $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 ANÁLISE FUNCIONAL DA MARCHA

A média dos resultados da análise funcional da marcha (Figura 10) (Tabela 1) demonstrou que o EA90 e ER90 obtiveram resultados semelhantes entre si e os melhores resultados entre os grupos que realizaram neurorrafia. Nenhum grupo apresentou resultados semelhantes ao GCF, entretanto, todos apresentaram resultados significativamente superiores ao GD.

Figura 10 - Gráfico com as médias obtidas pela análise de marcha.



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

Tabela 1 – Tabela com média e desvio padrão da Análise Funcional nos grupos estudados.

Análise Funcional		
	Média	DP
GCI	-11,12 ^a	2,77
GCC90	-25,84 ^b	3,71
EA90	-23,25 ^c	1,86
ER90	-22,67 ^c	2,09
GCF	-9,51 ^a	2,30
GD	-54,05 ^d	41,78

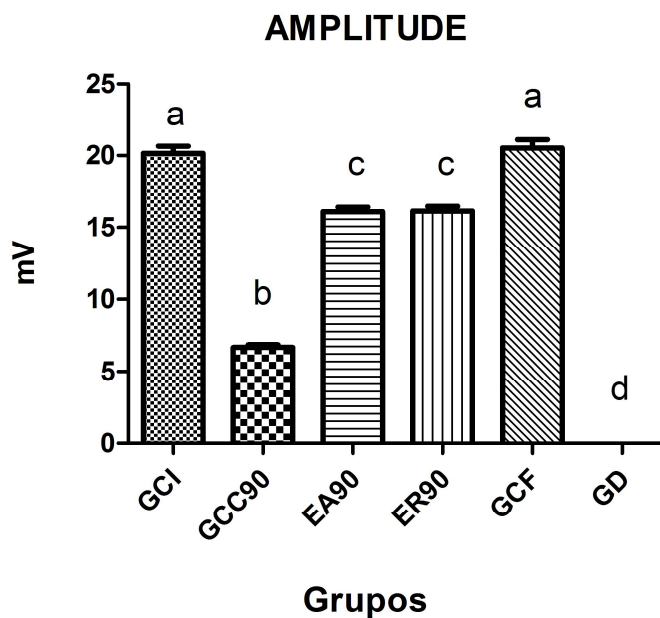
Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

4.2 ANÁLISE ELETROFISIOLÓGICA

A média dos resultados de amplitude (mV) demonstrou que o EA90 e ER90 obtiveram resultados semelhantes entre si e os melhores resultados entre os grupos que realizaram neurorrafia. Nenhum grupo apresentou resultados semelhantes ao GCF, entretanto, todos apresentaram resultados significativamente superiores ao GD. Os resultados da amplitude podem ser observados na (Figura 11) (Tabela 2).

Figura 11 - Gráfico da média da amplitude (mV).



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

Tabela 2 - Tabela com média e desvio padrão de amplitude da Análise Eletrofisiológica.

Análise Eletrofisiológica - Amplitude		
	Média	DP
GCI	20,17 ^a	1,52
GCC90	6,68 ^b	0,63
EA90	16,12 ^c	0,99
ER90	16,16 ^c	1,04
GCF	20,53 ^a	1,84
GD	0,00 ^d	0,00

Fonte: Elaborado pela autora.

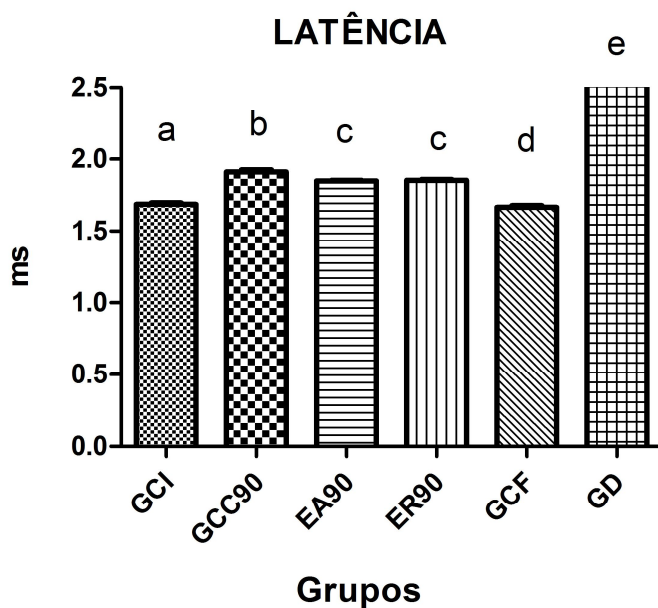
Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

Em relação à média dos resultados de latência (ms), não foram observadas diferenças significativas entre os grupos EA90 e ER90 e os mesmos ainda apresentaram os melhores resultados entre os grupos que realizaram neurorrafia. Nenhum grupo apresentou resultados

semelhantes ao GCF, entretanto, todos apresentaram resultados significativamente superiores ao GD.

Os resultados de latência podem ser observados na (Figura 12) (Tabela 3).

Figura 12 - Gráfico da média da latência (ms).



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

Tabela 3 - Tabela com média e desvio padrão de latência da Análise Eletrofisiológica.

Análise Eletrofisiológica - Latência		
	Média	DP
GCI	1,69 ^a	0,03
GCC90	1,91 ^b	0,05
EA90	1,85 ^c	0,02
ER90	1,85 ^c	0,02
GCF	1,67 ^d	0,04
GD	1000,00 ^e	0,00

Fonte: Elaborado pela autora.

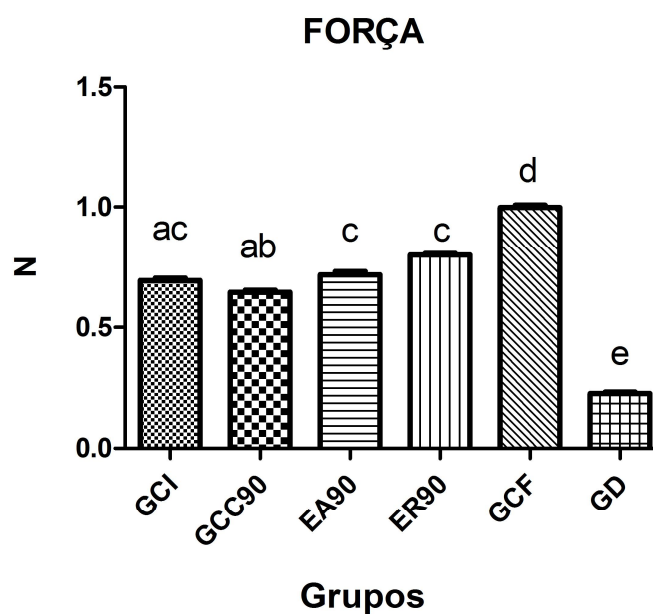
Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

4.3 FORÇA MUSCULAR

A média dos resultados da Força Muscular (N) demonstrou que o EA90 e ER90 obtiveram resultados semelhantes entre si e os melhores resultados entre os grupos que realizaram neurorrafia. Nenhum grupo apresentou resultados semelhantes ao GCF, entretanto, todos apresentaram resultados significativamente superiores ao GD.

Os resultados da força podem ser observados na (Figura 13) (Tabela 4).

Figura 13 - Gráfico da média de força muscular (N).



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

Tabela 4 - Tabela com média e desvio padrão da Análise da Força Muscular.

Análise da Força Muscular		
	Média	DP
GCI	0,69 ^{ac}	0,03
GCC90	0,65 ^{ab}	0,02
EA90	0,72 ^c	0,03
ER90	0,80 ^c	0,02
GCF	1,00 ^d	0,03
GD	0,23 ^e	0,01

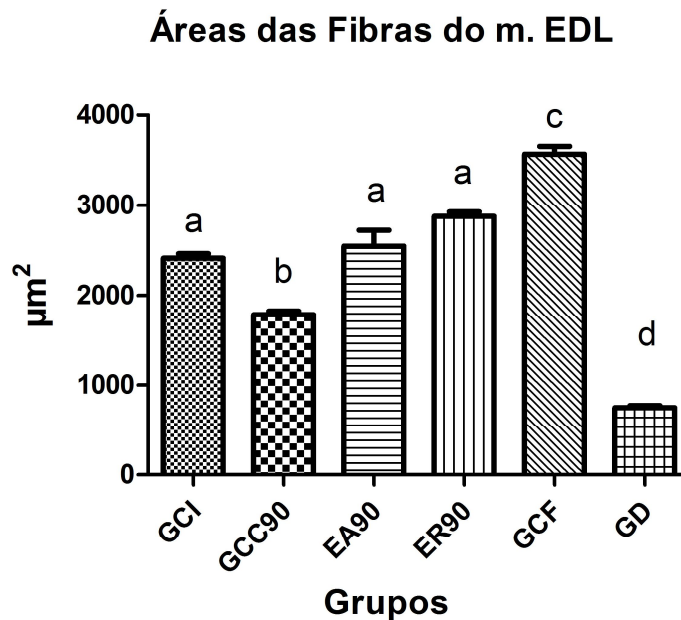
Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

4.4 MORFOMETRIA DAS FIBRAS MUSCULARES

A média dos resultados da morfometria, área (μm^2) e diâmetro (μm) demonstraram que o EA90 e ER90 obtiveram resultados semelhantes entre si e os melhores resultados entre os grupos que realizaram neurorrafia. Nenhum grupo apresentou resultados semelhantes ao GCF, entretanto, todos apresentaram resultados significativamente superiores ao GD.

Os resultados da área podem ser observados na (Figura 14) (Tabela 5).

Figura 14 - Gráfico da média da área da fibra muscular (μm^2).

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

Tabela 5 - Tabela com média e desvio padrão de área da Análise Morfométrica (μm^2).

Análise Morfométrica - Área		
	Média	DP
GCI	2414,50 ^a	145,17
GCC90	1787,38 ^b	118,68
EA90	2547,75 ^a	497,75
ER90	2877,50 ^a	142,14
GCF	3569,88 ^c	239,86
GD	748,75 ^d	67,35

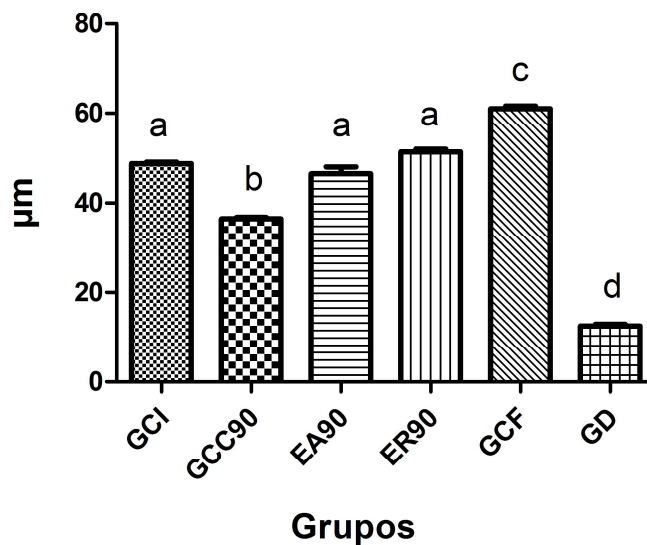
Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

Os resultados do diâmetro podem ser observados na (Figura 15) (Tabela 6).

Figura 15 - Gráfico da média do diâmetro mínimo da fibra muscular (μm).

DIÂMETROS DAS FIBRAS DO MÚSCULO EDL



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

Tabela 6 - Tabela com média e desvio padrão de diâmetro da Análise Morfométrica (μm).

Análise Morfométrica - Diâmetro		
	Média	DP
GCI	48,75 ^a	1,04
GCC90	36,50 ^b	0,93
EA90	46,50 ^a	4,24
ER90	51,38 ^a	1,60
GCF	61,00 ^c	1,85
GD	12,50 ^d	1,20

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Letras diferentes indicam diferença estatística.

5 DISCUSSÃO

O modelo animal (*Rattus norvegicus*) da linhagem *Wistar* foi escolhido nesta pesquisa por vários motivos: são dóceis, permitindo fácil manuseio, apresentam resistência imunológica e sua manutenção requer baixo custo financeiro. Além dessas características já citadas, podemos destacar especialmente o padrão isogênico semelhante ao ser humano. O animal apresenta uma taxa de regeneração e degeneração nervosa e muscular parecida e bem relatada em vários estudos, fazendo que a relação cobaia e ser humano, mesmo apresentando um metabolismo mais acelerado, sejam interpretados com tranquilidade. Essas características fazem com que o rato *Wistar* seja um modelo consagrado na reparação de nervos periféricos. (CLOUTIER et al., 2013; GEORGIOU et al., 2013; HUNDESHAGEN et al., 2013; SU et al., 2013).

A escolha do gênero masculino deve-se ao fato de uma escolha metodológica da qual se diminua uma variável no estudo, pois animais do gênero feminino poderiam apresentar alterações dos ritmos hormonais, o que causaria variações nos resultados. Como relatado por Kovacic et al., (2009), os hormônios femininos promovem efeitos neurotróficos na regeneração de nervos periféricos, entretanto autores relatam prejuízos quando se realizado experimentos com animais do gênero feminino. (KANE et al. 2002).

É importante a escolha de animais jovens, porque além de serem os mais utilizados, e por isso, apresentarem uma maior margem para comparação, sabe-se que quanto mais idoso o animal, mais lentos são os fenômenos envolvidos na reparação dos nervos periféricos. (ZOU et al., 2013; SAYGILI et al., 2012.).

O anestésico utilizado foi à associação do Cloridato de Ketamina com o Cloridato de Xilazina, porque é uma das mais utilizadas em animais de pequeno porte. Apresenta na sua associação além do sedativo o relaxante muscular, que atua na vasoconstrição, evitando sangramentos extensos, que são preocupantes em animais como o rato, o qual apresenta baixo peso, pequena área corporal e alto metabolismo. Por essas razões essa associação é vastamente utilizada por outros pesquisadores. A via de administração escolhida foi a intramuscular, por proporcionar sedação gradativa por maior tempo utilizando uma concentração de anestésico baixa (0,10ml/100g), já que a cirurgia experimental empregada desprende um tempo grande de trabalho (DUPLAS et al., 2001). Outros autores utilizam vias de administração diferentes, como por exemplo, a intraperitoneal, a qual apresenta uma sedação mais rápida e maior absorção, empregada em estudos que é necessário um tempo menor de sedação da cobaia.

O músculo EDL, é um músculo de contração rápida, e se contrai somente quando é exigido por algum movimento, apresenta predomínio em sua composição de fibras do tipo FG (fast glycolity), portanto é fatigável facilmente e é conhecido como músculo branco. Este músculo é relatado na literatura na investigação da resposta após reinervação de nervos periféricos. (MINATOMO, 2007; RADTKE et al., 2009).

Os estudos das lesões nervosas periféricas tiveram um grande avanço na época das guerras civis e Segunda Guerra Mundial (SIQUEIRA, 2007), e foi a partir desse contexto no qual surgiram suas três classificações, em 1975, segundo Seddon: neurotmeze, axonotmeze e neuropraxia.

A lesão classificada como neurotmeze por Seddon (1943), mais especificamente a grau V, classificada por Sunderland (1978) é a injúria de nervo periférico mais grave e com a menor perspectiva de melhora, sendo o reparo cirúrgico obrigatório nesses casos. Quando não há perda de tecido neural o reparo cirúrgico é feito através da neurorafia termino-terminal, que quando feita por um cirurgião experiente e no período de até seis horas após a lesão, a evolução do quadro é positiva, mas com resultados funcionais ainda limitados e demorados. (BATISTA et al., 2010, TOBY et al., 1996).

Quanto ao tipo de lesão realizada, esse estudo baseia-se no tipo neurotmeze. E para que ela não evolua para um quadro de neuroma de amputação, é necessário uma cirurgia de reparo (ARSLANTUNALI et al., 2014). Optou-se pela neurotmeze com perda tecidual, por ser a lesão mais grave e de mais difícil recuperação, dessa forma, a atrofia das fibras musculares teriam maior possibilidade.

Sabe-se que essas lesões acarretam em perda funcional e sensitiva para o paciente, por isso, para minimizar essas perdas, diversas pesquisas são feitas em busca do aprimoramento de técnicas cirúrgicas e tratamentos pós-operatórios. (SATO, 2005).

É notável que a neurorafia término-lateral alcança resultados clinicamente eficientes (FREY and GIOVANOLI, 2003). Sua eficácia tem levado aos ensaios clínicos a utilização dessa técnica de cirurgia. (GEUNA, PAPALIA and TOS 2006).

Viterbo *et al.* (2012) compararam dois novos métodos abraçantes de sutura de neurorafia término-lateral com seu método tradicional: (1) um com a extremidade do coto distal do nervo fibular dividido longitudinalmente em duas partes, com seus axônios removidos, resultando em abas epi-perineuro nas quais foram suturadas “abraçando” o nervo tibial; (2) e o outro, suturado ao nervo fibular, “abraçou” com um ponto único de nylon o nervo tibial. Ao final foi concluído que os três tipos de neurorafias não apresentaram diferenças relacionadas à massa muscular e ao número de fibras nervosas. Por isso, para essa

pesquisa, foi utilizada a neurografia término-lateral tradicional, coto distal suturado na face lateral do nervo tibial, por tratar-se de uma técnica mais simples e com menor possibilidade de dano ao nervo doador por erro cirúrgico.

A estimulação elétrica é uma alternativa muito utilizada no ambiente clínico com o objetivo de potencializar a regeneração nervosa e a ação muscular, evitando e/ou melhorando o quadro de atrofia devido à lesão. Segundo a pesquisa realizada por Alves (2012), o tratamento com estimulação elétrica estimulou as propriedades biomecânicas (tensão máxima, rigidez e deformidade relativa) do músculo e promoveu uma modulação da deposição do colágeno fibrilar.

Outra variável utilizada para o tratamento de lesões nervosas periféricas é a laserterapia. Sabe-se que a irradiação do laser interfere na função do nervo, aumentando a velocidade da condução do impulso nervoso (ENDO *et. al.*, 2008), o que traz uma melhoria ao quadro clínico do paciente. É também uma técnica muito vantajosa por ser não invasiva, com habilidade de irradiar nervos lesionados proporcionando uma elevação do metabolismo dos neurônios e um aumento da produção de mielina pelas células de Schwann. (REIS *et al.*, 2008).

A eletroneuromiografia estuda os sistemas nervoso periférico e muscular, avaliando a integridade funcional dos neurônios motores periféricos e sensitivos, das placas mioneurais e dos músculos (FALOPPA and LEITE, 2013). É um exame complementar de grande importância que permite avaliar, por exemplo, a intensidade da lesão. (MURADE, NETO and AVANZIO, 2002).

Durante o teste eletrofisiológico, Maciel *et al.* (2013) observaram que os ratos do grupo desnervado não responderam aos estímulos elétricos e, por isso, foram removidos da análise estatística. O teste eletrofisiológico não mostrou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos em relação à latência e amplitude, indicando equivalência entre os grupos Neurografia Término-Lateral e Controle em relação à condução de impulsos nervosos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base na metodologia apresentada, pode-se concluir que:

As correntes Russa e Aussie apresentam um efeito benéfico na regeneração muscular.

As correntes Russa e Aussie atuam de forma semelhante e não apresentam diferenças estatísticas nas variáveis estudadas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, E. S. **Efeito do uso da estimulação elétrica muscular durante o processo de reparação tecidual graus distintos de axonotmese experimental do nervo ciático de ratos.** [Tese de Doutorado]. Universidade de São Paulo, 2012.
- ARSLANTUNALI, D. et al. Peripheral nerve conduits: technology update. **Medical Devices (Auckland, NZ)**. v. 7, p. 405-424, 2014.
- BPR GUIA DE REMÉDIOS®. Edição: 2010-2011.
- CARVALHO, D. C. I.; ROSIM, G. C.; GAMA, L. O. R.; TAVARES, M. R.; TRIBIOLI, R. A.; SANTOS, I. R.; CLIQUET JÚNIOR, A. **Tratamentos não farmacológicos na estimulação da osteogênese.** Rev Saúde Pública. 36(5): 647-54, 2002.
- CHEN, T. Y. et al. Far-Infrared Therapy Promotes Nerve Repair following End-to-End Neuroorrhaphy in Rat Models of Sciatic Nerve Injury. **Evid Based Complement Alternat Med**, v. 2015, p. 1-10, 2015.
- CHHABRA, A. et al. Peripheral nerve injury grading simplified on MR neurography: As referenced to Seddon and Sunderland classifications. **Indian J Radiol Imaging**, v. 24, n. 3, p. 217-224, 2014.
- CLOUTIER, F. C.; ROULEAU, D. M.; HÉBERT-DAVIES, J.; BEAUMONT, P. H.; BEAUMONT, E. **Atorvastatin is beneficial for muscle reinnervation after complete sciatic nerve section in rats.** J Plast Surg Hand Surg, Canadá, July, 2013. In press. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> >. Acesso em: 23 jul. 2013.
- DA-SILVA, C. **Biologia Celular e Molecular da regeneração do sistema nervoso periférico.** Atualiz Neurociênc. 19:1-16, 1995.
- DAVATZ, C. G.; ANDREO, J. C.; RODRIGUES, C. A.; ROSA JÚNIOR, G. M. & MORAES, R. L. H. Apoptosis in denervated skeletal muscle. **Int. J. Morphol.** Bauru, v. 25, n. 3, p. 529-536, 2007.
- DEUMENS, R.; BOZKURT, A.; MEEK, M. F.; MARCUS, M. A. E.; JOOSTEN, E. A. J.; WEIS, J.; BTOOK, G. A. Repairing injured peripheral nerves: Bridging the gap. **Progress in Neurobiology**. Maastricht, v. 92, n. 3, p. 245-276, 2010.
- DUPLAS, J.; VACHON, P.; CUVELLIEZ, S.; BLAIS, D. Anesthésie du lapin de Nouvelle-Zélande utilisant les combinaisons tiletamine-zolazepam et ketamine-midazolam avec ou sans xylazine. **Can Vet J. Quebec**, v. 42, n. 6, p. 455-460, Junho, 2001.
- ENDO, C., BARBIERI, C. H., MAZZER, N., FASAN, V. S. A laserterapia de baixa intensidade acelera a regeneração de nervos periféricos. **Acta Ortop Bras**, v. 16, n. 5, p. 305-10, 2008.
- ENOKA, R.M. **Bases neuromecânicas da cinesiologia.** 2ed. São Paulo: Manole, 2000.

FALOPPA, F.; LEITE, N. M. Eletroneuromiografia: bases e aplicações. In: NOBREGA, J. A. M.; MANZANO, G. M. *Propedêutica Ortopédica e Traumatológica*. 1. ed. Porto Alegre: **Artmed**. cap. 5, p. 63, 2013.

FITTS, R. H.; RILEY, D. R.; WIDRICK, J. J. Functional and structural adaptations of skeletal muscle to microgravity. **The Journal of Experimental Biology**. Milwaukee, v. 204, n. 18, p. 3201-3208, 2001.

FREY, M.; GIOVANOLI, P. End-to-side neuroorrhaphy of motor nerves: reinnervation of free muscle transplants—first clinical application. **European Journal of Plastic Surgery**, v. 26, n. 2, p. 89-94, 2003.

FU, S.Y.; GORDON, T. **The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration**. *Mol Neurobiol*. 14:67-116, 1997.

GEORGIU, M.; BUNTING, S.C.; DAVIES H.A.; LOUGHLIN A.J.; GOLDING, J.P.; PHILLIPS, J.B. Engineered neural tissue for peripheral nerve repair. **Biomaterials**. Milton Keynes, v. 34, n. 30, p. 7335–7343, Outubro. 2013.

GEUNA, S.; PAPALIA, I.; TOS, P. End-to-side (terminolateral) nerve regeneration: a challenge for neuroscientists coming from an intriguing nerve repair concept. **Brain research reviews**, v. 52, n. 2, p. 381-388, 2006.

GIOVANOLI P.; KOLLER R.; MEULI-SIMMEN C.; RAB M.; HASLIK W.; MITTLBO M.; MEYER V.E.; FREY M. **Functional and Morphometric Evaluation of End-to-Side Neuroorrhaphy for Muscle Reinnervation**. *Plast Reconstr Surg*. 106(2):388-92, 2000.

GU, X.; DING, F.; YANG, Y.; LIU, L. Construction of tissue engineered nerve grafts and their application in peripheral nerve regeneration. **Progress in Neurobiology**. China, v. 93, n. 2, p. 204-230, 2011.

GUO, B. S.; CHEUNG, K. K.; YEUNG, S. S.; ZHANG, B. T.; YEUNG, E. W. Electrical Stimulation Influences Satellite Cell Proliferation and Apoptosis in Unloading-Induced Muscle Atrophy in Mice. **Plos One**. *Hung Hom*, v. 7, n. 1, doi:10.1371/journal.pone.0030348. Epub 2012 Jan 12.

HASEGAWA, S.; KOBAYASHI, M.; ARAI, R.; TAMAKI, A.; NAKAMURA, T.; MORITANI, T. Effect of early implementation of electrical muscle stimulation to prevent muscle atrophy and weakness in patients after anterior cruciate ligament reconstruction. **Journal of Electromyography and Kinesiology**. Kyoto, v. 21, n. 4, p. 622-30, 2011.

HUNDESHAGEN, G.; SZAMEIT, K.; THIEME, H.; FINKENSIEPER, M.; ANGELOV, D. N.; GUNTINAS-LICHIUS, O.; IRINTCHEV, A. Deficient functional recovery after facial nerve crush in rats is associated with restricted rearrangements of synaptic terminals in the facial nucleus. **Neuroscience**, Jena, v. 248, p. 307-318, Setembro. 2013.

ĨNIGO, P. R. Estimulación concorrientes de alta frecuencia para laticatrización de la ruptura de meniscos en las lesiones en zona vacular y avascular, reporte preliminar de um nuevo abordaje terapéutico. **Ver Mex Ortop Traumatol**. 12(5): 421-4, 1998.

ISAACS J.; ALLEN D.; CHEN L.E.; NUNLEY J. Reverse End-to-Side Neurotization. **Journal of Reconstructive Microsurgery**. 21(1):43-48, 2005.

KANAYA, F.; TAJIMA, T. Effect of electrostimulation on denervated muscle. **Clin Orthop Relat Res**. n.283, p. 296-301, 1992.

KANE, D. D.; SHOTT, S.; HUGHES, W. F.; KERNS, J. M. Motor Pudendal Nerve Characterization in the Female Rat. **Anat Rec (Hoboken)**. Chicago, v. 266, n.1, p. 21-29. Outubro. 2002.

KERN, H.; CARRARO, U.; ADAMI, N.; BIRAL, D.; HOFER, C.; FORSTNER, C.; MÖDLIN, M.; VOGELAUER, M.; POND, A.; BONCOMPAGNI, S.; PAOLINI, C.; MAYR, W.; PROTASI, F.; ZAMPIERI, S. Home-Based Functional Electrical Stimulation Rescues Permanently Denervated Muscles in Paraplegic Patients With Complete Lower Motor Neuron Lesion. **Neurorehabilitation and Neural Repair**. Viana, v. 24, n. 8, p. 709-721, 2010.

KONOFAOS, P.; VER HALEN, J. P. Nerve repair by means of tubulization: past, present, future. **Journal of reconstructive microsurgery**. Tennessee, v. 29, n. 3, p. 149-164, 2013.

KOTWAL, A.; SCHMIDT, C. E. **Electrical stimulation alters absorption and nerve cell interactions with electrically conducting biomaterials**. *Biomaterials*. 22(10): 1055-64, 2001.

MACIEL, F. O.; VITERBO, F.; CHINAQUE, L. D. F. C.; SOUZA, B. M. Effect of electrical stimulation of the cranial tibial muscle after end-to-side neurotization of the peroneal nerve in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 39-47, 2013.

MCCALLISTER, W.V.; TANG, P.; TRUMBLE, T.E. **Is end-to-side neurotization effective? A study of axonal sprouting stimulated from intact nerves**. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 15(8):597-904, 1999.

MINAMOTO, V. B. Efeitos da desnervação no músculo esquelético: uma revisão. **Fisioterapia em Movimento**. Curitiba, v. 20, n. 3, p. 63-69, jul./set. 2007.

MURADE, E. C. M.; NETO, J. S. H.; AVANZIO. O Estudo da relação e da importância entre a semiologia clínica, tomografia axial computadorizada e eletroneuromiografia nas radiculopatias lombares. **Acta Ortop Bras**, v. 10, n. 4, p. 18-25, 2002.

NEMETH, P.M. **Electrical stimulation of denervated muscle prevents decreases in oxidative enzymes**. *Muscle Nerve*, 5(2): 134-9, 1982.

P.R. VADE-MÉCUM, 2009-2010.

RADTKE, C.; VOGT, P.M. Peripheral Nerve Regeneration: A Current Perspective. **Eplasty**. Alemanha, v.12, n. 9, p. 47, Outubro. 2009.

REIS, F. A.; BELCHIOR, A. C. G; NICOLAU, R. A.; FONSECA, T. S.; CARVALHO, P. T. C. **Efeito da terapia com laser de arsenieto de gálio e alumínio (660nm) sobre a recuperação do nervo ciático de ratos após lesão por neurotome seguida anastomose epineural: análise funcional.** Rev. Bras. Fisioter. Brazilian Journal of Physical therapy. 12, 3, 2008.

ROBINSON, L.R.; **Traumatic injury to peripheral nerves.** Muscle Nerve. 23(6):863-73. doi:10.1002/(SICI)1097-4598(200006)23:6<863::AID-MUS4>3.0.CO;2-0, 2000.

RODRIGUES, A. C.; DOLNI, M. I. M.; GEUNA, S.; ANDREO, J. C.; MATTOS RODRIGUES, S. P. Apoptosis in long-term denervated rat skeletal muscle. **Brazilian journal of morphological sciences.** Bauru, v. 22, n. 4, p. 141-156, 2005.

ROVAK, J. M.; CEDERNA, P. S.; KUZON, W. M. Terminolateral neuroorrhaphy: a review of the literature. **J Reconstr Microsurg,** v. 17, n. 8, p. 615-624, 2001.

RUFFIN, M.T.; KNINGHAM, R.B. **Anterior knee pain:** the challenge of patellofemoral syndrome. Am Fam Physician. 1993; 47(1): 185-94.

SATO, K. M. **Comparação de neurorrafias término-terminais e término-laterais na reconstrução do nervo mediano:** pesquisa experimental em ratos Wistar adultos [TCC Graduação Medicina]. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SAYGILI, E.; KLUTTIG, R.; RANA, O. R.; SAYGILI, E.; GEMEIN, C.; ZINK, M. D.; RACKAUSKAS, G.; WEIS, J.; SCHWINGER, R. H.; MARX, N.; SCHAUERTE, P. **Age-related regional differences in cardiac nerve growth factor expression.** Age (Dordr), Alemanha, v. 34, n. 3, p. 659-667, Junho. 2012.

SEDDON, H. J. Three types of nerve injury. **Brain.** USA, v. 66, n. 4, p. 237-288, 1943.

SELKOWITZ, D.M. High frequency electrical stimulation in muscle strengthening. **Am J Sports Med.** 17:103-111, 1989.

SIQUEIRA, R. Peripheral Nerve Injury: A Review. **Revista Neurociências.** 2007, p. 226.

SNYDER-MACKLER, L.; DELITTO, A.; STRALKA, S.W.; BAILEY, S.L. **Use of electrical stimulation to enhance recovery of quadriceps femoris muscle force production in patients following anterior cruciate ligament reconstruction.** Phys Ther. 74:901-7, 1994.

SOO, C.L.; CURRIER, D.P.; THERELKED, A.J. Augmenting Voluntary Torque of Healthy Muscle by Optimization of Electrical Stimulation. **Phys Ther.** 68: 333-7, 1988.

SOUZA, T.D.; DEL CARLO, R.J.; VILORIA, M.I.V. Eletroterapia no processo de reparação da superfície articular de coelhos. **Ciênc Rural.** 31(5): 819-24, 2001.

SU, H.; YUAN, Q.; QIN, D.; YANG, X.; WONG, W. M.; SO, K. F.; WU, W. Ventral root re-implantation is better than peripheral nerve transplantation for motoneuron survival

and regeneration after spinal root avulsion injury. **BMC Surg**, China, v. 13, n. 1, p. 21, Junho. 2013.

SUNDERLAND, S. **Nerves and nerves injuries**. Edinburg, Churchill Livingstone, p.483-650, 1978.

SUNDERLAND, S. S. The anatomy and physiology of nerve injury. **Muscle & Nerve**. Melbourne, v. 13, n. 9, p. 771-784, 1990.

TOBY, E.B.; MEYER, B.M.; SCHWAPPACH, J.; ALVINE, G. Changes in the structural properties of peripheral nerves after transection. **J Hand Surg Am. Kansas City/USA**, v. 21, n. 6, p. 1086-90, Novembro. 1996.

VITERBO, F. **Neurorrafia TÉRMINO-LATERAL , estudo experimental no rato**. [Tese de Doutorado]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina, 1992.

VITERBO, F.; TRINDADE, J.C.; HOSHINO, K.; MAZZONI, NETO A. End-to-side neurorraphy with removal of the epineurial sheath: an experimental study in rats. **Plastic and Reconstructive Surgery**. 1038-47, 1994.

WARD, A.R.; LUCAS-TOUMBOUROU, S. **Lowering of sensory, motor and pain-tolerance thresholds with burst duration using kHz frequency alternating current electrical stimulation**. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, 88(8). 1036-1041, 2007.

WILLIAMS, H. B. The value of continuous electrical muscle stimulation using a completely implantable system in the preservation of muscle function following motor nerve injury and repair: an experimental study. **Microsurgery**, 17(11): 589-96, 1996.

ANEXO A – PROTOCOLO CEUA 1042-2013

Figura 16 - Protocolo CEUA 1042-2013






Certificado

CERTIFICAMOS que o (Protocolo CEUA 1042-2013) "Efeito da estimulação elétrica de média frequência na regeneração muscular após neurectomia término-lateral do nervo fibular de ratos", e ser conduzido por Luis Henrique Simionato, orientado pelo Prof. Dr. Fausto Viterbo de Oliveira Neto, está de acordo com o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, com a ressalva de que os "ratos" são provenientes de Biotério convencional, sem condições de atestar a Sanidade dos mesmos.

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião do CEUA em 26/09/2013


 Prof. Adjunto Katsumi Okoshi
 Presidente da CEUA


 Alberto Santos Capelluppi
 Secretário da CEUA

Departamento de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu - B.P. CEP: 13.678-970 Fone: (14) 3800-1000/2060-1000 e-mail: secretaria_ceua@fmb.unesp.br

Fonte: Universidade Estadual Paulista - FMB