

EFEITO DA CORRENTE ALTERNADA SIMÉTRICA SINUSOIDAL NA MUSCULATURA ESTRIADA ESQUELÉTICA DESNERVADA EXPERIMENTALMENTE

*Effect of sinusoidal alternated current in
experimentally denerved skeletal striated muscle*

Geraldo Marco Rosa Junior¹
Cleuber Rodrigo de Souza Bueno²
Alessandro Heubel²
Carlos Henrique Fachin Bortoluci¹
Luis Henrique Simionato¹
Letícia Rossi Daré³
Mizael Pereira da Silva³
Daniel Ventura Dias⁴

¹Docente do Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração, Bauru, SP, Brasil.

²Acadêmico do Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração, Bauru, SP, Brasil.

³Pós-graduanda da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP, Bauru, SP, Brasil.

⁴Pós-graduando da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Recebido em: 23/02/2013
Aceito em: 19/08/2013

ROSA JUNIOR, Gerando Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *SALUSVITA*, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

RESUMO

Introdução: A utilização da estimulação elétrica (EE) no tratamento de músculos desnervados tem sido muito estudada, pois auxilia na reinervação tardia e minimiza a atrofia muscular. **Objetivo:** Neste estudo, avaliamos a EE através da corrente alternada simétrica sinusoidal na manutenção dos aspectos morfológicos dos músculos Extensor longo dos dedos (EDL) e Sóleo desnervados experimentalmente. **Método:** Quarenta ratos da linhagem wistar foram divididos em quatro grupos experimentais (n=10): Em grupo controle inicial (GCI), controle Final (GCF), desnervado (GD), e em desnervado e estimulado (GDE). A aplicação EE no músculo EDL e sóleo teve

início 48 horas após a lesão nervosa, sendo aplicada três vezes por semana durante quarenta e cinco dias. Cortes transversais foram corados com HE para a mensuração da morfometria das fibras musculares. Para a análise estatística foi utilizado a análise de variância (one-way - ANOVA) seguido pelo teste de tukey ($p \leq 0,05$). **Resultados:** Os animais do grupo D e DE apresentaram uma diminuição da área de secção transversal (AST) quando comparadas ao CF. Porém o grupo DE minimizou a atrofia muscular, pois houve diferença estatisticamente significativa quando comparado ao D, tanto no músculo EDL quanto no sóleo. **Conclusão:** A EE foi eficiente na manutenção dos aspectos morfológicos dos músculos EDL e sóleo, minimizando a atrofia muscular. Podendo ser um tratamento útil para as lesões nervosas periféricas.

Palavras-chave: Desnervação. Estimulação elétrica. Baixa frequência. Atrofia muscular. Extensor longo dos dedos e sóleo.

ABSTRACT

Introduction: *the use of electrical stimulation (ES) in the treatment of denervated muscles has been studied as it assists in the late reinnervation and minimizes muscle atrophy.* **Purpose:** *this study assessed the ES through the symmetric sinusoidal alternating current in the maintenance of the morphological aspects of the experimentally denervated Extensor digitorum longus (EDL) and Soleus muscles.* **Method:** *Forty Wister rats were divided into four experimental groups (n = 10): initial control group (ICG), final control group (FCG), denervated group (DG) and denervated and stimulated group (DSG). ES was first applied in the soleus and EDL muscle 48 hours after nerve injury, the applications took place three times per week for forty-five days. Cross-sections were stained with HE to perform the morphometric analysis of the muscle fibers. We used the analysis of variance (one-way - ANOVA) followed by the Tukey test ($p \leq 0.05$) for statistical analysis.* **Results:** *the animals belonging to group D and DE showed a decrease in the cross-sectional area (CSA) when compared to FCG. However, the group DE had muscular atrophy minimized, as there was a statistically significant difference when compared to D, both for EDL and soleus muscles.* **Conclusion:** *the ES was effective in maintaining the morphological aspects of the EDL and soleus muscles, minimizing muscle atrophy. This may be a useful treatment for the peripheral nerve injuries.*

ROSA JUNIOR, Gerando Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *SALUSVITA*, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

ROSA JUNIOR, Gerando
Marco da *et al.* Efeito
da corrente alternada
simétrica sinusoidal na
musculatura estriada
esquelética desnervada
experimentalmente.
SALUSVITA, Bauru, v. 32,
n. 3, p. 211-225, 2013.

Keywords: *Denervation. Electrical stimulation. Low frequency. Muscle atrophy. Extensor digitorum longus. Soleus.*

INTRODUÇÃO

As lesões de nervos periféricos são freqüentes em nossa sociedade e, além dos prejuízos individuais, podem acarretar uma grande despesa econômica para os órgãos públicos de saúde e previdenciário (ROSBURG *et al.*, 2005). Na maioria das vezes, a lesão de um nervo periférico é causada por algum trauma que, 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)

Quando a continuidade do nervo é interrompida, em virtude de alguma lesão, alterações no segmento distal do axônio poderão ser observadas, sendo esta referida como degeneração Walleriana (DAHLIN; BRANDT, 2004). 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 ultra-estrutural, 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 rápida (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)

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.

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).

Experimentalmente, Marqueste *et al.* (2002) demonstraram que o músculo estimulado eletricamente é beneficiado por haver uma melhor regeneração nervosa sensitiva. Dennis *et al.* (2003) confirmam os benefícios, ressaltando que a EE é capaz de manter o tônus muscular, retardando assim, a hipotrofia das fibras musculares. Por outro lado, alguns achados ainda se mostram contraditórios, por exemplo, em estudo realizado por Gigo-Benato *et al.* (2010), onde a EE foi capaz de promover efeitos deletérios, retardando a recuperação funcional e acelerando a atrofia das fibras musculares de ratos submetidos a axonotmese.

Por essa falta de dados corroborantes, sugerimos que mais pesquisas experimentais sejam realizadas, a fim de que seja possível o agrupamento de subsídios que assegurem a transposição da EE para a prática clínica sem maiores riscos. Desse modo, nossa pesquisa avaliou a EE através da corrente alternada simétrica sinusoidal na manutenção dos aspectos morfológicos dos músculos Extensor longo dos dedos (EDL) e Sóleo desnervados experimentalmente.

MATERIAL E MÉTODO

Delineamento experimental

Quarenta ratos *Wistar* (250 ± 50 g) foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n=10/grupo): Em controle inicial (CI), onde os animais foram eutanasiados no início do experimento, Controle final (CF), onde os animais foram eutanasiados no final do experimento, desnervado (D) e em desnervado e estimulado (DE). Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas, com livre acesso à ração e água, e submetidos a ciclo claro/escuro de 12 horas. O experimento foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade do Sagrado Coração (USC), protocolo 231/10. Para os procedimentos cirúrgicos e para a aplicação da EE, os animais

ROSA JUNIOR, Gerando Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *SALUSVITA*, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

ROSA JUNIOR, Gerando
Marco da *et al.* Efeito
da corrente alternada
simétrica sinusoidal na
musculatura estriada
esquelética desnervada
experimentalmente.
SALUSVITA, Bauru, v. 32,
n. 3, p. 211-225, 2013.

foram anestesiados com injeção intramuscular de Cloridrato de Tiletamina, associado com Cloridrato de Zolazepam (10 mg / Kg) na região dorso lateral da coxa esquerda do animal. Os animais eram eutanasiados com dose excessiva de anestésico, três vezes ao valor descrito para a anestesia.

Protocolo para lesão nervosa e estimulação elétrica

Os animais foram submetidos a uma incisão longitudinal na face dorso-lateral da coxa direita com aproximadamente dois centímetros de comprimento, para exposição e secção do nervo isquiático. Após a secção, a extremidade proximal foi suturada no músculo adjacente, enquanto a extremidade distal foi suturada na tela subcutânea, a fim de que não ocorra reinervação.

A EE iniciou-se 48 horas após a lesão nervosa, e os animais foram eletroestimulados por três vezes/semana durante quarenta e cinco dias. Para as aplicações de EE os animais eram anestesiados.

A corrente elétrica foi gerada pelo aparelho da marca KLD – Endphasys R – ET 9701, utilizando-se de eletrodos cutâneos com gel de acoplamento, e dimensões de 2cm x 2 cm, sendo posicionados sobre os músculos EDL e sóleo.

Foram realizados dois ciclos de aplicação. O primeiro ciclo foi realizado por 10 minutos com o objetivo de estimular as fibras vermelhas. Para isso, usamos a Frequência de Ciclo: 2500 Hz; Período: 0,4 ms; Frequência de ativação: 30 Hz; Intervalos de 3/1, com 9 segundos de estimulação para 27 segundos de repouso. Porcentagem de Modulação: 50%. O segundo ciclo foi realizado por 10 minutos com o objetivo de estimular as fibras brancas. Para isso, usamos a Frequência de Ciclo: 2500 Hz; Período: 0,4 ms; Frequência de ativação: 100 Hz; Intervalos de 3/1, com 9 segundos de estimulação para 27 segundos de repouso. Porcentagem de Modulação: 50%.

Coleta do material

Após a retirada dos músculos EDL e sóleo, a porção do ventre foi mantida e envolta em meio de congelamento Tissue-Tek® (O.C.T., Sakura Finetek, Torrance, USA) e resfriadas em nitrogênio líquido. De todos os músculos foram obtidos cortes histológicos de 10 µm de espessura, por meio de microtômo criostato (Leica®, CM 1850, Nussloch, Alemanha), a -20° C e posteriormente corados com Hematoxilina e Eosina (HE). Para análise morfométrica das fibras muscu-

lares foi utilizado um micro computador com o software de captura e análise de imagem Image Pro-Plus® 6.2 (Media Cybernetics, Bethesda, MD, USA), acoplado ao microscópio óptico (Olympus®, BX-50, Tóquio, Japão) e acoplado a este uma câmera fotográfica (Olympus® DP-71, Tóquio, Japão). Foi realizada a morfometria de 220 fibras musculares de cada animal, mensurando a sua AST.

Análise dos dados

Primeiramente foi aplicado o teste de SHapiro-Wilk para testar a normalidade entre os grupos. Em seguida os grupos foi aplicado a análise de variância (One-way ANOVA), seguido pelo teste de Tukey, sendo estabelecido um nível de significância $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Observações Histológicas

As análises histológicas foram realizadas através de coloração de Hematoxilina e Eosina em microscópio óptico (figura 1 e 2). No grupo CF e CI, verificam-se fibras musculares poligonais, com núcleos periféricos, padrão fascicular, evidenciando a morfologia normal. Já no grupo D, apresenta-se grande invasão de tecido conjuntivo no perimísio e endomísio, núcleos centrais, fibras com pequeno diâmetro, caracterizando fibras musculares que sofreram desnervação e estão em processo de atrofia muscular. E no grupo DE apresenta uma grande melhora morfológica, quando comparada ao D, mais ainda apresenta alguns núcleos centrais e uma pequena desorganização fascicular, comparado com os CI e CF.

ROSA JUNIOR, Gerando Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *SALUSVITA*, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

ROSA JUNIOR, Gerardo Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *SALUSVITA*, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

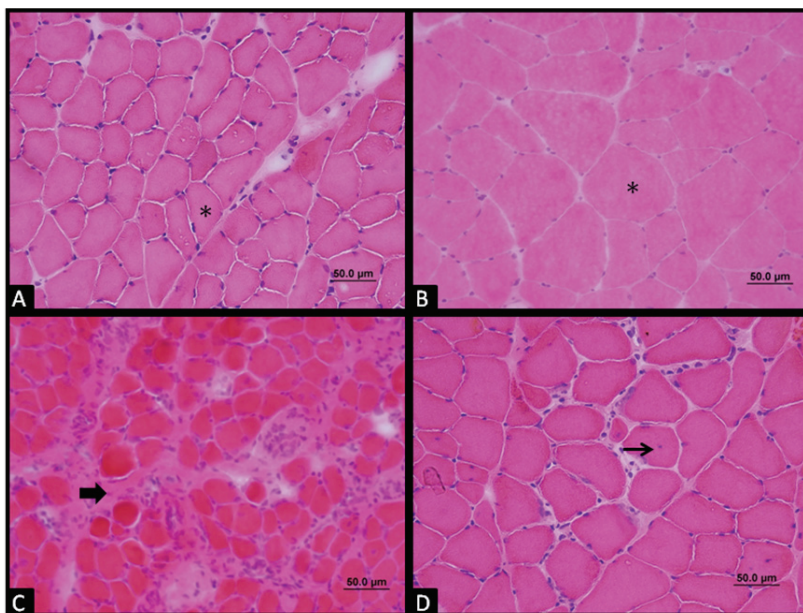


Figura 1 - Músculo EDL. A- Grupo CI, B- Grupo CF, C- Grupo D, D- Grupo DE. * Fibras Poligonais com núcleos periféricos, ➔ invasão do tecido conjuntivo, ➔ fibra muscular com núcleo central.

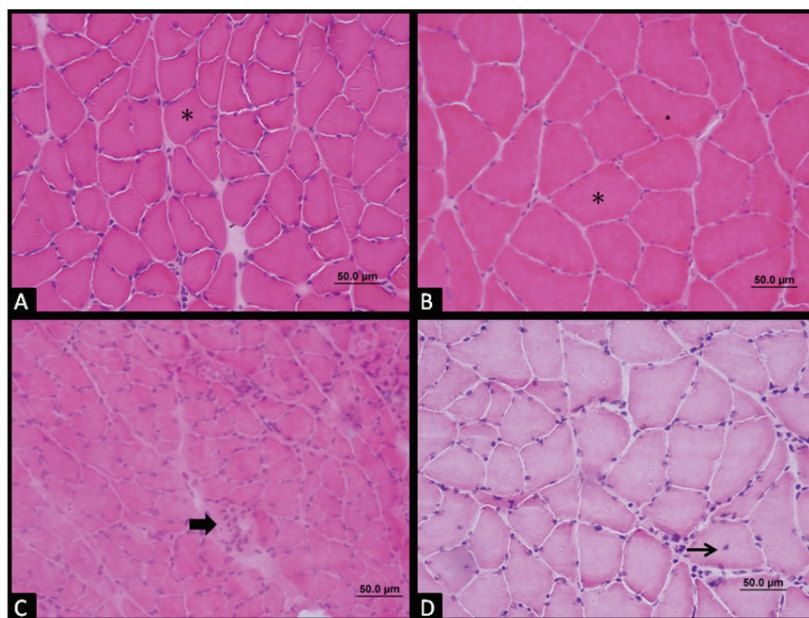


Figura 2 – Músculo Sóleo. A- Grupo CI, B- Grupo CF, C- Grupo D, D- Grupo DE. * Fibras Poligonais com núcleos periféricos, ➔ invasão do tecido conjuntivo, ➔ fibra muscular com núcleo central.

Análise Morfométrica

Os animais do grupo D e DE apresentaram uma diminuição da AST das fibras musculares quando comparadas ao CF (tabela 1 e 2). Porém o grupo DE minimizou a atrofia muscular, pois houve uma diferença estatisticamente significativa quando comparada ao D e foi o grupo que mais se aproximou do CF, tanto no músculo EDL quanto no sóleo.

Tabela 1 – Comparação da média da AST dos diferentes grupos estudados do músculo sóleo.

ÁREA DO MÚSCULO SÓLEO (μm^2)		
Grupos	Média	Desvio Padrão
CI	873,34 ^a	67,77
CF	2954,2 ^c	631,79
D	503,96 ^a	371,56
DE	1813,77 ^b	410,37

a, b, c – Comparação entre os grupos (vertical). Letras iguais não apresentam diferença significativa.

Na comparação entre os grupos experimentais no m. sóleo, o grupo DE apresentou uma AST de 73% maior que o grupo D.

Tabela 2 – Comparação da média da AST dos diferentes grupos estudados do músculo EDL.

ÁREA DO MÚSCULO EDL (μm^2)		
Grupos	Média	Desvio Padrão
CI	929,07 ^a	50,23
CF	4103,45 ^c	528,45
D	519,48 ^a	482,33
DE	2407,91 ^b	364,28

a, b, c – Comparação entre os grupos (vertical). Letras iguais não apresentam diferença estatisticamente significante.

Na comparação entre os grupos experimentais no m. EDL, o grupo DE apresentou uma AST de 79% maior que o grupo D.

ROSA JUNIOR, Gerando Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *SALUSVITA*, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

ROSA JUNIOR, Gerando
Marco da *et al.* Efeito
da corrente alternada
simétrica sinusoidal na
musculatura estriada
esquelética desnervada
experimentalmente.
SALUSVITA, Bauru, v. 32,
n. 3, p. 211-225, 2013.

DISCUSSÃO

Após a transecção do nervo, inúmeros axônios são orientados a reinervar o músculo de maneira incorreta (HAMILTON *et al.*, 2011; ROBINSON; MADISON, 2009). A perda de suprimento nervoso proporciona uma inatividade muscular, causando a atrofia muscular. A atrofia atua como uma barreira para o crescimento axonal durante a reinervação muscular (CAVALCANTE *et al.*, 2012).

Nos músculos desnervados, a EE tem sido utilizada como terapia para minimizar os efeitos da atrofia muscular (SALVINI *et al.*, 2012; FUJITA *et al.*, 2011; ARAKAWA *et al.*, 2010; ASHLEY *et al.*, 2007), pois reduz a diminuição da AST (DOW *et al.*, 2004), aumento de massa muscular (MODLIN *et al.*, 2005), redução da invasão de tecido conjuntivo (FERNANDES *et al.*, 2005) e ainda aumenta a expressão de MMP-2, responsável pela remodelação da matriz intramuscular extracelular (RUSSO *et al.*, 2008).

Em circunstâncias normais, as células satélites dos músculos permanecem em repouso, mas quando estes são danificados por algum motivo, como por exemplo, na desnervação, elas são induzidas a se diferenciarem e finalmente formar uma nova fibra muscular (MEGENEY *et al.*, 1996; ADAMS, 2006), contribuindo para a regeneração muscular. Guo *et al.* (2012) demonstraram que a EE aumenta o potencial proliferativo de células satélites, bem como suprime a morte celular por apoptose pelo desuso na atrofia muscular.

O uso da EE no tratamento de músculos desnervados apresenta resultados divergentes na literatura, devido ao grande número de protocolos utilizados. Sendo necessário avaliar qual é o melhor protocolo terapêutico a ser utilizado para reduzir a atrofia muscular (TOMORI *et al.*, 2010). Em nosso estudo utilizamos o protocolo de baixa frequência de estimulação por um período de 45 dias e o mesmo demonstrou se eficaz na redução da atrofia.

De acordo com Eberstein & Eberstein (1996) os melhores resultados com a EE foi quando o estímulo obtido era semelhante ao do motoneurônio normal. Com isso, os músculos rápidos necessitavam alta frequência de estimulação e os músculos lentos necessitavam baixa frequência de estimulação. Em nossos estudos foi utilizada apenas a baixa frequência, e foi suficiente para minimizar a atrofia muscular tanto em músculos de contração lenta quanto o de contração rápida.

As frequências de estimulação podem ter uma ampla variação na recuperação muscular, e de acordo com Doucet, Lam e Griffin (2012) e De Kroon *et al.* (2005) a estimulação de baixa frequência é a mais utilizada em músculos desnervados, pois evita a fadiga muscular. Já a frequência de alta voltagem é utilizada em tratamentos

fisioterapêuticos para a drenagem de edemas e diminuição da dor (LEONI *et al.*, 2012) e tem maiores contribuições para o sistema nervoso central, como a ativação de neurônios motores da medula espinal (MANG; LAGERQUIST; COLLINS, 2010). Como comprovado por Leoni *et al.* (2012), a eletroestimulação se mostrou eficiente no tratamento de lesão nervosa por esmagamento, quando aplicada precocemente sobre a área da medula e do gânglio nervoso da raiz do nervo isquiático.

Dow *et al.* (2004) avaliou o músculo EDL desnervado de ratos durante 5 semanas e percebeu uma perda de 76% da área transversal da fibra, sendo a atividade contrátil um fator importante para a manutenção a área da fibra. No presente estudo, o grupo estimulado por um período de seis semanas demonstrou que o resultado foi melhor, pois o músculo EDL teve uma redução da área transversal da fibra em 41,4%, e o músculo sóleo teve uma redução de 38,7%, corroborando com os resultados de Polacow *et al.* (2003) que estudou os efeitos da eletroestimulação sobre a morfologia de músculos sóleo desnervados.

Fernandes *et al.* (2005) identificou que a área transversa da fibra do músculo sóleo em animais desnervados teve redução de 63,77%, enquanto que com animais tratados com EE teve uma redução de 42,03% em relação ao controle. Ashley *et al.* (2007) também observou diferença nos valores da massa muscular e da AST em estudos com o músculo tibial anterior de coelhos, na qual demonstraram que após dez semanas de desnervação, a massa e a área transversal teve um aumento de 39% a 66% do normal. Isso demonstra que os protocolos de EE para a manutenção da massa muscular em períodos prolongados como os do nosso estudo, minimizam o efeito da atrofia após a desnervação.

Outro fator discutido é avaliar qual o melhor período para se iniciar o protocolo de tratamento para ter a eficácia na redução da atrofia muscular. Alguns estudos como o de Gigo-benato *et al.* (2010) dizem que na fase inicial após a lesão nervosa a EE é prejudicial, pois promove um atraso da recuperação funcional. Já Elsohemy *et al.* (2011) em estudo com reparo nervoso em ratos, sugere que a EE antes do reparo nervoso aumenta a receptividade dos axônios no músculo em regeneração. O mesmo também é comprovado por Wang *et al.* (2009) onde estudaram o efeito da EE na seletividade da regeneração dos nervos motores após lesão nervosa, e demonstrou-se um tratamento eficaz, pois melhora a regeneração do lesado e promove a regeneração dos nervos motores. O nosso tratamento iniciou-se 48 horas após a cirurgia e demonstrou um período satisfatório para a terapia de lesões nervosas periféricas.

ROSA JUNIOR, Gerando Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *SALUSVITA*, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

ROSA JUNIOR, Gerando Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *SALUSVITA*, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

Al-Majed *et al.* (2000) avaliou a eficácia da EE na regeneração axonal de nervos motores do fêmur e percebeu que de uma a duas semanas de estimulação de baixa frequência acelera a reinervação motora e melhora a recuperação funcional. O mesmo foi comprovado por Geremia *et al.*, (2007) que utilizou a estimulação por uma hora durante 21 dias e obteve um aumento significativo na regeneração sensorial e motora. Alrashdan *et al.* (2010) tentou estabelecer que o uso da EE por menos de uma hora tem efeitos positivos sobre a recuperação nervosa, pois a nível molecular aumenta o fator neurotrófico e subsequente melhora a recuperação funcional. Em nosso estudo, a EE por 20 minutos sobre o músculo desnervado promoveu uma redução da atrofia, indicando que esse achado é promissor no tratamento de lesões nervosas periféricas, e é de extrema importância clínica, pois auxilia no trofismo muscular e possivelmente acelera a reinervação muscular.

Esta eficácia na redução da atrofia muscular proporciona ao paciente um ganho estético do membro desnervado e ainda reduz as úlceras de pressão Salmons *et al.* (2005).

CONCLUSÃO

A EE de baixa potência, através do protocolo usado, atuou favoravelmente na manutenção dos aspectos morfológicos dos músculos sóleo e EDL desnervados, minimizando a atrofia muscular.

REFERÊNCIAS

ADAMS, G. R. Satellite cell proliferation and skeletal muscle hypertrophy. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, Ottawa, v. 31, n. 6, p. 782-790, 2006.

AL-MAJED, A. A. et al. Brief electrical stimulation promotes the speed and accuracy of motor axonal regeneration. **The Journal of Neuroscience**, Washington, v. 20, n. 7, p. 2620-2628, 2000.

ALRASHDAN, M. S. et al. Thirty minutes of low intensity electrical stimulation promotes nerve regeneration after sciatic nerve crush injury in a rat model. **Acta Neurologica Belgica**, Milan, v. 110, n. 2, p. 168-179, 2010.

ARAKAWA, T. et al. Electrical stimulation prevents apoptosis in denervated skeletal muscle. **NeuroRehabilitation**, Amsterdam, v. 27, n. 2, p. 147-54, 2010.

ASHLEY, Z. et al. Effects of chronic electrical stimulation on long-term denervated muscles of the rabbit hind limb. **Journal of muscle research and cell motility**, Dordrecht, v. 28, n. 4-5, p. 203-217, 2007.

CAVALCANTE, E. V. V. et al. Efeito da eletroestimulação no músculo desnervado de animais: revisão sistemática. **Fisioterapia em Movimento**, Curitiba, v. 25, n. 3, p. 699-678, 2012.

DAHLIN, L. B.; BRANDT, J. Basic science of peripheral nerve repair: wallerian degeneration/growth cones. **Operative techniques orthopaedics**, Malmö, v. 14, n. 3, p. 138-145, 2004.

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.

DE KROON, J. R. et al. Relation between stimulation characteristics and clinical outcome in studies using electrical stimulation to improve motor control of the upper extremity in stroke. **Journal of rehabilitation medicine**, Enschede, v. 37, n. 2, p. 65-74, 2005.

DENNIS, R. G.; DOW, D. E.; FAULKNER, J. A. An implantable device for stimulation of denervated muscles in rats. **Medical Engineering & Physics**. Ann Arbor, v. 25, n. 3, p. 239-253. 2003.

DEUMENS, R.; BOZKURT, A.; MEEK, M. F.; MARCUS, M. A. E.; JOOSTEN, E. A. J.; WEIS, J.; BROOK, G. A. Repairing injured peripheral nerves: Bridging the gap. **Progress in Neurobiology**, Maastricht, v. 92, n. 3, p. 245-276, 2010.

DOUCET, B. M.; LAM, A.; GRIFFIN, L. Neuromuscular electrical stimulation for skeletal muscle function. **Yale Journal of biology and medicine**, New Haven, v. 85, n. 2, p. 201-215, 2012.

DOW, D. E. et al. Number of contractions to maintain mass and force of a denervated rat muscles. **Muscle & Nerve**, Ann Arbor, v. 30, n. 1, p. 77-86, 2004.

EBERSTEIN, A.; EBERSTEIN, S. Electrical stimulation of denervated muscle: is it worthwhile? **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Hagerstown, v. 28, n. 12, p. 1463-1469, 1996.

ELSOHEMY, A.; BUTHER, R.; BAIN, J. R.; FAHNESTOCK, M. Sensory protection of rat spindles following peripheral nerve injury and reinnervation. **Plastic and Reconstructive surgery**. Hamilton, v. 124, n. 6, p. 1860-1868, 2009.

FERNANDES, K. C. B. G. et al. Análise morfométrica dos tecidos muscular e conjuntivo após desnervação e estimulação elétrica de baixa frequência. **Revista Brasileira de fisioterapia**, São Carlos, v. 9, n. 2, p. 235-241, 2005.

ROSA JUNIOR, Gerardo Marco da et al. Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. **SALUSVITA**, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

ROSA JUNIOR, Gerando Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *SALUSVITA*, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 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.

FUJITA, N. *et al.* The combined effect of electrical stimulation and resistance isometric contraction on muscle atrophy in rat tibialis anterior muscle. **Bosnian journal of basic medical science**, Bosnia, v. 11, n. 2, p. 74-79, 2011.

GEREMIA, N. M. *et al.* Electrical stimulation promotes sensory neuron regeneration and growth-associated gene expression. **Experimental neurology**, Oxford, v. 205, n. 2, p. 347-359, 2007.

GIGO-BENATO, D. *et al.* Electrical stimulations impairs early functional recovery and accentuates skeletal muscle atrophy after sciatic nerve crush injury in rats. **Muscle Nerve**, São Carlos, v. 41, n. 5, p.685-693, 2010.

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.

HAMILTON, S. K. *et al.* Misdirection of regenerating axons and functional recovery following sciatic nerve injury in rats. **The Journal of comparative neurology**, Philadelphia, v. 519, n. 1, p. 21-33, 2011.

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.

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.

LEONI, A. S. L. et al. Estimulação elétrica de alta voltagem em nervo ciático de ratos: estudo pelo IFC. **Acta ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 93-97, 2012.

MANG, C.; LAGERQUIST, O.; COLLINS, D. Changes in corticospinal excitability evoked by common peroneal nerve stimulation depend on stimulation frequency. **Experimental Brain Research**, Alberta, v. 203, n. 1, p. 11-20, 2010.

MARQUESTE, T.; DECHERCHI, P.; DOUSSET, E.; BERTHELIN, F.; JAMMES, Y. Effect of muscle electrostimulation on afferent activities from tibialis anterior muscle after nerve repair by self-anastomosis. **Neurosciense**, Marseille, v. 113, n. 2, p. 257-271, 2002.

MEGENEY, L. A. et al. MyoD is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. **Genes & Development**, Hamilton, v. 10, n. 10, p. 1173-1183, 1996.

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

MODLIN, M. et al. Electrical stimulation of denervated muscles: first results of a clinical study. **Artificial Organs**, Cambridge, v. 29, n. 3, p. 203-206, 2005.

POLACOW, M. L. O. et al. Estudo morfométrico do músculo sóleo denervado de ratos tratados pela associação de metformina e estimulação elétrica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 7, p. 77-84, 2003.

ROBINSON, G. A.; MADISON, R. D. Influence of terminal nerve branch size on motor neuron regeneration accuracy. **Experimental Neurology**, Oxford, v. 215, n. 2, p. 228-235, 2009.

RODRIGUES A. C.; SCHMALBRUCH H. Satellite cells and myonuclei in long-term denervated rat muscles. **The Anatomical record**, Copenhagen, v. 243, n. 4, p. 430-437, 1995.

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. 151-156, 2005.

ROSBERG, H. E.; CARLSSON, K. S.; HOJGARD, S.; LINDGREN, B.; LUNDBORG, G.; DAHLIN, L. B. Injury to the human median

ROSA JUNIOR, Gerando Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. **SALUSVITA**, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

ROSA JUNIOR, Gerando Marco da *et al.* Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *SALUSVITA*, Bauru, v. 32, n. 3, p. 211-225, 2013.

and ulnar nerves in the forearm – analysis of costs for treatment and rehabilitation of 69 patients in southern Sweden. **The journal of hand surgery**, Malmö, v. 30, n. 1, p. 35-39, 2005.

RUSSO, T. L. *et al.* Electrical stimulation increases matrix metalloproteinase-2 gene expression but does not change its activity in denervated rat muscle. **Muscle Nerve**, São Carlos, v. 37, n. 5, p. 593-600, 2008.

SALMONS, S. *et al.* Functional electrical stimulation of denervated muscles: basic issues. **Artificial Organs**, Cleveland, v. 29, n. 3, p. 199-202, 2005.

SALVINI, T. F. *et al.* Effects of electrical stimulation and stretching on the adaptation of denervated skeletal muscle – implications for physical therapy. **Revista brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 16, n. 3, p. 175-183, 2012.

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

TOMORI, K. *et al.* Low-intensity electrical stimulation ameliorates disruption of transverse tubules and neuromuscular junctional architecture in denervated rat skeletal muscle fibers. **Journal of muscle research and cell motility**, London, v. 31, n. 3, p. 195-205, 2010.

WANG, W. J. *et al.* Electrical stimulation promotes motor nerve regeneration selectivity regardless of end-organ connection. **Journal of Neurotrauma**, Larchmont, v. 26, n. 4, p. 641-649, 2009.