

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

**HIDROTERAPIA E ELETROTERAPIA EM RATOS COM
DENERVAÇÃO DO NERVO ISQUIÁTICO**

Jamila Cristina Baptistella

Médica Veterinária

Araçatuba – SP

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

**HIDROTERAPIA E ELETROTERAPIA EM RATOS COM
DENERVAÇÃO DO NERVO ISQUIÁTICO**

Jamila Cristina Baptistella

Orientador: Prof. Adj. Mário Jefferson Quirino Louzada

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária – UNESP, Campus de Araçatuba-SP,
como parte das exigências para obtenção do
título de Mestre em Ciência Animal
(Fisiopatologia Médica e Cirúrgica de pequenos animais).

Araçatuba – SP

2013

Catálogo na Publicação(CIP)
Serviço de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Baptistella, Jamila Cristina

B222h

Hidroterapia e eletroterapia em ratos com denervação do nervo isquiático / Jamila Cristina Baptistella.

Araçatuba: [s.n], 2013

47f. il.; + CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Medicina Veterinária, 2013

Orientadora: Prof^a Adj. Mário Jefferson Quirino Louzada

1. Eletroterapia 2. Denervação 3. Hidroterapia 4. Músculo extensor digital longo 5. Músculo flexor digital superficial 6. Tíbia

CDD 615.8

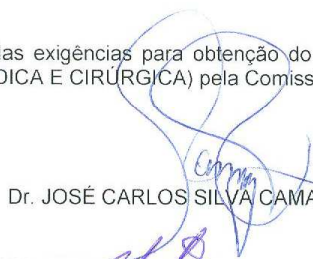
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Hidroterapia e eletroterapia em ratos com denervação do nervo isquiático.

AUTORA: JAMILA CRISTINA BAPTISTELLA

ORIENTADOR: Dr. MÁRIO JEFFERSON QUIRINO LOUZADA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL (FISIOPATOLOGIA MÉDICA E CIRÚRGICA) pela Comissão Examinadora.


Dr. JOSÉ CARLOS SILVA CAMARGO FILHO


Dr. ROBERTO CARVALHAL


Dr. MÁRIO JEFFERSON QUIRINO LOUZADA

DATA DA REALIZAÇÃO: 13 de fevereiro de 2013.


Presidente da Comissão Examinadora
Dr. MÁRIO JEFFERSON QUIRINO LOUZADA
- Orientador -

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JAMILA CRISTINA BAPTISTELLA – nascida em 21 de julho de 1985, na cidade de Guararapes/SP. Graduação em Medicina Veterinária, 2008, Universidade Camilo Castelo Branco, UNICASTELO, Fernandópolis/SP. Especialização em fisioterapia veterinária, 2013, Instituto Bioethicus, Botucatu/SP. Aluna do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal – nível Mestrado da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Araçatuba; Araçatuba/SP. Cursos em aprimoramento de fisioterapia e reabilitação animal, Instituto Brasileiro de Reabilitação Animal, IBRA, São Paulo/SP.

EPIGRAFE

**"A vida é um sopro. Por isso, não há motivo para tanto ódio.
Nossa passagem pela vida é rápida.
Cada um vem, conta sua história, vai embora e depois ela será apagada
para sempre. A vida continua." (Oscar Niemeyer)**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a DEUS, por sempre me dar forças, sabedoria e calma nos momentos em que pareciam sem solução. Aos meus pais, Fernando Marcos Baptistella e Vera Lúcia Dias Baptistella, por sempre estarem ao meu lado me apoiando nos momentos difíceis e por toda educação, me preparando para a vida. As minhas irmãs, Jaqueline Baptistella Minami e Juliana Baptistella, pelo incentivo, apoio e compreensão. Também ao meu sobrinho Diego Baptistella Minami, que sempre ao chegar em casa cansada do dia inteiro de trabalho me dando muitas alegrias ao ouvir me chamar de “titia” e com todas suas farras gostosas de brincar. Ao meu cunhado Carlos Fernando Minami, que sempre quando precisei estava disposto para me ajudar. E também aos meus cachorros, cowboy e miúcha, que sempre quando estava triste me confortavam com todo carinho e amor que tem por mim.

AGRADECIMENTOS

A UNESP, por proporcionar essa oportunidade em minha vida.

A todos os meus familiares, pais, irmãs, sobrinho, cunhado.

Aos meus cachorros, pelo amor e carinho.

Aos ratinhos, que sem eles nada disso poderia ter sido feito. Eles doam suas vidas para o nosso conhecimento.

Ao meu orientador, Mário Jefferson Quirino Louzada, por me proporcionar essa oportunidade, pelo apoio, conversas, brincadeiras, broncas, enfim, cada palavra dita, foi absorvida como ensinamentos para minha vida.

Ao Profº José Carlos Camargo Filho, da Universidade Estadual Paulista de Presidente Prudente por toda a sua sabedoria, dedicação e apoio nos momentos em que estive em seu laboratório. Também a todos os seus orientados pela amizade.

Ao professor Roberto Carvalhal, por toda sua ajuda, incentivo e apoio.

Aos funcionários da UNESP, em especial Pedro Luís Florindo, que além de funcionário da Universidade, se transformou em um grande amigo.

A Juliana de Carvalho Apolinário Coêlho, pela sua amizade e orações, se tornando uma amiga muito especial, sempre me ajudando nos momentos de dificuldade, não só dentro do laboratório, mas também em minha vida.

A todos os amigos que fiz durante esses dois anos e meio, Juliana de Carvalho Apolinário Coêlho, Bruna Biffe, Bruna Rezende, Kelly Cristina Vendrame, Cintia Monteiro, Profº Mário Jefferson, Profº Luís Eduardo, Profº Sérgio, Profº Fabiano, Profº Roberto carvalhal, Profº Roberto Gameiro, Profº Wagner, Alexandre, Ronaldo, Pedro Luís, Luís Gustavo, Priscila Preve, Vanessa Borges.

A minha amiga e sócia Patrícia Colavite da Silva, por compreender minha ausência e me apoiar nessa etapa tão importante de minha vida.

As minhas amigas Ariane da Silva, Taciane Rodrigues e Gislaine Dantas, por sempre me proporcionarem alegria.

Aos professores da Universidade, por todo o ensinamento.

As minhas amigas que mesmo distante sempre me ajudam com seu apoio e palavras de incentivo, Daniela Picolo, Daniela Motokashi, Luciana Teixeira.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	01
2.	REVISÃO DE LITERATURA	04
	2.1 Denervação	04
	2.2 Sistema musculoesquelética	04
	2.3 Fisiologia da contração muscular	05
	2.4 Tratamento fisioterápico	06
	2.4.1 Eletroterapia	06
	2.4.2 Hidroterapia	10
	2.5 Efeito da fisioterapia sobre o músculo denervado	12
	2.6 Mecanismos ósseos	12
	2.7 Fosfatase alcalina e cálcio	13
	HIPÓTESES E OBJETIVOS	15
3.	Material e Métodos	16
	Massa corpórea dos ratos	19
	Processamento dos músculos	19
	Parâmetros avaliados	21
	Fibras musculares	21
	Parâmetros ósseos	22
	Densitometria óssea	22
	Ensaio mecânico – flexão de três pontos	23
	Fosfatase alcalina e cálcio	24
	ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
4.	Resultados e Discussão	26
5.	Conclusão	37
	Referências	38

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

FIGURA 1 – Exposição do nervo isquiático para a realização dos pinçamentos	17
FIGURA 2 – Realização da hidroterapia feita individualmente com água aquecida e com quantidade suficiente para que os animais não tivessem contato com o fundo	17
FIGURA 3 – Aparelho physiotonus four, Bioset – Brasil. Equipamento utilizado na pesquisa	18
FIGURA 4 – Contensores para ratos EB 285M, Insight® - Brasil	19
FIGURA 5 – Aparelho Micron HM 505 E	20
FIGURA 6. – Vista interna do aparelho Micron HM 505 E	21
FIGURA 7 – Aparelho utilizado para a realização da densitometria óssea	23
FIGURA 8 – Realização do ensaio mecânico e flexão de três pontos	24
FIGURA 9 – Animal após a cirurgia com o posicionamento não anatômico do membro denervado	26
FIGURA 10 – GC - Corte histológico do músculo flexor digital superficial, onde se observa fibras musculares com formato alveolar, núcleos periféricos, e não nota-se a presença de tecido conjuntivo	27
FIGURA 11 – GD - Corte histológico do músculo flexor digital superficial, onde se observa diminuição no número de fibras musculares, presença de	

núcleos periféricos, grande quantidade de tecido conjuntivo e de infiltrado inflamatório 28

FIGURA 12 – Variação da massa do músculo extensor digital longo (A) e flexor digital superficial (B) dos grupos estudados – média e desvio padrão. Letras iguais diferença não estatística 28

FIGURA 13 – GE - Corte histológico do músculo flexor digital superficial, onde não se observa aumento no diâmetro das fibras musculares, porém nota-se aumento no número de fibras musculares 29

FIGURA 14 – Variação do número (quantidade) de fibras musculares dos músculo extensor digital longo (A) e flexor digital superficial (B) dos grupos estudados – média e desvio padrão 30

FIGURA 15 – GHE - Corte histológico do músculo extensor flexor digital superficial com a presença de aumento no número de fibras musculares, formação de novas fibras musculares, núcleos periféricos e com resquícios de tecido conjuntivo 31

FIGURA 16 – Variação do diâmetro das fibras musculares dos músculo extensor digital longo (A) e flexor digital superficial (B) dos grupos estudados – média e desvio padrão 31

FIGURA 17 – GH - Corte histológico do músculo extensor digital longo com grande aumento no diâmetro das fibras musculares, núcleos periféricos e grande quantidade de tecido conjuntivo e infiltrado inflamatório 32

TABELA 1 – Avaliação densitométrica dos animais em vida, antes e depois do procedimento experimental 33

FIGURA 18 - Conteúdo Mineral Ósseo (CMO) dos animais antes e depois do procedimento experimental 33

FIGURA 19 - Densidade Mineral Óssea (DMO) dos animais antes e depois do procedimento experimental 34

TABELA 2 – Massa corpórea dos animais antes do procedimento cirúrgico (mi) e após 20 dias de tratamento (mf) e os parâmetros ósseos das tíbias dos ratos dos grupos controle (GC), denervado (GD), hidroterapia (GH), hidroterapia e eletroterapia (GHE) e eletroterapia (GE) 35

FIGURA 20 – Concontração do plasma sanguíneo nos grupos estudados. Letras iguais diferença não estatística 36

HIDROTERAPIA E ELETROTERAPIA EM RATOS COM DENERVAÇÃO DO NERVO ISQUIÁTICO

RESUMO - Várias são as doenças causadoras de sintomas degenerativos devido a traumas de nervos periféricos que podem levar a atrofia muscular. Doenças parasitárias como a Tripanossomíase, doenças virais altamente contagiosas como a cinomose, além de traumatismos - como quedas, atropelamentos, entre outros - que causam distúrbios nos nervos por compressão, esmagamento ou até mesmo ruptura total acarretam em atrofia, afetando tanto fibras musculares lentas quanto rápidas, resultando na diminuição do diâmetro destas fibras e da força muscular. Quando ocorre lesão dos motoneurônios espinhais ou dos nervos motores, haverá perda rápida de massa muscular. As principais características das alterações no sistema musculoesquelético dizem respeito à diminuição da massa muscular e óssea, pois há grande associação entre essas forças e evidências significativas de que um ambiente destituído de estímulo mecânico produza efeitos diretos em suas estruturas e funções. As relações existentes entre atividade de modelamento do osso e ação bombeadora dos músculos pode ser calculada a partir de experimentos com denervação e desvascularização. Em contrapartida à atrofia muscular, a eletroterapia e hidroterapia são métodos fisioterápicos de eficiência comprovada. Este estudo tem como hipótese que a denervação causa atrofia muscular, e que a eletroterapia e a hidroterapia podem restaurar os danos causados por esta denervação. Assim, é objetivo deste estudo testar estas hipóteses pela histomorfometria dos músculos extensor digital longo e flexor digital superficial e biomecanicamente as tíbias correspondentes. Foram utilizados 40 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), dividido em: GC - controle; GD - submetido a denervação; GH - submetido a denervação e hidroterapia; GHE - submetido a denervação, hidroterapia seguida de eletroterapia e GE - submetido a denervação e eletroterapia. Foram realizadas 20 sessões de tratamento para cada grupo, sendo 5 sessões por semana. Os animais foram sacrificados e tiveram seus membros posteriores retirados e

dissecados para observar a massa, diâmetro e quantidade de fibras musculares, e também densidade, conteúdo mineral e parâmetros mecânicos de tíbia. Todos os dados passaram por análise estatística descritiva – média, desvio padrão e coeficiente de variância – ANOVA e teste de Tukey para comparação dois a dois, com nível de significância de 5%. Pode-se concluir diante da metodologia aplicada, que a denervação provocou diminuição nas propriedades musculares, causando atrofia muscular, mas não acarretou perdas nas propriedades ósseas e que o uso da eletroterapia foi capaz de reverter a quantidade das fibras.

Palavras-chave: denervação, eletroterapia, hidroterapia, músculo extensor digital longo, músculo flexor digital superficial, tíbia

HYDROTHERAPY AND ELECTROTHERAPY IN RATS WITH SCIATIC NERVE DENERVATION

ABSTRACT - There are several degenerative diseases causing symptoms due to nerve trauma peripherals that can lead to muscle atrophy. Parasitic diseases such as trypanosomiasis, highly contagious viral diseases such as distemper, and trauma - such as falls, motor vehicle collisions, among others - that cause nerve compression disorders, crushing or even cause total breakdown in atrophy, affecting both slow muscle fibers as rapid, resulting in decreased diameter of these fibers and muscle strength. When injury occurs spinal motoneurons or motor nerves will be rapid loss of muscle mass. The main features of the changes in the musculoskeletal system relate to decreased muscle and bone mass, as there are strong association between these forces and significant evidence that an environment devoid of mechanical stimulus produces direct effects on their structures and functions. The relationship between activity modeling of bone and muscle pumping action can be calculated from experiments with denervation and devascularization. In contrast to muscle atrophy, electrotherapy and hydrotherapy are proven methods of physiotherapy. This study is hypothesis that denervation causes muscle atrophy, and electrotherapy and hydrotherapy can restore the damage caused by this denervation. Thus, aim of this study is to test these hypotheses by histomorphometry of the long digital extensor muscles and superficial digital flexor tibia and biomechanically relevant. Were utilized of 40 Wistar rats (*Rattus norvegicus Albinus*), divided into: GC - control; GD - subjected to denervation; GH - subjected to denervation and hydrotherapy; GHE - subjected to denervation, electrotherapy and followed by hydrotherapy, GE - subjected to denervation and electrotherapy. 20 sessions were conducted for each treatment group and five sessions week. The animals were sacrificed and their hindlimbs were removed and dissected to observe the mass, diametro and amount of muscle fibers, and also density mineral content and mechanical parameters of the tibia. All data underwent descriptive statistical analysis - mean, standard

deviation and coefficient of variance - ANOVA and Tukey test for pairwise comparison, with a significance level of 5%. It can be concluded before the methodology, the denervation caused a decrease in muscle properties, causing muscular atrophy, but did not cause bone loss in properties and the use of electrotherapy was able to reverse the amount of the fibers.

Keywords: denervation, electrotherapy, hidrotherapy, long digital extensor muscle, superficial digital flexor muscle, tibia

1. Introdução

Várias são as doenças que podem levar a atrofia muscular onde o conhecimento deste se torna fundamental para um perfeito diagnóstico e tratamento, sendo muito comum traumas de nervos periféricos.

A história clínica do animal, a evolução da doença, dados epidemiológicos e exame clínico correto, e fatores etiológicos são dados importantes para a localização da lesão. Com a presença de sinais nervosos ou não, é possível diagnosticar enfermidades infecciosas que causam inflamação difusa do sistema nervoso, traumatismos que tem evolução rápida, disfunção nervosa por meio de aplicação medicamentosa, entre outras (RIET-CORREA et al., 2002).

O conhecimento das diferentes enfermidades que afetam o sistema nervoso é muito importante e podem ser detectadas por meio de quatro funções básicas: motora; proprioceptiva; sensitiva e, do sistema nervoso autônomo. A função motora é realizada por dois tipos de neurônios, manifestada clinicamente por paralisia, podendo ser total ou parcial. A paralisia parcial ou paresia, dependendo da localização da lesão, aparece como uma debilidade dos músculos dos membros levando a atrofia muscular, podendo ser flácida se ocorrer nos neurônios motores inferiores ou espástica caso ocorra nos neurônios motores superiores. A função proprioceptiva permite que o animal tenha a noção de espaço e de seus membros, transmite também informações de sensações dolorosas, podendo ser detectadas observando se o animal responde a pinçamentos com agulhas, por exemplo, transmitindo alguma sensação dolorosa, podendo ser observada pelas expressões faciais, pois se o animal tem paralisia ele perderá os estímulos motores, sensitivos e proprioceptivos (RIET-CORREA et al., 2002).

Doenças parasitárias como a Tripanossomíase, segundo Aquino et al. (1999); Dávila e Silva (2000); Herrera (2004); Levine (1973); Marques et al. (2000); Moraes et al. (2007); Silva et al. (1995); Tochetto et al. (2010) leva a

paralisia dos membros pélvicos, causando atrofia muscular por distúrbios neurológicos.

Doenças virais altamente contagiosas em cães como a cinomose também afetam o sistema nervoso causando atrofia muscular devido à paraplegia/tetraplegia e incoordenação de membros (BARBOSA; PASSOS, 2008; MANGIA; PAES; 2008; SILVA et al., 2007), além de traumatismos, como quedas, atropelamentos, entre outros que causam distúrbios em nervos pela compressão, esmagamento ou até mesmo ruptura total do mesmo, levando a perda da musculatura, ou seja, uma atrofia muscular.

A atrofia decorrente de qualquer enfermidade que acomete nervos, afeta tanto fibras musculares lentas quanto rápidas, resultando na diminuição do diâmetro da fibra muscular e da força muscular (LIEBER, 2002).

Nervos periféricos se conectam a medula espinhal com estruturas nas extremidades e tronco, tais como músculos e pele. Os principais componentes dos nervos periféricos, como o mediano e o isquiático, são as fibras nervosas (axônio). Fibras nervosas são simplesmente projeções longas, finas, dos corpos celulares do nervo que se encontram próximas da medula espinhal ou do encéfalo (ROBINSON, 2001).

Quando ocorre lesão dos motoneurônios espinhais ou dos nervos motores levando a atrofia muscular neurogênica, haverá perda rápida de massa muscular (PEDRO; OLIVEIRA, 2009), pois existem alguns tecidos no corpo que impedem a capacidade de formar novas células a partir de precursoras existentes durante a vida do animal, e o sistema nervoso é limitado neste aspecto, pois, depois que o desenvolvimento se completa, há pouca geração de novas células nervosas. Essa é a principal razão pela qual o sistema nervoso tem efeitos devastadores (BEHAN, 2006).

As principais características das alterações no sistema musculoesquelético dizem respeito à diminuição da massa muscular e óssea, pois há uma grande associação entre essas forças e evidências significativas de que um ambiente destituído de estímulo mecânico produza efeitos diretos na estrutura e funções ósseas, principalmente naqueles que servem de apoio

para o peso corporal como, por exemplo, o fêmur e a tíbia (APOLINÁRIO et al., 2011, RISO et al., 2010). As relações existentes entre atividade de modelamento do osso e ação bombeadora dos músculos sobre a circulação e a velocidade do fluxo sanguíneo através das extremidades pode ser calculada a partir de experimentos com denervação e desvascularização (GUERRINO et al., 1996).

Em contrapartida à atrofia muscular, a eletroterapia e hidroterapia são métodos fisioterápicos de eficiência comprovada. De acordo com Velho et al. (2006); a fisioterapia é uma alternativa médica que possui técnicas próprias não-invasivas indispensáveis para reabilitação de pacientes acometidos por diversos tipos de enfermidades.

A fisioterapia veterinária vem se tornando uma especialidade terapêutica próspera dentro da área da saúde, utilizando recursos que abrangem a visão biomédica dentro do processo saúde-doença-cura, tanto pelo número de profissionais habilitados na área e também pelos trabalhos e estudos que vem em andamento crescente (MIKAIL; PEDRO, 2005; TELES, 2010).

Para se iniciar o tratamento, uma série de passos se inter-relacionam para dar a possibilidades ao profissional de planejar o tratamento compatível as necessidades do paciente (O'SULLIVAN, 2004). A avaliação dos dados e a avaliação musculoesquelética contribui para estabelecer o melhor diagnóstico e prognóstico, objetivos do tratamento e planos de assistência (WHITE, 2004).

A hidroterapia é um tratamento fisioterápico efetivo para disfunções músculo esquelético como a atrofia muscular, mostrando influência severa em vários sistemas do corpo, proporcionando excelentes benefícios no sistema músculo esquelético, neurológico e cardiovascular principalmente (MEDEIROS et al., 2004).

Segundo Evangelista et al. (2003), para se restabelecer as funções normais de um músculo quando sua força apresenta diminuída se usa programas de fortalecimento muscular, como a eletroestimulação.

A eletroestimulação contínua é um tratamento fisioterápico efetivo para as disfunções músculo esquelético como a atrofia muscular, tendo como

objetivo em músculos denervados exercitá-los eletricamente para que estes se mantenham o mais saudável possível enquanto os axônios lesados se regenerem e voltem a inervá-los (PEDRO; OLIVEIRA, 2009; POLÔNIO et al., 2010).

2. Revisão de literatura

2.1 Denervação

O nervo isquiático está situado entre as vértebras lombar 6 e sacral 1, e vai para os membros pélvicos, tendo como função a inervação motora dos músculos flexores da perna e flexores e extensores dos pés e dos dedos. Quando o mesmo é lesionado ocorre perda da sensibilidade distal ao joelho e monoparesia grave, onde o animal pode suportar seu peso, porém não é possível que ele flexione o joelho, e também não flexione e nem estenda o tarso e os dígitos, acarretando em uma rápida atrofia do membro pélvico (FERNÁNDEZ; BERNARDINI, 2010).

A disfunção dos nervos periféricos decorre da lesão do neurônio, das células de Schwann ou da bainha de mielina, não podendo transmitir os impulsos nervosos normalmente. Existem muitos mecanismos de lesão dos nervos periféricos, e um deles é o esmagamento e a lesão por percussão, acarretando em trauma direto no músculo (ADAM'S; DUCHEN, 1992 apud ROSA FILHO, 2004; BERKOW et al., 1997 apud ROSA FILHO, 2004; BONNARD et al., 1999).

Em um músculo denervado pode ser observado alterações como o aumento de tecido adiposo e de tecido conjuntivo e, diminuição do trofismo (KERN et al.; 2002).

2.2 Sistema musculoesquelético

O sistema musculoesquelético inclui ossos, músculos com seus tendões e bainhas sinoviais, bolsas e estruturas articulares como cartilagens, meniscos, cápsulas e ligamentos. As lesões agudas ou condições crônicas que comprometem a estrutura e/ou as funções dos tecidos musculoesqueléticos podem afetar amplamente o desempenho físico de um paciente, por causar comprometimentos como dor, inflamação, deformidade estrutural, restrição dos movimentos articulares, instabilidade articular e fraqueza muscular. Alguns exemplos de diagnósticos que resultam nesse comprometimento são: fraturas, artrites, osteoartrites, luxação articular, tendinites, distensão ou ruptura muscular, distensão/ruptura ligamentar, além das doenças que afetam os nervos (WHITE, 2004).

Determinar a presença ou ausência de comprometimento muscular, ósseo, estruturas articulares e nervosas, permite determinar o estado basal do paciente, pois as doenças musculoesqueléticas e neuromusculares são as de prognóstico reservado, fazendo com que o paciente conviva com a perda progressiva de suas funções (PARREIRA, 2007; WHITE, 2004).

2.3 Fisiologia da contração muscular

O músculo esquelético é envolto por uma camada de tecido conjuntivo, onde nas extremidades musculares este tecido se torna mais intenso formando então os tendões que se ligam aos ossos. Os músculos são formados pela união de várias fibras ou feixes musculares que são envoltos por um retículo sarcoplasmático onde se encontra o íon cálcio, e também por túbulos T. A união de várias miofibrilas dá origem as fibras musculares. A miofibrila consiste em muitos sarcômeros, e cada sarcômero possui moléculas de actina, que são os filamentos finos, e moléculas de miosina, que são os filamentos grossos, possui também linhas Z, banda A e bandas I. Envoltos as moléculas de actina possui um filamento chamado, filamento troponina – tropomiosina (COSTANZO, 2008; CURI; PROCOPIO, 2009; FERREIRA, 2005).

Para que ocorra a contração, é necessário um estímulo externo, pois os músculos estão ligados aos nervos formando a junção neuromuscular. Quando o estímulo ocorre, ele percorre por todo o nervo chegando à junção. Neste momento ocorre a ativação das mitocôndrias e das enzimas pré-sinápticas presentes no interior das ramificações nervosas. As mitocôndrias fazem a produção da acetilcolina que depois se desloca para as enzimas pré-sinápticas, fazendo que a enzima se movimente até a extremidade nervosa se eclodindo para o espaço sináptico. A acetilcolina realiza a abertura dos canais de sódio e potássio para a passagem do estímulo para o músculo e o seu excesso é então quebrado pelos receptores de acetilcolina, fazendo sua quebra (acetilcolinesterase) e transferindo-o novamente para a mitocôndria para a formação de nova acetilcolina. No momento em que o estímulo passa através dos canais, se dissipa pelo músculo todo pelos túbulos T e faz a ativação do íon cálcio, essencial para a contração muscular. Os íons se deslocam e se ligam ao complexo troponina – tropomiosina fazendo o seu deslocamento possibilitando, a ligação da cabeça da miosina com o filamento de actina (COSTANZO, 2008; CURI; PROCOPIO, 2009; FERREIRA, 2005).

Após a ligação, o ATP que estava ligado à cabeça de miosina se hidrolisa em ADP e fosfato inorgânico e então ocorre o deslocamento do músculo, ou seja, ele se contrai. Para uma nova contração, uma nova molécula de ATP se liga a cabeça de miosina fazendo com que se ligue novamente ao filamento de actina repetindo todo o ciclo. No músculo relaxado o complexo troponina – tropomiosina interpõe-se entre as duas moléculas, impedindo a interação entre a actina e a miosina (COSTANZO, 2008; CURI; PROCOPIO, 2009; FERREIRA, 2005).

2.4 Tratamento fisioterápico

2.4.1 Eletroterapia

O primeiro relato da utilização da eletroterapia como forma de tratamento foi descrito utilizando o contato com um peixe elétrico, onde se acreditava que poderia aliviar os sintomas causados por artrite ou enxaqueca. No século XVII, a corrente elétrica passou a ser pesquisada com finalidade analgésica, o que só veio a ser explicado posteriormente pela teoria das comportas de Melzack e Wall, de 1965 (AGNE, 2011; MIKAIL; PEDRO, 2005; RIGONATTI, 2004).

O termo eletroterapia é oriundo do tratamento com corrente elétrica (AGNE, 2011). A corrente elétrica é constituída pelo movimento de átomos livres através da matéria quando os corpos possuem uma diferença de potencial, ou seja, tensão elétrica e seu movimento transfere energia de um corpo para outro (AIUB e FILONI, 2006; BISSCHOP et al., 2001; HAAR, 2003; ROBINSON e SNYDER-MACKLER, 1995). Pode também ser definida como a quantidade de cargas elétricas que passa por um condutor num determinado intervalo de tempo em segundos. Portanto, a tensão é a força que faz surgir uma corrente elétrica e quanto maior for essa força, maior será o movimento de cargas pelo condutor (AIUB e FILONI, 2006).

A estimulação elétrica neuromuscular por meio do sistema nervoso periférico tem como objetivo produzir contração muscular para restaurar, manter ou melhorar a capacidade funcional do mesmo (FRAGA et al., 2007)

O conceito FES (Funcional electrical stimulation), foi descrito por Vodonick em 1971 como: “estimulação elétrica do músculo desprovido de controle nervoso com objetivo de provocar contração muscular e produzir um movimento funcional útil.”

Os nervos e os músculos são tecidos excitáveis e, portanto, possuem permeabilidade da membrana da célula sensível à voltagem. Sendo assim, uma vez estimulada eletricamente, a membrana do neurônio pode atingir o seu limiar de despolarização e produzir um impulso nervoso que se propagará até atingir a placa motora promovendo a contração muscular (CAMERON, 2003; NELSON et al., 2003; ROBINSON; SNYDER-MACKLER, 2001).

O mecanismo de ação consiste na estimulação dos processos biológicos causados pela corrente elétrica. Esta, por sua vez, age despolarizando as células nervosas (ou musculares), e iniciando um potencial de ação. A frequência é de 1.000 a 2.000 Hz para músculos inervados e de 10 a 40 Hz para músculos denervados (HENEINE, 1987).

Pacientes acometidos por lesão de nervos, a estimulação elétrica é bastante indicada, pois ela é capaz de produzir efeito fisiológico específico (FRAGA et al., 2007).

Quando se aplica correntes continua, a contração muscular ou a formação do pulso nervoso somente ocorre no fechamento ou na abertura se a intensidade da corrente atinge um determinado limiar próprio de cada tecido. Isso ocorre devido ao fato de que no fechamento e na abertura do circuito, há uma variação de intensidade de corrente relativamente brusca. A movimentação dos elétrons variando suas velocidades de v_0 a v_r , velocidade constante do regime da corrente estabelecida, representa uma variação de intensidade de corrente (CARNEIRO LEÃO, 1982).

A estimulação elétrica funcional (FES) é uma técnica que produz contração muscular, realizando a despolarização do nervo motor e produzindo uma resposta sincrônica em todas as unidades motoras do músculo promovendo eficiente contração. Não é possível obter um movimento funcional de um membro paralisado por um simples pulso elétrico; faz-se necessária uma série de estímulos, com certa duração, seguida por uma frequência apropriada de repetição, realizando o ajuste da intensidade para que não ocorra o fenômeno denominado acomodação, que ocorre após certo tempo de aplicação da corrente elétrica, ou seja, o mesmo estímulo passa a não despolarizar mais essas fibras, sendo necessário aumentar a intensidade do estímulo para que isso ocorra (AGNE, 2011; DOUCET; GRIFFIN, 2009; DURFEE, 1999; MIKAIL; PEDRO, 2005; MOUNT; DACKO, 2006).

Segundo Doucet e Griffin (2009) e Durfee (1999), quando o objetivo do tratamento é o fortalecimento muscular, a contração estimulada contínua do músculo esquelético leva à fadiga muscular muito rápida, resultando na queda

da força gerada, sendo necessário manter uma taxa de repetição de pulso, por meio dos controles *time on* (com estímulo) e *time off* (sem estímulo) e os diferentes tipos de fibras musculares também respondem as diferentes frequências. Por exemplo, músculos brancos tendem a responder a frequências mais altas (60 a 80 Hz) e músculos vermelhos, a frequências mais baixas (20 a 30 Hz) (MIKAIL; PEDRO, 2005).

Para que o fortalecimento muscular se realize é necessário que ocorra recrutamento das fibras musculares, podendo ser por estímulos voluntários ou estímulos elétricos, produzindo a excitação do sarcolema que inerva o músculo (AGNE, 2011).

Nas proximidades de cada fibra muscular, o ramo do motoneurônio que a inerva, encapsula progressivamente, perdendo sua bainha de mielina, constituindo a placa terminal motora. Assim, as diferentes fibras musculares estão inervadas por diferentes motoneurônios. As fibras do tipo I são inervadas por pequenos motoneurônios que apresentam uma baixa velocidade de condução, pequena amplitude de impulso e uma frequência de descarga baixa. As fibras do tipo II estão inervadas por grandes motoneurônios, com elevada velocidade de condução, grandes amplitudes de impulsos e frequência de descarga elevada. Numa contração voluntária pouca intensa, são recrutadas primeiramente as fibras do tipo I, lentas e resistentes a fadiga. Conforme a contração muscular se torna mais intensa ou mais rápida, são recrutadas primeiramente as fibras do tipo II, rápidas e menos resistentes, que obtém sua energia a partir da glicose anaeróbica, ao contrário das fibras do tipo I, que tem seu aporte energético do metabolismo oxidativo mitocondrial. Para se obter a contração muscular eletroestimulada de um músculo é necessário que se produza a despolarização de uma ou mais unidades motoras. O músculo inervado responde com uma contração ao estímulo elétrico que chega a sua placa motora através do nervo correspondente. Esta resposta segue a lei do “tudo ou nada”, quer dizer, quando a intensidade e a duração do estímulo forem adequadas se produz o efeito contrátil. A repetição do estímulo precisa de um

tempo de recuperação da fibra muscular, de forma que seja compatível com seu estado fisiológico (AGNE, 2011).

Eletrodos são materiais condutores utilizados na eletroterapia. Existem vários tipos (de silicone, auto-adesivos e metálicos), porém os de maior uso na fisioterapia veterinária são os de silicone devido ao seu custo e praticidade, seu tamanho varia com o tamanho de área a ser tratada e seu posicionamento depende do tipo de corrente elétrica e do objetivo de tratamento. A pele produz resistência à passagem da corrente elétrica, que pode ser diminuída através da tricotomia e a limpeza (20 a 30 Hz) (MIKAIL; PEDRO, 2005).

As principais indicações da eletroterapia são analgesia, fortalecimento muscular, redução de edemas, relaxamento de espasmos musculares, acelerar cicatrização de fraturas, melhorar a mobilidade articular, aumentar a circulação e agir como bactericida (FRAGA et al., 2007; MIKAIL; PEDRO, 2005).

2.4.2 Hidroterapia

A utilização da água como forma de terapia é bastante antiga, e vem até hoje mostrando resultados positivos. Hipócrates utilizou a água a diferentes temperaturas para o tratamento de algumas enfermidades, passando a ser utilizada como tratamento somente no início do século XX para a reabilitação de disfunções musculoesqueléticas (DEGANI, 1998).

A reabilitação aquática é um termo do final do século XX, que descreve procedimentos clínicos que fazem uso da imersão em água para a restauração da mobilidade física e da atividade fisiológica, tendo como principal diferença dos exercícios em solo, o impacto mecânico (DE VIERVILLE, 2000; MIKAIL; PEDRO, 2005).

Para a utilização adequada da hidroterapia, o profissional deve ter conhecimento de suas propriedades e características que incluem massa, peso, densidade, gravidade específica, fluatibilidade, pressão hidrostática, superfície de tensão, refração e viscosidade (BECKER, 2000; CAMPION, 2000).

Pacientes com desordens neurológicas e musculoesqueléticas possuem lesões complexas, as quais podem evoluir para desordens em marchas. A reabilitação aquática oferece abordagem única para o tratamento dessas lesões e das deficiências que elas criam (MORRIS, 2000).

Segundo Paeslack (1978), a natação pode proporcionar um trabalho muscular sem a ação da gravidade, oferecendo a possibilidade de um exercício contínuo, diminuindo a espasticidade. Tal propriedade ocorre devido ao fato de na água haver maior facilidade de produzir uma estimulação sensitiva de temperatura, tato e pressão. (BATES e HANSON, 1996), além de que a natação tem mostrado benefícios no desenvolvimento de movimentos que promovem um novo controle postural (CAMPION, 1990; CAMPION, 2000). A natação pode proporcionar algumas vantagens como o alívio do peso corporal, favorecendo o treino de marcha em indivíduos com dificuldade de locomoção; o reforço muscular em função da maior densidade da água e o relaxamento muscular e a ativação da circulação sanguínea, em decorrência do efeito turbulência (SKINNER e THOMSON, 1985).

A hidroterapia pode proporcionar benefícios ao sistema musculoesquelético, nervoso e cardiovascular para paraplégicos e tetraplégicos devido a suas propriedades únicas como empuxo, viscosidade, capacidade de condução térmica, densidade relativa, pressão hidrostática, diminuição da ação da gravidade (alívio de peso) e turbulência, promovendo a prevenção de deformidades e atrofias, auxiliando na propriocepção e na noção espacial, melhorando a flexibilidade e o trabalho de coordenação, reeducando os músculos paralisados levando-os ao fortalecimento mais precoce e mais eficaz, equilíbrio estático e dinâmico, motivação (BIASOLI; MACHADO, 2013; MORRIS, 2000; PARREIRA, 2007; PESTANA et al. 2011), além de diminuir a dor, causar relaxamento muscular, aumentar a frequência respiratória, diminuir a pressão sanguínea, aumentar o suprimento de sangue para os músculos, aumentar o metabolismo muscular, aumentar a circulação periférica, aumentar a frequência cardíaca, melhorar o retorno venoso e aumentar a taxa metabólica e aumentar o filtrado glomerular (MARQUES, 2004; PARREIRA, 2007),

permitindo a exploração dos movimentos, o fortalecimento e o treinamento de atividades funcionais, frequentemente antes mesmo do paciente estar apto a realizar as ações em terra (MORRIS, 2000).

2.5 Efeito da fisioterapia sobre o músculo denervado

No caso de fortalecer os músculos, a corrente elétrica pode ser utilizada para a prevenção de atrofia muscular, quando há uma lesão no neurônio motor periférico, visando à manutenção do tônus muscular até que o nervo se recupere (MIKAIL; PEDRO, 2005).

As forças físicas da água quando agem sobre o organismo, podem provocar alterações fisiológicas extensas, afetando assim quase todos os sistemas do organismo. Seus efeitos fisiológicos se somam aos desencadeados pela prática de exercício físico na água, tornando a resposta mais complexa (CAROMANO; NOWOTNY, 2002).

O sucesso depende do grau de lesão muscular e do tempo que se leva para iniciar o tratamento. **Quanto mais cedo melhor.** Para a prevenção de atrofia muscular quando os músculos se encontram impedidos de trabalhar, como no caso de pacientes que sofreram cirurgias e não devem movimentar a área, quanto mais cedo for realizado o tratamento, melhores serão os resultados (MIKAIL; PEDRO, 2005).

2.6 Mecanismos ósseos

As principais células ósseas são os osteoblastos, os osteoclastos e os osteócitos (LIRANI, 2004).

O osso devido ao fato de ser um tecido altamente vascularizado tem alto poder de metabolização e ativação no corpo, conforme forças mecânicas agem, ele passa a desenvolver sua estrutura (ARALDI; ARMILIATO, 2005), portanto, é necessário o estímulo mecânico para que ocorra uma estimulação

óssea local proporcionando seu devido crescimento e remodelamento (GUYTON, 2006).

O modelamento e remodelamento ósseo podem ser estimulados por microlesões, estímulos mecânicos, estímulos combinados ou por mecanismos desconhecidos e para que sejam realizados perfeitamente são necessários exercícios físicos constantes e boa nutrição (dieta apropriada de cálcio), além dos fatores genéticos (CARVALHO, et al. 2002).

Os ossos são os grandes reservatórios de cálcio, contendo 99% do seu total. É essencial para o organismo agindo em coração, nervos e músculos. Quando o cálcio se mantém em equilíbrio, os ossos não são afetados porque não há a necessidade de retirar o cálcio dos ossos para suprir o restante do corpo (CARVALHO, et al. 2002).

2.7 Fosfatase alcalina e cálcio

As principais são as fosfatase alcalina óssea, que é mais sensível a algumas pequenas variações podendo se encontrar aumentada nos distúrbios em que predomina a reabsorção óssea e não sofre influências hepáticas (SOARES, 2009).

A fosfatase alcalina óssea se localiza na membrana plasmática do osteoblasto, no momento em que a matriz óssea se encontra ativa, grandes quantidades da mesma podem ser secretadas, podendo se difundir pelo sangue tornando-se um bom indicador da taxa de formação óssea (GUYTON; HALL, 2006).

As concentrações de cálcio no sangue dependem do balanço entre a reabsorção óssea, absorção intestinal e a reabsorção tubular renal por um lado e, por outro, da perda óssea e das excreções pelos rins e intestino. A absorção de cálcio diminui com o envelhecimento (CURI; PROCOPIO, 2009).

Por ter muitas funções fisiológicas o cálcio nada mais é que uma importante molécula sintetizadora; é parte do cemento intracelular que mantém as células unidas nas junções oclusivas; é um co-fator na cascata de

coagulação; e a concentração plasmática de cálcio afeta a excitabilidade dos neurônios (SILVERTHORN, 2010).

O cálcio e o fósforo são elementos essenciais para a manutenção do organismo, sendo os ossos seu principal reservatório. Em um animal adulto a reabsorção e formação do tecido ósseo encontram em equilíbrio, ou seja, a partir das forças aplicadas sobre o mesmo, ele se remodela para atender as suas necessidades, além de serem necessários para o endurecimento e fortalecimento ósseo. Para que as células nervosas realizem suas funções o cálcio é de extrema importância para que ocorram suas reações e uma dentro outras funções do fósforo é agir na contração muscular (CARVALHO et al., 2002; GARTNER; HIATT, 2003; TORTORA; GRABOWSKI, 2002).

Hipótese e Objetivos

Este estudo tem como hipótese que a denervação causa atrofia muscular, e que a eletroterapia e a hidroterapia podem restaurar os danos causados por esta denervação.

Assim, é objetivo deste estudo testar estas hipóteses pela histomorfometria dos músculos extensor digital longo e flexor digital superficial, análises biomecânicas e densitométricas das tíbias correspondentes e análise bioquímica.

3. Material e Métodos

O experimento está de acordo com os princípios éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEa) em 17/11/2010, de acordo com o protocolo 2010-008755, Faculdade de Odontologia/UNESP/Araçatuba-SP.

Foram estudados 40 ratos Wistar, com 3 meses de idade, machos. Os animais foram mantidos em ambiente climatizado, fotoperiódicos de 12 h claro/escuro e alimentados com ração e água a vontade.

Os animais foram divididos de forma aleatória em 5 grupos (n=8) sendo 4 animais por caixa: GC - controle; GD - submetido a denervação sem tratamento fisioterápico; GH - submetido a denervação e hidroterapia; GHE - submetido a denervação, hidroterapia seguido de eletroterapia e GE - submetido a denervação e eletroterapia.

O GC permaneceu em gaiola durante todo o tempo experimental correspondente aos outros grupos. Os grupos GD, GH, GE e GHE foram anestesiados com Ketamina (30 mg/Kg) e Xilazina (3mg/Kg) para o procedimento cirúrgico. Foi realizada incisão de aproximadamente 1,5 cm sobre a pele e feita a separação dos músculos bíceps femoral e semitendinoso para a visualização do nervo isquiático (Fig. 1), que foi então submetido aos 4 pinçamentos consecutivos (intervalo de 20 segundos cada) com pinça mosquito¹ realizando a compressão e esmagamento do mesmo, após o procedimento foi realizada sutura apenas em pele. Após 24hs teve início a fisioterapia para os grupos GH, GE e GHE. A sessão para os tratamentos foi de 20 minutos para cada animal.

¹ Pinça Mosquito - Erwin Guth® - Brasil

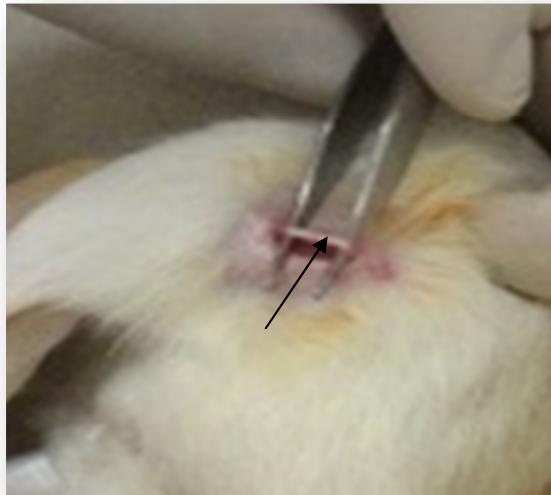


FIGURA 1 - Nervo isquiático (indicado pela seta) sendo exposto para a realização dos pinçamentos.

Para a hidroterapia (Fig. 2) foi utilizado tanque pequeno, com quantidade de água suficiente para que os ratos nadassem sem nenhum contato com o fundo. A água estava aquecida a 36°C.



FIGURA 2 - GH. Realização da hidroterapia feita individualmente em tanques com água aquecida e com quantidade suficiente para que os animais não tivessem contato com o fundo.

Os animais foram imobilizados com contensores EB 285M² (Fig. 4), para que não ocorressem acidentes durante as sessões. Para a eletroterapia, o aparelho utilizado foi o physiotonus four³ (Fig. 3), com eletrodos de 1 cm², corrente FES na frequência de 10Hz, fase de 300µs e intensidade de 10mA no total (FERNANDES et al. 2005), sendo que foi iniciado com baixa intensidade aumentando a cada 2 minutos 2mA. Os eletrodos foram colocados na porção cranial e caudal de cada músculo, fixados com gel e esparadrapo para que permanecessem no local durante todo o período da sessão.



FIGURA 3 - Aparelho physiotonus four, Bioset® - Brasil, utilizado nas sessões de eletroterapia.

² Contensores EB 285M - Contensor para Rato de 0 - 500 gramas Insight® - Brasil

³ Physiotonus four - Bioset® - Brasil

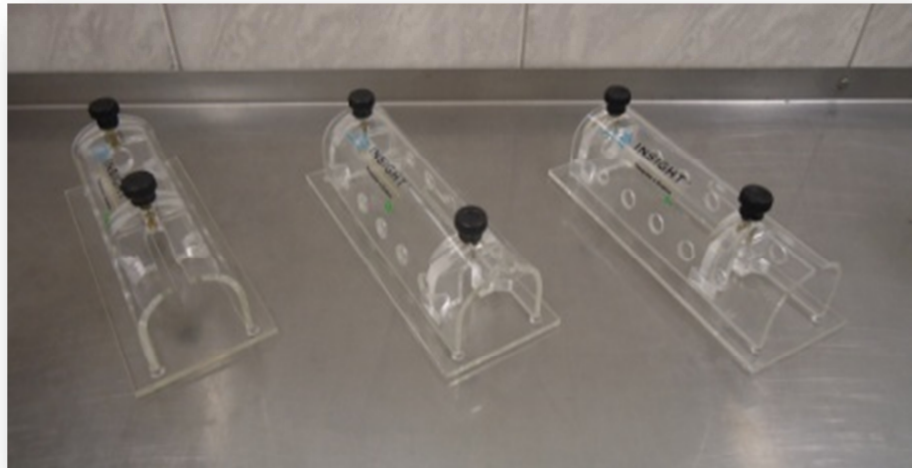


FIGURA 4 - Contensores EB 285M - Contensor para Rato de 0 - 500 gramas Insight® - Brasil. Utilizados para conter os animais no momento da sessão de eletroterapia.

Foram realizadas 20 sessões de tratamento (hidroterapia e/ou eletroterapia) para cada grupo, sendo 5 sessões por semana. Vinte e quatro horas após a última sessão os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e tiveram seus membros pélvicos dissecados.

Massa Corpórea dos ratos

A massa corpórea foi avaliada no início do experimento (mi) e no momento da eutanásia (mf) com balança digital de precisão⁴.

Processamento dos músculos

Após a eutanásia dos animais, foram retirados os músculos extensor digital longo e flexor digital superficial, pesados e então passados em talco para a retirada de excesso de líquido. Após, foi cortado somente o ventre muscular e colocados em nitrogênio líquido por 5 minutos para seu perfeito congelamento.

⁴ Balança digital de precisão - Balança digital de precisão - Balança Toledo® - Brasil

Depois de congelados foram armazenados em tubos criogênicos que também se encontravam em nitrogênio líquido para que quando entrassem em contato estivessem na mesma temperatura e não ocorresse choque térmico, e armazenado em freezer -80°C. Foram encaminhados para a Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – Faculdade de Ciências e Tecnologia⁵, para o seu processamento, seu transporte foi feito em caixas de isopor contendo nitrogênio líquido. Chegando a faculdade, foram novamente armazenados em freezer a -80°C. O aparelho utilizado para a realização dos “cortes” foi o Micron HM 505 E⁶, com espessura de 6mm (Fig. 5), com temperatura entre -20 a -18°C (Fig. 6).

Os músculos foram retirados do freezer a -80°C e colocados no interior do micrótomo, onde permaneceram durante o processamento e após os mesmos foram novamente colocados no freezer. Após os músculos atingirem a temperatura do micrótomo, eles foram colados com cola especial – Tissue-Tek 4583⁷, em “stubs” e em seguida acoplados ao micrótomo para os “cortes”.



FIGURA 5 - Aparelho Micron HM 505 E Cryostat Microtome Freezing da eBay® - EUA. Utilizado para o processamento dos músculos.

⁵ Faculdade de ciências e tecnologia - Presidente Prudente, Laboratório de Histologia

⁶ Micron HM 505 E - Cryostat Microtome Freezing da eBay® - EUA

⁷ Tissue Tek - Gold Lab® - Brasil

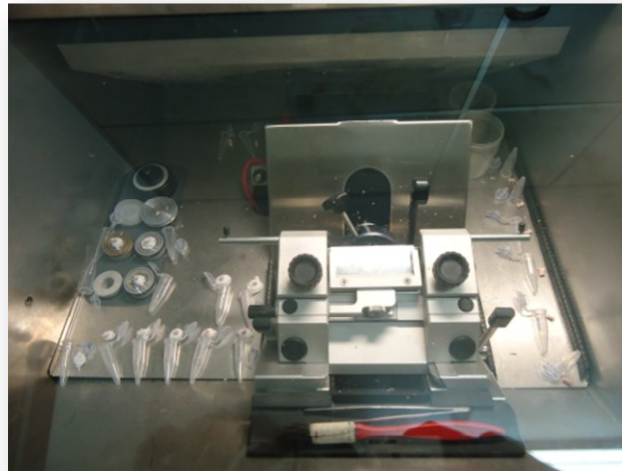


FIGURA 6 - Vista interna do aparelho Micron HM 505 E Cryostat Microtome Freezing da eBay® - EUA. Temperatura de -20°C a -18°C .

Parâmetros avaliados

Fibras Musculares

Foi feita análise histomorfométrica da região média dos músculos extensor digital longo e flexor digital superficial, onde foram observados diâmetro e quantidade de fibras musculares.

O procedimento para corar os “cortes” foi iniciado com o formol-cálcio por 2 minutos para fixá-los e depois foram lavadas por 5 minutos em água corrente. Após a fixação, as lâminas foram colocadas nos suportes para lâminas, onde então foram hidratadas com água por mais 10 minutos. Depois de serem hidratadas, foi acrescentada hematoxilina por 6 minutos exatos e depois desse tempo as lâminas foram lavadas novamente por mais 5 minutos. Foram diferenciadas com ácido clorídrico a 1% e em etanol a 70% fazendo um mergulho rápido e lavadas com água corrente por 5 minutos. Após a lavagem foi acrescentado eosina por 30 segundos e novamente lavadas 3 vezes com água corrente. Foi acrescentado álcool 95° por mais 2 minutos, em seguida

álcool absoluto I por 5 minutos, álcool absoluto II por 5 minutos e álcool absoluto III por mais 5 minutos. Após esses procedimentos, foram diafanizadas (retirar as impurezas) na capela por 30 minutos no xilol – álcool. Foi acrescentado xilol I por 5 minutos, xilol II por mais 5 minutos e também xilol montagem por mais 2 – 3 minutos e então montadas com permount.

Após todo o procedimento de coloração, os mesmos foram mantidos em descanso para depois serem observadas ao microscópio

Para a avaliação de contagem e diâmetro das fibras musculares, foi utilizado o programa NIS-Elements D3.0⁸, acoplado ao microscópio óptico hikoh SP7⁹, com aumento de 40x, onde os “cortes” foram fotografados. Foram utilizadas seis lâminas por animal, onde foram escolhidos três campos de cada lâmina e feita a contagem e medição do diâmetro, totalizando dezoito campos. Após esse procedimento foi realizada uma média para cada animal.

Parâmetros Ósseos

Antes do início e após os 20 dias tratamento, os animais foram anestesiados e levados ao densitômetro para avaliação da densidade mineral óssea – DMO de suas tíbias.

Após a eutanásia, os membros pélvicos foram dissecados e as tíbias desarticuladas, removidas e limpas dos tecidos moles circundantes para análises densitométrica e biomecânica. A densidade mineral óssea foi realizada por densitômetro ósseo padrão; a resistência óssea foi determinada por ensaio mecânico destrutivo.

Densitometria óssea

Os animais em vida e os ossos (tíbias) foram submetidos à análise da densidade mineral óssea – DMO (g/cm^2), área (cm^2) e conteúdo mineral ósseo

⁸ NIS Elements D3.0 - Nikon® - EUA

⁹ Nikon SP7 - Prolab® - Brasil

– CMO (g) medidos em toda a tíbia com o densitômetro¹⁰ com software especial para pequenos animais (Fig. 7).



FIGURA 7 - Aparelho de densitometria óssea

ENSAIO MECÂNICO - FLEXÃO EM TRÊS PONTOS

Para os ensaios mecânicos foi utilizada a máquina universal de ensaio¹¹ (Fig. 8), utilizada somente nos ossos desarticulados e limpos.

A carga foi aplicada a uma velocidade de 5 mm/min e registrada automaticamente pelo sistema computacional pertencente ao equipamento. Todos os ensaios foram realizados em condições semelhantes.

Na análise biomecânica foi avaliada a resistência óssea, analisando a força máxima admitida pelo tecido ósseo e sua rigidez. A distância do vão de apoio foi de 20 mm, a célula de carga utilizada foi de 2000N. Para a rigidez, os resultados obtidos no ensaio mecânico, foram registrados em sistema computacional pertencente ao próprio equipamento que fornece os valores de Força x Deformação. Para o cálculo da rigidez determina-se a parte da curva

¹⁰ Densitômetro - DPX-Alpha Lunar® - Brasil (pertencente ao Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal – FOA/UNESP)

¹¹ Ensaio mecânico - EMIC® - Brasil, do Departamento de Materiais Dentários da FOA /UNESP-Araçatuba

de Força Máxima (N) x Deformação (mm) relativa à fase elástica do corpo (parte reta da curva). Esses dados foram registrados em planilhas de Excel e determinado a equação linear (1º grau, $y = a.x+b$) que melhor ajustava aos pontos.



FIGURA 8 - Ensaio Mecânico de Flexão de Três

Fosfatase Alcalina e Cálcio

As análises do plasma sanguíneo para fosfatase alcalina e cálcio foram realizadas no laboratório clínico da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista, campus de Araçatuba para todos os grupos. No momento da eutanásia com os animais anestesiados, e feita a coleta de 3mL “a céu fechado” por punção intracardíaca de cada animal, em seguida, as amostras foram transferidas para tubos com heparina (anticoagulante) e então centrifugadas por quinze minutos a 4°C a 3.000 rpm para obtenção do plasma. O cálculo da análise do Cálcio e da fosfatase alcalina foi realizada com método Cinético Otimizado – IFC em analisador automático, utilizando kit comercial Katal, na proporção de 0,1 mL de substrato para 0,9 mL de tampão.

Análise Estatística

Foi realizada análise estatística descritiva – média, desvio padrão e coeficiente de variância. Todos os dados passaram por análise de variância – ANOVA e teste de Tukey para comparação dois a dois, com nível de significância de 5%.

4. Resultados e Discussão

No momento seguinte à cirurgia para denervação em que os animais se recuperaram da anestesia, foi nítida a eficiência do processo, pois os animais perderam seus movimentos na porção distal dos membros pélvicos (tíbia e dígitos), fazendo seu movimento devido à articulação coxofemoral que não foi acometida. Os animais arrastavam o membro ao solo e os dígitos durante a locomoção. Notou-se perda da tensão e a propriocepção digitais e flacidez dos músculos dos membros denervados, observou-se perda na sensibilidade superficial e profunda após a cirurgia, no entanto não perderam o apoio ao solo (Fig. 9).



FIGURA 9 – Na foto se observa animal após a cirurgia com o posicionamento não anatômico do membro denervado.

Segundo Evangelista et al. (2003), nos grupos que foram realizados eletroestimulação em (humanos), os pacientes não relataram dores musculares. Desta maneira, e observando os animais que receberam eletroterapia, pode-se dizer que os ratos não passaram por dores, pois não apresentaram alterações de comportamento, não se tornando agressivos e não apresentando ruídos ou gemidos.

Este trabalho está de acordo com o de Fernandes et al. (2005), Durigan et al. (2006), e Pedro e Oliveira (2009), que observaram atrofia muscular maior no grupo denervado com perda rápida de massa muscular (Fig. 10 e Fig 11). Na figura 10 observa-se a lâmina de um animal do grupo controle, apresentando fibras musculares com formato alveolar, núcleos periféricos e não se nota a presença de tecido conjuntivo e infiltrado inflamatório. Já na figura 11, observa-se a lâmina de um animal do grupo denervado que não passou por tratamento, apresentando diminuição no número de fibras musculares, presença de núcleos periféricos e a presença de tecido conjuntivo e infiltrado inflamatório.

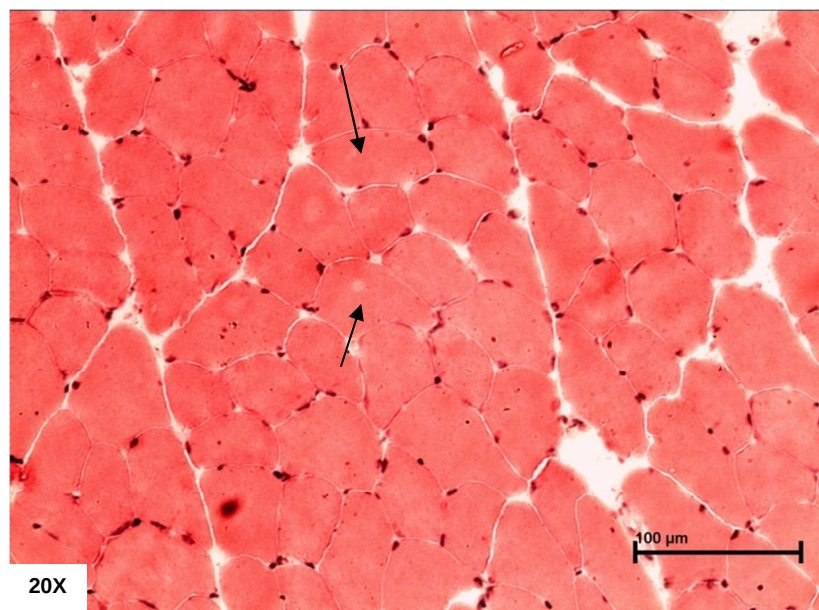


FIGURA 10 - GC. Corte histológico do músculo flexor digital superficial, onde se observa fibras musculares com formato alveolar (indicado pelas setas), núcleos periféricos, e não nota-se a presença de tecido conjuntivo.

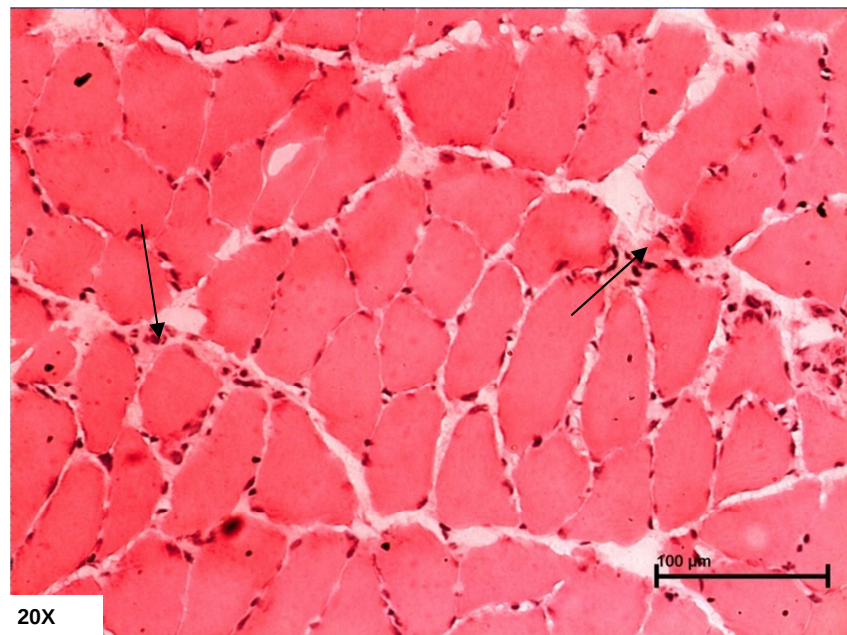


FIGURA 11 - GD. Corte histológico do músculo flexor digital superficial, onde se observa diminuição no número de fibras musculares, presença de núcleos periféricos, grande quantidade de tecido conjuntivo e de infiltrado inflamatório (indicado pelas setas).

No presente trabalho, a eletroestimulação não aumentou a massa muscular (Fig. 12) e o diâmetro das fibras musculares (Fig.16), no entanto, houve aumento no número de fibras musculares (Fig. 14) para valores semelhantes aos do grupo controle, sem a presença de tecido conjuntivo e infiltrado inflamatório, tanto no GHE como no GE.

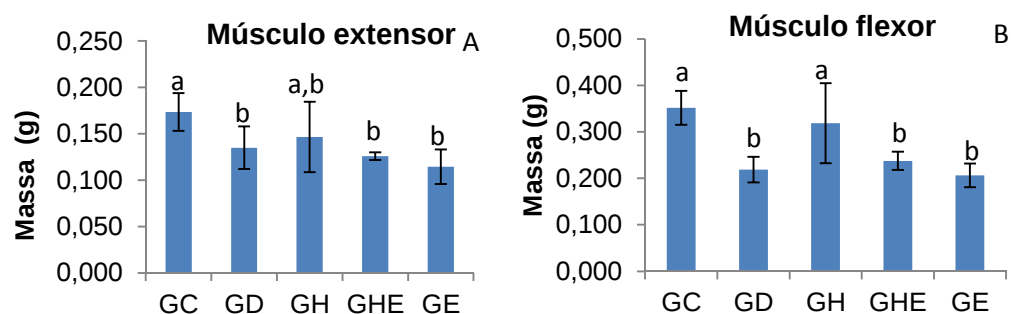


FIGURA 12. Massa do músculo extensor digital longo (A) e flexor digital superficial (B) dos grupos estudados – média e desvio padrão. Letra igual - diferença não significativa ($p > 0,05$).

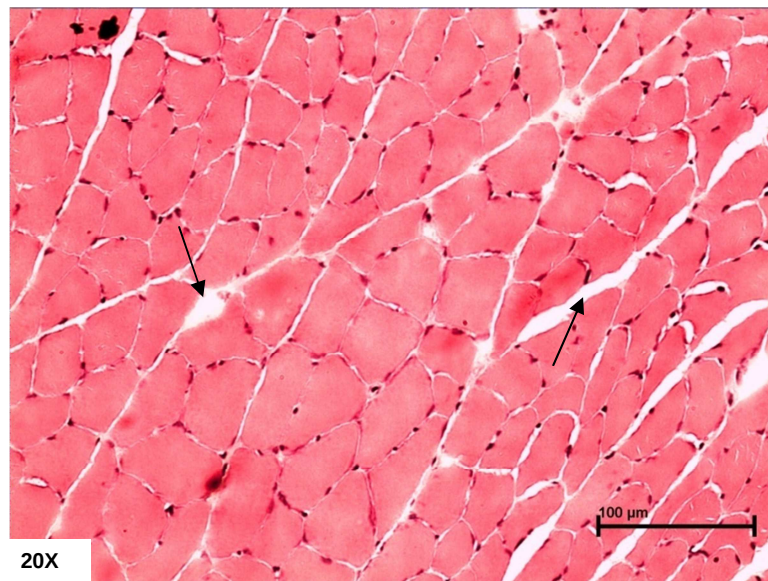


FIGURA 13 - GE. Corte histológico do músculo flexor digital superficial, onde não se observa aumento no diâmetro das fibras musculares, porém nota-se aumento no número de fibras musculares, sem a presença de tecido conjuntivo e infiltrado inflamatório (indicado pelas setas).

O aumento do número de fibras musculares (Fig. 13) sugere que o grupo tratado somente com eletroterapia (GE) e o grupo tratado com dois métodos fisioterápicos - hidroterapia seguido de eletroterapia (GHE) (Fig. 15) foram capaz de gerar estímulo de contração suficiente para tratamento da atrofia em 20 dias (tempo de tratamento utilizado nesta pesquisa), no entanto não foi encontrado aumento na massa muscular, diferindo do trabalho realizado por Rodrigues et al. (2010) que observaram um aumento da massa no músculo sóleo após sete dias consecutivos de eletroestimulação, esta divergência pode ser justificada, pois foi utilizada uma frequência de 50 Hz, enquanto que no presente estudo foi utilizada frequência de 10 Hz (Fig.12).

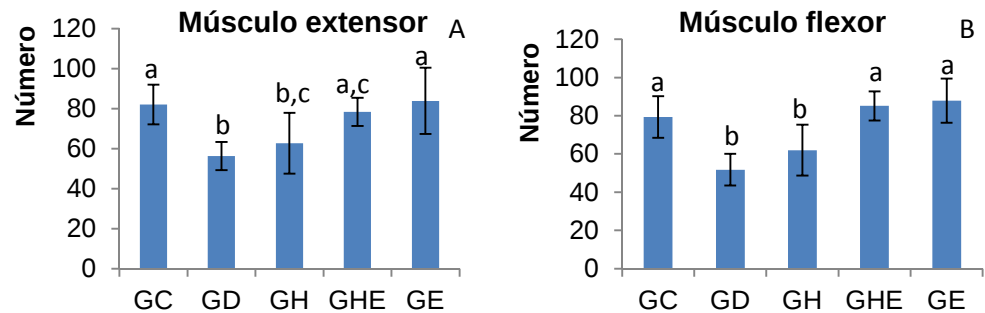


FIGURA 14 – Número (quantidade) de fibras musculares do músculo extensor digital longo (A) e flexor digital superficial (B) dos grupos estudados - média e desvio padrão. Letra igual - diferença não estatística ($p > 0,05$).

O aumento do número de fibras musculares para valores semelhantes aos do grupo controle, tanto no GHE como no GE, enfatiza uma melhora do quadro, pois a eletroestimulação tem, em curto prazo, capacidade em reduzir nível de degradação protéica muscular e estimular produção de fatores de crescimento, como as células satélites, que são capazes de se diferenciar e se fundir permitindo assim o aumento do número de fibras e formar novas fibras, ou seja, estão envolvidas no crescimento muscular normal, assim como na regeneração após lesão ou doença (Fig. 14 e Fig. 15) (ROBINSON, 2001; SEALE; RUDNICKI, 2000).

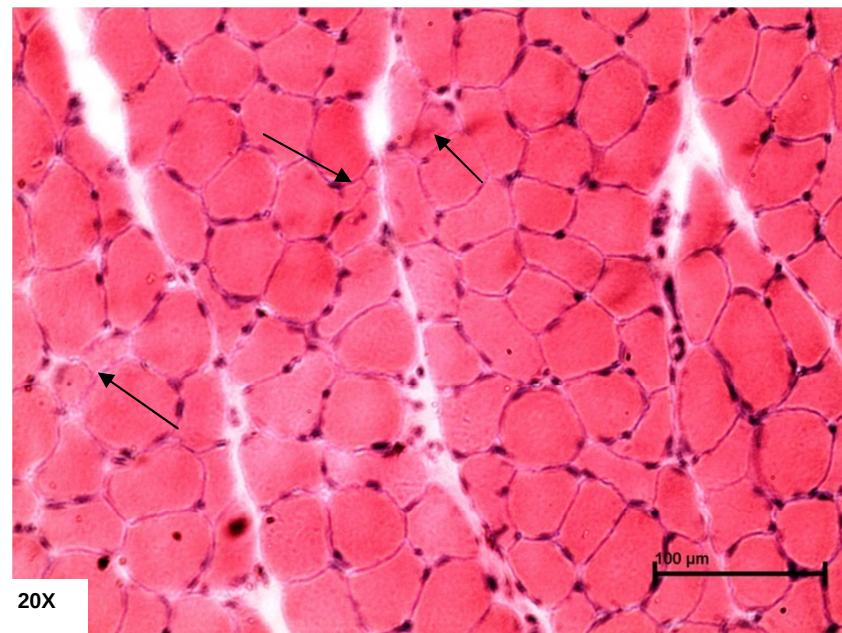


FIGURA 15 - GHE. Corte histológico do músculo extensor flexor digital superficial com a presença de aumento no número de fibras musculares, formação de novas fibras musculares (indicado pelas setas), núcleos periféricos e com resquícios de tecido conjuntivo.

A hidroterapia elevou a quantidade de massa muscular para nível do grupo controle (Fig. 12), mas não foi suficiente para reverter a perda de diâmetro causada pela denervação (Fig. 16) e não foi eficaz no aumento do número (quantidade) de fibras musculares (Fig. 14).

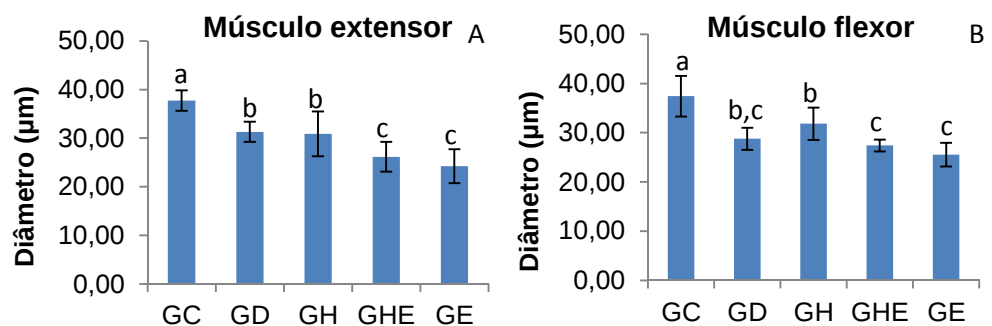


FIGURA 16 – Diâmetro das fibras musculares dos músculos extensor digital longo (A) e flexor digital superficial (B) dos grupos estudados - média e desvio padrão. Letra igual - diferença não significativa ($p > 0,05$).

Isto sugere que o aumento da massa muscular pode ser devido ao aumento na quantidade de tecido conjuntivo, justificado por trabalho de Salmons et al. (2005), onde afirmam que a pesagem da massa é uma técnica simples, porém, reflete indiretamente o trofismo das fibras, visto que também é influenciada por outros fatores como a proliferação do tecido conjuntivo (Fig. 17).

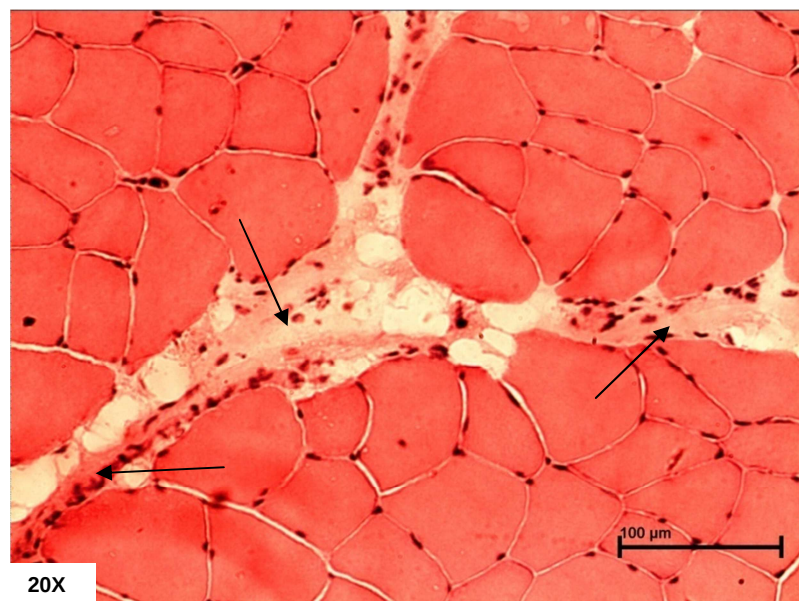


FIGURA 17 - GH. Corte histológico do músculo extensor digital longo com grande aumento no diâmetro das fibras musculares, núcleos periféricos e grande quantidade de tecido conjuntivo e processo inflamatório (indicado pelas setas).

Porém, quando se observa as lâminas do grupo tratado com a associação dos dois métodos fisioterápicos (GHE), se obtém aumento na quantidade de fibras musculares, novas fibras em formação e um aumento considerável de núcleos periféricos, mostrando que a associação dos métodos se torna bem eficientes (Fig. 15).

Com relação à análise densitométrica dos animais em vida, os resultados de CMO, Área e DMO, antes e depois do procedimento experimental, estão apresentados na tabela 1 e nas figuras 18 e 19.

Tabela 1 - Avaliação densitométrica dos animais em vida, antes e depois do procedimento experimental (p = nível de significância).

Parâmetros	Grupos	Antes	Depois	P
CMO (g)	GC	0,218 ± 0,015	0,240 ± 0,017	0,0019
	GD	0,229 ± 0,041	0,233 ± 0,030	ns
	GH	0,215 ± 0,027	0,234 ± 0,024	0,0415
	GHE	0,218 ± 0,011	0,222 ± 0,017	ns
	GE	0,220 ± 0,014	0,211 ± 0,024	ns
Área (cm ²)	GC	1,178 ± 0,052	1,150 ± 0,104	ns
	GD	1,175 ± 0,112	1,212 ± 0,097	ns
	GH	1,174 ± 0,152	1,196 ± 0,069	ns
	GHE	1,214 ± 0,080	1,220 ± 0,087	ns
	GE	1,199 ± 0,054	1,164 ± 0,109	ns
DMO (g/cm ²)	GC	0,185 ± 0,013	0,210 ± 0,019	0,0040
	GD	0,194 ± 0,023	0,192 ± 0,015	ns
	GH	0,184 ± 0,014	0,195 ± 0,014	ns
	GHE	0,180 ± 0,005	0,183 ± 0,009	ns
	GE	0,184 ± 0,009	0,182 ± 0,009	ns

Obs.: Na comparação entre os grupos, somente foi observada diferença significativa no parâmetro DMO, depois do tratamento experimental, entre os grupos GC vs GHE (p<0,01) e GC vs GE (p<0,01).

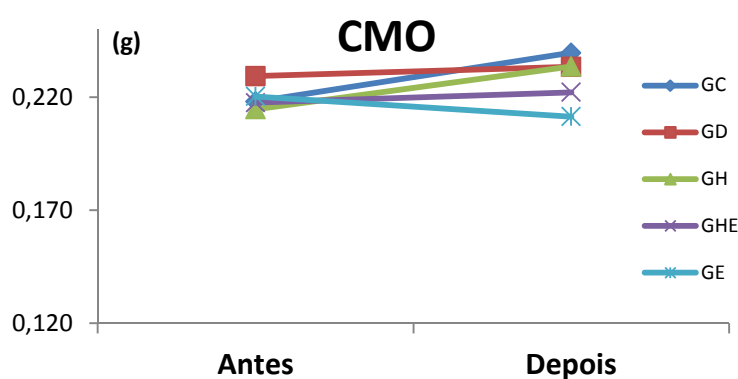


FIGURA 18 - Conteúdo Mineral Ósseo (CMO) dos animais antes e depois do procedimento experimental.

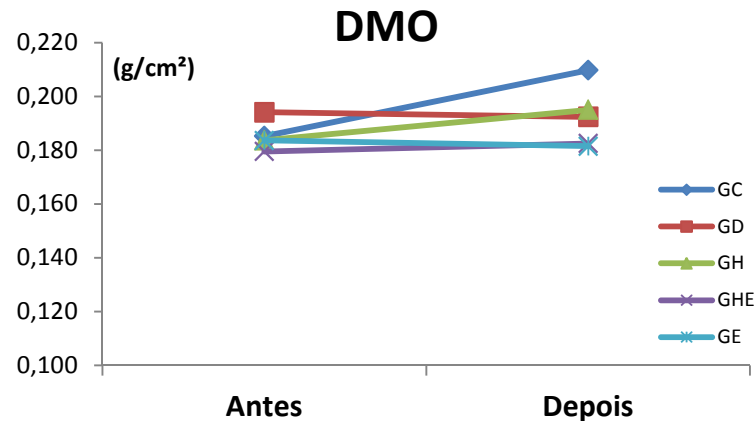


FIGURA 19 - Densidade Mineral Óssea (DMO) dos animais antes e depois do procedimento experimental.

Estes dados demonstram que a hidroterapia foi eficiente na recuperação do CMO, se assemelhando ao GC, onde ao final dos 20 dias de tratamento apresentou um aumento real deste parâmetro. Entretanto, com relação à DMO, os grupos mantiveram valores estatisticamente iguais aos antes do tratamento, apesar do grupo hidroterapia se diferenciar dos demais como mostra a curva ascendente na figura 19.

Ao analisar a massa corpórea dos animais antes do procedimento cirúrgico (mi) e após os 20 dias de tratamento (mf), constata-se que os animais mantiveram seu peso mesmo após a denervação. Isso pode demonstrar que os animais não foram submetidos a nenhum tipo de desconforto ou impossibilidade de se alimentar (Tab. 2).

Com relação aos parâmetros ósseos avaliados nesta pesquisa, observou-se que apesar da área – A e do CMO apresentarem diferenças significativas nos grupos HE e E, estas diferenças não afetaram a DMO (que é uma relação da CMO pela Área) nem a Fmáx e rigidez entre os grupos, demonstrando que o período experimental não foi suficiente para alterar estas variáveis ($p > 0,05$) ou então isto se deve ao fato de que os animais mantiveram seu membro ao solo, preservando a descarga de peso sobre. A análise plasmática (fosfatase alcalina e cálcio) também não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos (Tab. 2).

Tabela 2 – Massa corpórea dos animais antes do procedimento cirúrgico (mi) e após 20 dias de tratamento (mf) e os parâmetros ósseos das tíbias dos ratos dos grupos controle (GC), denervado (GD), hidroterapia (GH), hidroterapia e eletroterapia (GHE) e eletroterapia (GE).

Parâmetros avaliados	GC	GD	GH	GHE	GE
mi (kg)	0,373 ± 0,03	0,376 ± 0,04	0,377 ± 0,04	0,385 ± 0,020	0,378 ± 0,021
mf (kg)	0,414 ± 0,034	0,395 ± 0,053	0,402 ± 0,045	0,395 ± 0,024	0,380 ± 0,03
A (cm ²)	1,387 ± 0,11 ^a	1,450 ± 0,01 ^a	1,375 ± 0,113 ^a	1,229 ± 0,09 ^b	1,153 ± 0,07 ^b
CMO (g)	0,276 ± 0,03 ^a	0,270 ± 0,04 ^{a,b}	0,242 ± 0,044 ^{a,b,c}	0,226 ± 0,02 ^{b,c}	0,217 ± 0,008 ^c
DMO (g/cm ²)	0,199 ± 0,01	0,186 ± 0,021	0,176 ± 0,03	0,184 ± 0,011	0,189 ± 0,016
Fmáx (N)	421,15 ± 51,25	369,91 ± 52,93	346,13 ± 66,64	345,66 ± 86,05	361,96 ± 58,67
Rigidez (x10 ³ N/m)	1621,8 ± 742,36	1559,7 ± 266,91	1455,1 ± 487,37	1582,0 ± 419,67	1795,5 ± 326,29
Cálcio (mg/dL)	8,95 ± 1,04	8,27 ± 0,39	8,73 ± 0,6	8,88 ± 2,34	10,07 ± 0,99
Fosfatase alcalina (U/L)	296,87 ± 64,43	260,75 ± 83,18	341,37 ± 87,56	325,33 ± 90,76	359,87 ± 65,76

Porém ao analisar o fósforo encontra-se uma queda em seus valores (Fig. 20), podendo ter ocorrido talvez pelo fato de os animais não possuírem movimentos voluntários, sendo realizados por aparelhos estimuladores nervosos. O fósforo esta em segundo lugar como elemento essencial para a saúde do organismo, estando em primeiro lugar o cálcio; uma de suas funções é atuar na contração muscular somente quando essa contração for voluntária, ou seja, o corpo faz, o organismo responde, porém neste trabalho pôde-se notar que o grupo GH (o animal realiza seus movimentos – voluntários), os resultados se assemelham ao controle. Já o GHE e GE (exercícios realizados por aparelhos - movimentos involuntários) podem ser observados a queda do fósforo. O GD se assemelha ao GC, talvez pelo fato de que ao estarem denervados, eles não eram capazes de enviar ao cérebro informações onde indica que seus músculos não se contraíam, assemelhando-se ao GH, onde estava denervado, porém sendo tratado, realizando assim a ativação ou regeneração nervosa por movimentos voluntários, enquanto que o GHE e GE, além de estarem denervados, estavam sendo tratados com movimentos involuntários, então como não havia a resposta do organismo em realizar a contração, não possuía um armazenamento de fósforo pelos ossos, ocorrendo então sua queda.

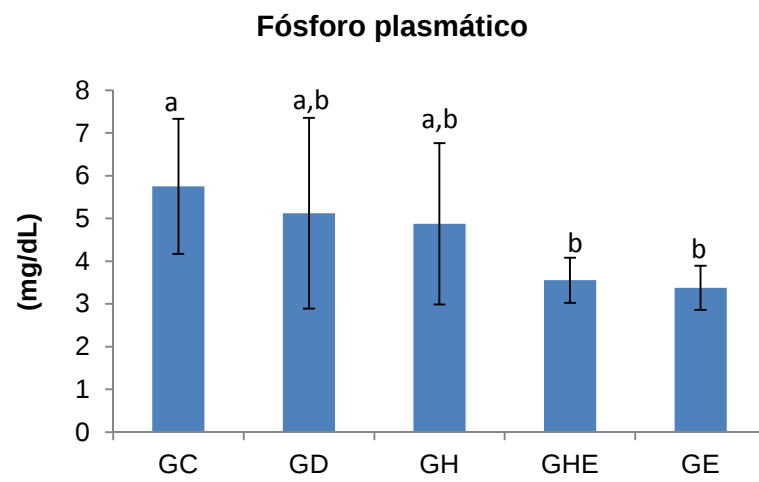


FIGURA 20 – Concentração do plasma sanguíneo nos grupos estudados. Letra igual - diferença não estatística ($p>0,05$).

5. Conclusões

Pode-se concluir, diante da metodologia aplicada, que a denervação provocou diminuição nas propriedades musculares - quantidade e diâmetro de fibras e massa - causando atrofia muscular e que o uso da eletroterapia e também da associação dos dois métodos – eletro e hidroterapia – foram capazes de reverter este quadro. Já, o tratamento com hidroterapia não alterou o quadro causado pelo processo de denervação.

Referências

AGNE, J. E. **Eu sei eletroterapia**. 3. Ed. Santa Maria: Pallotti, 2001. 368 p.

AIUB, J.E.; FILONI, E. **Eletrônica: Eletrecidade – corrente elétrica continua**. 14.ed. Tatuapé: Érica LTDA, 2006. p. 16 – 19.

APOLINÁRIO, J.C.; COELHO, W.M.D.; LOUZADA, M.J.Q. Análise da influência do ultrassom de baixa intensidade na região de reparo ósseo em ratos sob a ausência de carga. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 18, n. 3, p. 275 – 279, 2011.

ARALDI, C.T.; ARMILIATO, N. **Embriologia e histologia**. Concórdia: Universidade do contestado, 2005. 103f.

AQUINO, L.P.C.T.; MACHADO, R.Z.; ALESSI, A.C.; MARQUES, L.C.; CASTRO, M.B.; MALHEIROS, E.B. Clinical, parasitological and immunological aspects of experimental infection with *Trypanosoma evansi* in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 2, p. 255 – 260, 1999.

BARBOSA, J.M.; PASSOS, R.F.B. Análise dos casos de cinomose no H.V. São Francisco de Assis da Faculdade Latino Americana – Anápolis-GO. **Ensaio e Ciência**, v. 7, n. 1, p. 139 – 150, 2008.

BATES. A.; HANSON, N. **Aquatic exercise therapy**. Philadelphia: WB Saunders Company, 1996.

BECKER, B.E. Princípios físicos da água. In: REUOTI, R.G.; MORRIS, D.M.; COLE, A.J. **Reabilitação aquática**. 1. Ed. Barueri: Manole, 2000. p. 17 – 27.

BEHAN, M. Dukes Organização do sistema nervoso. In: Dukes – **Fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 705 - 715, 2006.

BIASOLI, M.C.; MACHADO, C.M.C. Hidroterapia: aplicabilidades clínicas. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 63, n. 5, p. 225 – 237, 2013.

BISSCHOP, G.; BISSCHOP, E.; COMMANDRÉ, F. **Eletrofisioterapia**. 1.ed. São Paulo: Santos, 2001. p. 05.

BONNARD, C.; ANASTAKIS, D. J.; VAN MELLE, G.; NARAKAS, A. O. Isolated and combined lesions of the axillary nerve: a review of 146 cases. **The Journal of Bone & Joint Surgery (Br)**, v. 81, n. 2, p.. 212 – 217, 1999.

CAMERON, M.H. **Physical agents in rehabilitation – from research to practice**. 2. ed. Missouri: saunders, 2003.

CAMPION, M.R. **Adult hydrotherapy: a practical approach**. Oxford: Heinemann Medical Books, 1990.

CAMPION, M.R. **Hidroterapia: princípios e prática**. 1. ed. Barueri: Manole, 2000. p. 14 – 22.

CARNEIRO LEÃO, M. A. **Princípios de biofísica**. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro – RJ, 1982.

CAROMANO, F.A.; NOWOTNY, J.P. Princípios físicos que fundamentam a hidroterapia. **Fisioterapia Brasil**, v. 3, n. 6, p. 394 – 402, 2002.

CARVALHO, D.C.L.; ROSIM, G.C.; GAMA, L.O.R.; TAVARES, M.R.; TRIBIOLI, R.A.; SANTOS, I.R.; CLIQUET JR, A. Tratamentos não farmacológicos na estimulação da osteogênese. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 5, p. 647 – 654, 2002.

COSTANZO, L.S. **Fisiologia**. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro – RJ, p. 32 – 58, 2008.

DÁVILA, A.M.R.; SILVA, R.A.M.S. Animal trypanosomiasis en South America: current status, partinership, and information technology. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 916, p. 199 – 212, 2000.

DEGANI, A.M. Hidroterapia: os efeitos físicos, fisiológicos e terapêuticos da água. **Fisioterapia em Movimento**, v. 11, n. 1, p. 91 – 106, 1998.

DE VIERVILLE, J.P. Reabilitação aquática: uma perspectiva histórica. In: BECKER, B.E.; COLE, A.J. **Terapia aquática moderna**. 1. ed. Barueri: Manole, 2000. p. 01 – 16.

DOUCET, B.M.; GRIFFIN, L. Variable stimulation patterns for poststroke hemiplegia. **Muscle and Nerve**, v. 39, n. 1, p. 54 – 62, 2009.

DURFEE, W.K. Electrical stimulation for restoration of function. **NeuroRehabilitation**, v. 12, n. 1, p. 53 – 62, 1999.

DURIGAN, J.L.Q.; CANCELLIERO, K.M.; DIAS, C.N.K.; SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J.; POLACOW, M.L.O. Estudo morfométrico do músculo sóleo de ratos submetidos a imobilização aguda associada à estimulação elétrica neuromuscular. **Fisioterapia em Movimento**, v. 19, n. 2, p. 117 – 126, 2006.

EVANGELISTA, A.R.; GRAVINA, G.A.; BORGES, F.S.; VILARDI JUNIOR, N.P. Adaptação da característica fisiológica da fibra muscular por meio da eletroestimulação. **Fisioterapia Brasil**, v. 4, n. 5, p. 326 – 334, 2003.

FERNANDES, K.C.B.G.; POLACOW, M.L.O.; GUIRRO, R.R.J.; CAMPOS, G.E.R.; SOMAZZ, M.C.; PINTO, V.F.; FUENTES, C.B.; TEODORI, R.M. Análise morfométrica dos tecidos muscular e conjuntivo após desnervação e estimulação elétrica de baixa frequência. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 9, n. 2, p. 235 – 241, 2005.

FERNÁNDEZ, V.L.; BERNARDINI, M. **Neurologia em cães e gatos**. Editora MedVet Ltda. São Paulo – SP, p. 222 – 223, 2010.

FERREIRA, A.T. Fisiologia da contração muscular. **Revista Neurociências**, v. 13, n. 3, p. 60 – 62, 2005.

FRAGA, C.E.M.; CYRILLO, L.T.; SILVA COELHO, L.M.B.; PEREIRA, N.D.; OSHIRO, M.S. O uso da estimulação elétrica neuromuscular em pacientes com lesão nervosa central. In: PARREIRA, S.L.S. **Fisioterapia – Aspectos clínicos e prática da reabilitação**. 1. ed. São Paulo: Artes médicas LTDA, 2007. p. 643 – 654.

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. **Tratado de histologia em cores**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 456p.

GUERRINO, M.R.; GONÇALVES, M.; LEIVAS, T.P. Efeito do treinamento físico sobre a resistência óssea. **Motriz**, v. 2, n. 1, p. 32 - 36, 1996.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 1115p.

HAAR, G.T. Principios eletrofísicos e térmicos. In: KITCHEN, S. **Eletroterapia – prática baseada em evidências**. 11. ed. Barueri: Manole, 2003. p. 03.

HENEINE, I. F. **Biofísica básica**. Atheneu: Rio de Janeiro – RJ, p. 47, 1987.

HERRERA, H.M.; DAVILA, A.M.; NOREK, A.; ABREU, U.G.; SOUZA, S.S.; D'ANDREA, P.S.; JANSEN, A.M. Enzootiology of trypanosoma evansi in Pantanal, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. 314, p. 263 – 275, 2004.

KERN, H.; HOFER, C.; MÖDLIN, M.; FORSTNER, C.; RASCHKA-HÖGLER, D.; MAYR, W.; STÖHR, H. Denervated muscles in humans: limitations and problems of currently used functional electrical stimulation training protocols. **Artificial Organs**, v. 26, n. 3, p. 216 – 218, 2002.

LEVINE, N.D. Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man. Burgess Publishing Company, **Biodiversity Heritage Library**, 1973. 431p.

LIEBER, R.L. **Skeletal muscle structure, function, and plasticity: the physiological basis of rehabilitation**. 2. ed. San Diego: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. 304p.

LIRANI, A.P.R. **Estudo comparativo dos efeitos do ultra-som e do laser de baixa intensidade no reparo ósseo de tíbia de rato**. 2004. 94f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

MANGIA, S.H.; PAES, C.A. Neuropatologia da cinomose. **Veterinária e Zootecnia**, v. 15, n. 3, p. 416 – 427, 2008.

MARQUES, K.S. **A interação dos profissionais de educação física e fisioterapia na reabilitação cardiovascular.** 2004. 61f. Monografia (Licenciatura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MARQUES, L.C.; MACHADO, R.Z.; ALESSI, A.C.; AQUINO, L.P.C.T.; PEREIRA, G.T. Experimental infection with *Trypanosoma evansi* in horses: clinical and haematological observations. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 1, p. 11 – 15, 2000.

MEDEIROS, A.; OLIVEIRA, E.M.; GIANOLLA, R.; CASARINI, D.E.; NEGRÃO, C.E.; BRUM, P.C. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, n. 37, v. 12, p. 1909 – 1917, 2004.

MIKAIL, S.; PEDRO, C.R. **Fisioterapia veterinária.** Baueri: Manole, 2005. 242p.

MORAES, C.M.; CURCIO, B.R.; FREY JUNIOR, F.; RIBAS, L.M.; NIZOLI, L.Q.; NOGUEIRA, C.E.W. Infecção por *Trypanosoma evansi* em equinos do Brasil. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, n. 102, p. 159 -163, 2007.

MORRIS, D.M. Reabilitação aquática para o tratamento de desordens neurológicas. In: BECKER, B.E.; COLE, A.J. **Terapia aquática moderna.** 1. ed. Barueri: Manole, 2000. p. 51 – 73.

MOUNT, J.; DACKO, S. Effects of dorsiflexor endurance exercises on foot drop secondary to multiple sclerosis: a pilot study. **NeuroRehabilitation**, v. 21, n. 1, p. 43 – 50, 2006.

NELSON, N.M.; HAYES, K.W.; CURRIER, D.P. Eletroterapia clínica. In: PARREIRA, S.L.S. **Fisioterapia – Aspectos clínicos e prática da reabilitação**. 1. ed. São Paulo: Artes médicas LTDA, 2007. p. 247 – 253.

O’SULLIVAN, S.B. Tomada de decisão. Planejando tratamentos efetivos. In: O’SULLIVAN, S.B.; SCHMITZ, T.J. **Fisioterapia – avaliação e tratamento**. 4. ed. Barueri: Manole, 2004. p. 01 – 17.

PAESLACK, V. Esporte para paraplégicos. In: Hüllemann KD, editor. **Medicina esportiva: clínica e prática**. São Paulo: EPU, 1978. p. 292-9.

PARREIRA, S.L.S. Fisioterapia aquática em doenças neuromusculares. In: PARREIRA, S.L.S. **Fisioterapia – Aspectos clínicos e prática da reabilitação**. 1. ed. São Paulo: Artes médicas LTDA, 2007. p. 247 – 253.

PEDRO, C.R.; OLIVEIRA, S.P. Curso de fisioterapia veterinária. IBRA – Instituto Brasileiro de Reabilitação Animal. ANFIVET – Associação **Nacional de Fisioterapia Veterinária**. p. 7 – 10, 2009.

PESTANA, P.R.D.; FERNANDES, K.P.S.; VALLIO, C.S.; ROCHA, D.A.M.; MARTINS, M.D.; BUSSADORI, S.K.; MESQUITA-FERRARI, R.A. Nascimento e aspectos morfológicos do músculo esquelético em processo de reparo após criolesão. **Fisioterapia e pesquisa**, v. 18, n. 3, p. 264 – 269, 2011.

POLÔNIO, J.T.; MAZZER, N.; BARBIERI, C.H.; MATTIELLO-SVERZUT, A.C. Eletroestimulação seletiva mantém estrutura e função do tibial anterior desnervados de ratos. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 85 – 89, 2010.

RIET-CORREA, F.; RIET-CORREA, G.; SCHILD, A.L. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso de ruminantes e equídeos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 4, p. 161 – 168, 2002.

RIGONATTI, S.P. História dos tratamentos biológicos. **Revista de psiquiatria clínica**, v. 31, n. 5, p. 210-212, 2004.

RISO, N.D.M.; FERRARI, T.A.; CIARLINI, L.D.R.P.; LOUZADA, M.J.Q. Laser terapêutico no reparo ósseo de ratos submetidos à ausência de carga. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 2, p. 250 – 258, 2010.

ROBINSON, A. Eletrofisiologia clínica – eletroterapia e teste eletrofisiológico. In: PARREIRA, S.L.S. **Fisioterapia – Aspectos clínicos e prática da reabilitação**. 1. ed. São Paulo: Artes médicas LTDA, 2007. p. 85 – 117.

ROBINSON, A.; SNYNER-MACKLER, L. Eletrofisiologia clínica – eletroterapia e teste eletrofisiológico. In: PARREIRA, S.L.S. **Fisioterapia – Aspectos clínicos e prática da reabilitação**. 1. ed. São Paulo: Artes médicas LTDA, 2007. p. 17 – 41.

RODRIGUES, M.L.; QUINTILIANO, N.A.; CHINGUI, L.J.; VANINI, T.M. Corrente Russa versus corrente Fes na reabilitação de músculos esqueléticos denervados. **Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente**, v. 13, n. 16, p. 45 – 55, 2010.

ROSA FILHO, B.J. **Neurotmese**. 2004. Disponível em: <<http://www.wgate.com.br/conteudo/medicinaesaude/fisioterapia/neuro/neurotmese.htm>>. Acesso em: 28 de janeiro de 2013.

SALMONS, S.; ASHLEY, Z.; SUTHERLAND, H.; RUSSOLD, M.F.; LI, F.; JARVIS, J.C. Functional electrical stimulation of denervated muscles: basic issues. **Artificial Organs**, v. 29, n. 3, pg. 199 - 202, 2005.

SEALE, P.; RUDNICKI, M.A. A new look at the origin, function and stem-cell status of muscle satellite cells. **Developmental Biology**, v. 218, n. 2, pg. 115 – 124, 2000.

SILVA, C.A. Contratilidade: Músculo Esquelético e músculo liso. In: CURI, R.; PROCOPIO, J. **Fisiologia básica**. 1º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. pg. 143 – 162.

SILVA, M.C.; FIGHERA, R.A.; BRUM, J.S.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S.L. Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 5, p. 215 – 220, 2007.

SILVA, R.A.M.S.; AROSEMENA, N.A.E.; HERRERA, H.M.; SAHIB, C.A.; FERREIRA, M.S. Outbreak of trypanosomosis due to *Trypanosoma evansi* in horses of Pantanal Mato-grossense, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 60, n.1/2, p. 167 – 171, 1995.

SILVERTHORN, D.U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 957p.

SKINNER, A.T.; THOMSON, A.M. **Duffield: exercícios na água**. São Paulo: Manole, 1985.

SOARES, L.M. Marcadores bioquímicos de remodelação óssea. **Informativo Digital**, n.7, 2009. Disponível em: <http://www.labdias.com.br/files/75827659.pdf>. Acesso em: 29 de janeiro 2013.

TELES, T.G. **Reflexões sobre a visão biomédica e a visão holística no tratamento das lombalgias crônicas**. 2010. 68f. Dissertação (Mestrado) Universidade de Fortaleza – UNIFOR, Fortaleza-CE, 2010.

TOCHETTO, C.; SILVA, A.S.; PIEREZAN, F.; ZANETTE, R.A.; MONTEIRO, S.G. Paralisia dos membros pélvicos em ratos infectados cronicamente com *Trypanosoma evansi*: relato de caso. **Revista da FVZA**, v. 17, n. 2, p. 159 – 169, 2010.

TORTORA, G; GRABOWSKI, S. **O sistema esquelético: Tecido ósseo. Princípios de anatomia e fisiologia**. 9. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1047p.

VELHO, J.R.; LINS, L.A.; BRUM, C.S.; RIBAS, L.M.; NOGUEIRA, C.E.W. **Métodos fisioterapeúticos para o tratamento de contratura de músculos flexores em potros**. In: CONFRESSO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA, 15., 2006, Pelotas: UFPEL, 2006. Disponível em: http://www.ufpel.edu.br/cic/2006/resumo_expandido/CA/CA_01270.pdf. Acesso em: 29 de janeiro, 2013.

WHITE, D.J. Avaliação músculo esquelética. In: O’SULLIVAN, S.B.; SCHMITZ, T.J. **Fisioterapia – avaliação e tratamento**. 4. ed. Barueri: Manole, 2004. p. 101 – 132.