



**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES  
CURSO DE FISIOTERAPIA**

**KEYLA DE PAULA BARBOSA**

***ESTUDO COMPARATIVO DAS VIAS DE ELETROESTIMULAÇÃO  
NEUROMUSCULAR INTRACAVITÁRIA PARA HIPERTROFIA DO ESFÍNCTER  
ANAL EXTERNO***

Brasília  
2015

**KEYLA DE PAULA BARBOSA**

***ESTUDO COMPARATIVO DAS VIAS DE ELETROESTIMULAÇÃO  
NEUROMUSCULAR INTRACAVITÁRIA PARA HIPERTROFIA DO ESFÍNCTER  
ANAL EXTERNO***

Artigo científico apresentado à disciplina de  
Trabalho de Conclusão do Curso, como  
requisito parcial para a conclusão  
do Curso de Fisioterapia no  
Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Letícia Martins Paiva

Brasília  
2015

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA  
Curso de Fisioterapia

**ESTUDO COMPARATIVO DAS VIAS DE ELETROESTIMULAÇÃO  
INTRACAVITÁRIA PARA HIPERTROFIA DO ESFÍNCTER ANAL EXTERNO**

Keyla de Paula Barbosa

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Letícia Martins Paiva  
ORIENTADORA

---

Mestrando Fábio Cardoso da Silva  
AVALIADOR INTERNO

---

Prof<sup>o</sup>. Me. Hugo Alves de Sousa  
AVALIADOR EXTERNO

APROVADA EM: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## **DEDICATÓRIA**

**A Deus por toda força e coragem dados durante esta caminhada e por sempre estar ao meu lado.**

**Aos meus Pais, por priorizarem sempre a minha educação e por todo amor e força que me transmitem.**

**Ao meu namorado Renato, por me acompanhar nessa jornada e por todo o seu apoio e carinho.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por tudo e pelas graças concedidas em minha vida em todos esses anos, pela força, sabedoria e saúde.

Aos meus pais que sempre buscaram o melhor para mim, e me deram a oportunidade de concretizar um sonho. Por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida, me apoiando em todas as conquistas e derrotas. Pela paciência e compreensão em todos os estágios da graduação.

A minha irmã Karen por toda a sua amizade, amor, paciência em todos os momentos da nossa vida.

Ao meu namorado Renato por toda compreensão, amizade e carinho em todas as fases de nossas vidas. Pelo apoio, ajuda e dedicação dados para concretizar esse sonho. Por tudo que sempre fez por mim.

Aos meus amigos que sempre compartilharam todos os momentos e sonhos vividos na minha vida. A minha melhor amiga Tássia por todo apoio dado e ao meu amigo Lucas pela sua ajuda e atenção. As minhas amigas que foram um presente da graduação. Em especial, Marília e Ursula que compartilharam comigo esse trabalho e foram essenciais para a sua concretização e por todo carinho e amizade compartilhada.

A toda a minha família por todo apoio dado, pelo carinho e amor que sempre me transmitiram.

A minha professora e orientadora Letícia Martins, por toda paciência, amizade, dedicação e carinho durante a graduação e principalmente durante este trabalho.

Ao professor Hugo Alves, por todos os ensinamentos, por sua amizade e por toda oportunidade dada durante todos esses anos.

*“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”.*

*Isaac Newton*

## RESUMO

**OBJETIVO:** comparar o efeito da eletroestimulação neuromuscular intracavitária (vaginal e anal) sobre o esfíncter anal externo (EAE) e avaliar qual técnica é melhor para o aumento do diâmetro das fibras deste músculo em ratas nulíparas Wistar e se é indicativo de hipertrofia muscular. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Trata-se de um estudo experimental, prospectivo. Foram utilizadas 18 ratas nulíparas Wistar, com 12 meses de idade. As ratas foram divididas em três grupos, controle (n6), eletroestimulação (EE) intra-anal (n6) e intravaginal (n6). Os grupos eletroestimulados foram submetidos a trinta sessões de eletroestimulação, com parâmetros que obedeceram a seguinte sistematização: 50Hz de frequência, com 700 $\mu$ s de largura de pulso e 2mA de intensidade de corrente. Após as 30 sessões, as ratas foram eutanasiadas para a remoção do bloco de pelve e períneo para exame histopatológico por microscopia de luz. O músculo esfíncter anal externo foi removido e fixado em formol a 10% e, depois, incluso em parafina para corte em micrótomo e corado pela técnica de Tricrômico de Gomori. **RESULTADOS:** Os resultados analisados pelo teste t ( $p < 0,05$ ) indicaram que o tratamento com eletroestimulação aumentou o diâmetro médio das fibras musculares do esfíncter anal externo do grupo eletroestimulado por via intravaginal ( $26,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$ ) e intra-anal ( $29,0 \pm 0,5 \mu\text{m}$ ) comparando com o grupo controle ( $24,7 \pm 0,4 \mu\text{m}$ ) apresentando aumento no diâmetro de 6,9 % e 17,4% respectivamente. Já na comparação entre os grupos EE foi visto que por via intra-anal as fibras do músculo do EAE apresentaram diâmetro 9,8% maior do que pela via intravaginal. **CONCLUSÃO:** Conclui-se que a eletroestimulação foi capaz de aumentar as fibras musculares do esfíncter anal externo de ratas nulíparas eletroestimuladas e a via intra-anal se mostrou mais efetiva para hipertrofia do EAE.

**Palavras-chave:** Esfíncter Anal; Ratas; Eletroestimulação; Hipertrofia.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To compare the effect of intracavitary neuromuscular electrostimulation (vaginal or anal) on the external anal sphincter (EAE) and to evaluate which technique is better to increase the diameter of the fibers of this muscle in Wistar rats nulliparous and if it is indicative of muscle hypertrophy. **MATERIALS AND METHODS:** This is a prospective experimental study. 18 rats nulliparous Wistar were used, with 12 months of age. The rats were divided into three groups: control (n6), intra-anal electrostimulation (EE) (n6) and intravaginal (n6). The electrically stimulated groups were subjected to thirty sessions of electrostimulation, with parameters that obeyed the following systematization: 50Hz frequency, with 700 $\mu$ s pulse width and current of 2mA. After 30 sessions, the rats were euthanized for removal of the perineum and pelvis block for histopathological examination by light microscopy. The external anal sphincter muscle was removed and fixed in 10% formalin and then embedded in paraffin to cut into microtome and stained by Trichrome Gomori technique. **RESULTS:** The results were analyzed by paired t-test indicated that treatment with electrostimulation increased diameter mean of the muscle fibers of external anal electrostimulated sphincter intravaginally group (26.4  $\pm$  0.5  $\mu$ m) and intra-anal (29.0  $\pm$  0.5  $\mu$ m) compared to the control group (24.7  $\pm$  0.4  $\mu$ m) showed a diameter increase of 6.9% and 17.4% respectively. In comparison between the groups EE was seen that: via intra-anal, EAE muscle fiber was 9.8% greater than via intravaginal. **CONCLUSION:** The electrostimulation was able to increase the muscular fibers of the external anal sphincter of rats nulliparous electrostimulation and the intra-anal way was more effective to the EAE hypertrophy.

**Keywords:** Anal Sphincter; Rats; Electrostimulation; Hypertrophy.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	9
2. MÉTODOS .....	12
2.1. Delineamento do estudo .....	12
2.2. Amostra.....	12
2.3. Coleta dos dados .....	13
2.4. Procedimentos da pesquisa.....	13
3. RESULTADOS .....	19
4. DISCUSSÃO .....	23
5. CONCLUSÃO.....	26
6. REFERÊNCIAS.....	27

## 1. INTRODUÇÃO

O canal anal possui de 2,5 a 5 cm de comprimento e é composto por dois importantes músculos, sendo eles o esfíncter anal interno (EAI) e o esfíncter anal externo (EAE), onde este é constituído por um músculo estriado esquelético innervado pelo nervo pudendo que é oriundo das raízes sacrais S2, S3 e S4.<sup>1, 2</sup>

O EAE é composto por três camadas.<sup>3</sup> A camada profunda une-se ao músculo puborretal, a superficial é anexada anteriormente ao corpo perineal e posteriormente ao cóccix pelo ligamento anococcígeo. A última camada, chamada de subcutânea, está localizada ao redor da mucosa anal e abaixo da margem inferior do EAI.<sup>4</sup>

Além de fornecer um controle voluntário no ato da defecação, o EAE também forma uma zona de alta pressão no interior do canal anal servindo de barreira diante do aumento das pressões retais.<sup>5</sup> Outra função importante é a contração de repouso inconsciente o que contribui com 15% de tônus anal de repouso.<sup>4</sup>

As fibras musculares que constituem o EAE são as do tipo I. Estas mantêm o tônus anal de repouso e preserva a continência fecal devido a sua capacidade de contração lenta e resistência à fadiga.<sup>4, 6, 7, 8</sup>

Entretanto, o EAE também possui fibras musculares do tipo II onde estas são de contração rápida e permitem uma contração muscular reflexa decorrente de um aumento súbito de pressão abdominal.<sup>6, 7, 8</sup>

O EAE está susceptível a traumas como por exemplo durante o trabalho de parto, pois a lesão do nervo pudendo decorrente da saída do feto ou da episiotomia predispõe ao aparecimento de urgência fecal, que é uma vontade repentina e um forte desejo de defecar difícil de ser adiado, mas a incontinência

fecal (IF), que é a perda de material fecal e/ou flatos, também é comum nestes casos, podendo acontecer também devido ao enfraquecimento dos músculos do assoalho pélvico.<sup>9, 10</sup>

A eletroestimulação (EE) neuromuscular apresenta papel importante no tratamento da urgência e incontinência fecal<sup>11</sup>, devido a capacidade de promover o fortalecimento da musculatura do assoalho pélvico através da aplicação de eletrodos intravaginais ou endoanais.<sup>12</sup>

Sabe-se que a EE nos músculos elevador do ânus, esfíncter uretral e anal estimula diretamente o nervo pudendo auxiliando na melhora dos sintomas fecais.<sup>7</sup> Além do que, a corrente emitida pelo eletrodo intracavitário quando utilizado na via anal alcança os esfíncteres interno e externo e o músculo puborretal produzindo excelente efeito terapêutico no fortalecimento muscular e melhora dos sintomas. Mas a corrente elétrica deve ser ajustável para que o paciente não sinta dor ou desconforto durante a aplicação e assim adapte-se melhor ao tratamento, evitando a desistência.<sup>13</sup>

A ação da EE se dá através da ativação das unidades motoras do músculo estriado esquelético que compõe o EAE. Ocorre então a liberação de mediadores químicos na junção mioneural e conseqüentemente a contração das fibras musculares. Esta ação evidencia o fenômeno de recrutamento das fibras musculares, o qual diz que quanto mais sincrônico for o recrutamento, maior será a força de contração do músculo.<sup>14</sup>

A EE vem sendo utilizada para reabilitar e fortalecer os músculos do assoalho pélvico. Entretanto, na literatura são encontrados resultados muito divergentes quanto a metodologia utilizada e os resultados. Dessa forma, ainda

não é comprovado cientificamente se a aplicação da EE no EAE aumenta o diâmetro das fibras musculares.<sup>15</sup>

Como a realização da técnica em humanos torna-se inviável para a realização da análise histológica após um tratamento com EE, Wieslander et al.<sup>16</sup> relatam que o estudo com ratas tem sido aplicado na tentativa de transpor o conhecimento acerca da morfologia do assoalho pélvico e das variações relacionadas a múltiplos partos e/ou processo de envelhecimento.

Diante do exposto, o presente estudo visa comparar o efeito da eletroestimulação intracavitária (vaginal e anal) sobre o esfíncter anal externo e avaliar qual técnica possui melhor resultado no aumento do diâmetro das fibras deste músculo em ratas nulíparas Wistar. E se esses parâmetros são indicativos de hipertrofia muscular.

## 2. MÉTODOS

### 2.1. Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo experimental, prospectivo realizado no Laboratório de Ciências (LABOCIEN) do Centro Universitário de Brasília (UniCEUB) e no Laboratório de Histologia da Área de Morfologia da Faculdade de Medicina - Universidade de Brasília, no período de Maio a Outubro de 2014.

As normas éticas para a pesquisa científica com animais de laboratório foram rigorosamente obedecidas durante a realização deste estudo, conforme determina a lei número 6.638 de 8/05/1979 dos princípios éticos para experimentação com animais de laboratório, definidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 1990). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do UniCEUB em 19/04/2013 (nº 004/2013).

### 2.2. Amostra

A amostra foi composta por ratas fêmeas da linhagem Wistar, isogênicas, com 1 ano de idade. Animais isogênicos são especialmente úteis para observação do comportamento e semelhança nas respostas histofisiológicas. A faixa etária foi escolhida de acordo com *Editorial Opinion: Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years, 2005* que propõe uma equação para o cálculo de equivalência das idades entre ratos e humanos. Dessa forma, a idade de 1 ano em ratas equivale a 36 anos na mulher.<sup>17</sup>

A amostra foi selecionada aleatoriamente de acordo com o número de ratas disponíveis no laboratório para a realização deste estudo.

Dessa forma, foram utilizadas dezoito (n=18) ratas divididas em três grupos: grupo controle (n=6), grupo eletroestimulação anal (n=6) e grupo

eletroestimulação vaginal (n=6). A alocação dos animais para o grupo controle e estudo se deu por determinação aleatória.

Foram incluídas ratas adultas, nulíparas Wistar sem patologia de base com idade de 12 meses, fornecidas pelo UniCEUB. De tal forma que ratas que apresentaram durante a intervenção qualquer tipo de infecção, sangramento local e ou sofrimento devido intolerância a aplicação da corrente foram excluídas do estudo.

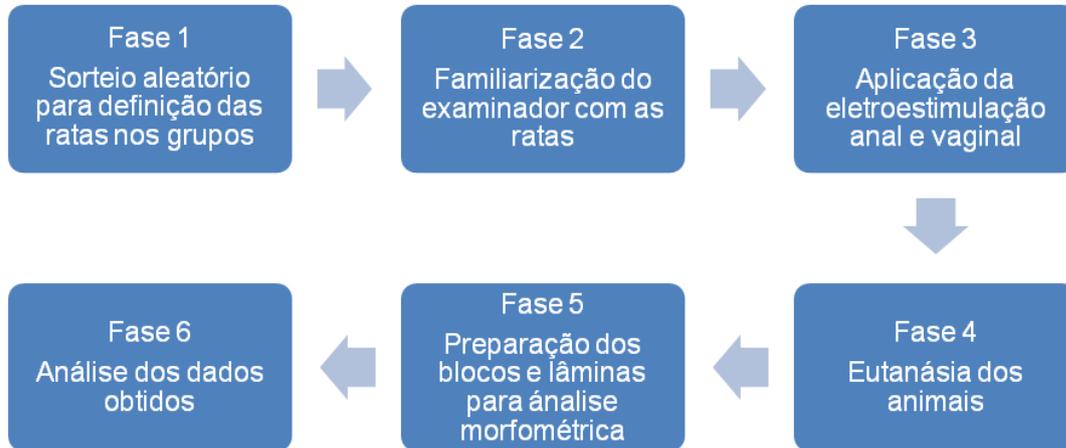
### **2.3. Coleta dos dados**

A coleta de dados durante a fase experimental aconteceu no biotério do Centro Universitário de Brasília (UniCEUB), onde os animais ficaram alojados com temperatura controlada (23°C), ciclo claro/escuro de 12/12 horas e alimentados com ração balanceada da marca nutribase e água potável *ad libitum*. Esta coleta aconteceu no período de Maio a Julho de 2014.

### **2.4. Procedimentos da pesquisa**

A pesquisa foi dividida em 6 fases:

Figura 1 – Fluxograma de fases da pesquisa



De acordo com a figura acima, as 18 ratas foram alocadas aleatoriamente por sorteio nos grupos controle, eletroestimulação intra-anal e intravaginal, sendo 6 ratas para cada grupo.

Na etapa seguinte houve a familiarização do examinador com as ratas, que foi realizada com intuito de minimizar o estresse gerado pelo procedimento de inserção de sonda do eletroestimulador. Assim, o examinador se familiarizou gerando condicionamento com a conduta de rotina do estudo antes do início da terapia. Wyndaele & Poortmans<sup>15</sup> utilizaram protocolo semelhante e afirmam que é praticamente improvável que esta estimulação seja dolorosa ou cause sofrimento, pois não se observam rangidos, enrijecimento da cauda ou movimentos no corpo.

Na fase experimental 3 foi realizada a aplicação da eletroestimulação. As ratas foram contidas segundo o método manual, que permite uma respiração fácil e de pequenos movimentos isométricos.<sup>15</sup> Porém, a contenção manual utilizada no estudo de Wyndaele & Poortmans<sup>15</sup>, é direcionada para camundongos, no presente estudo esta técnica foi adaptada para ratas Wistar, pois são animais que possuem um porte maior. Assim, posicionou-se o animal sobre a

palma de uma das mãos e foi realizado um pinçamento por trás das articulações do ombro. Com a outra mão tracionou-se o rabo, como visto na figura 2.

Logo após, o animal foi posicionado em decúbito dorsal para introdução da sonda compatível a cavidade vaginal ou anal.

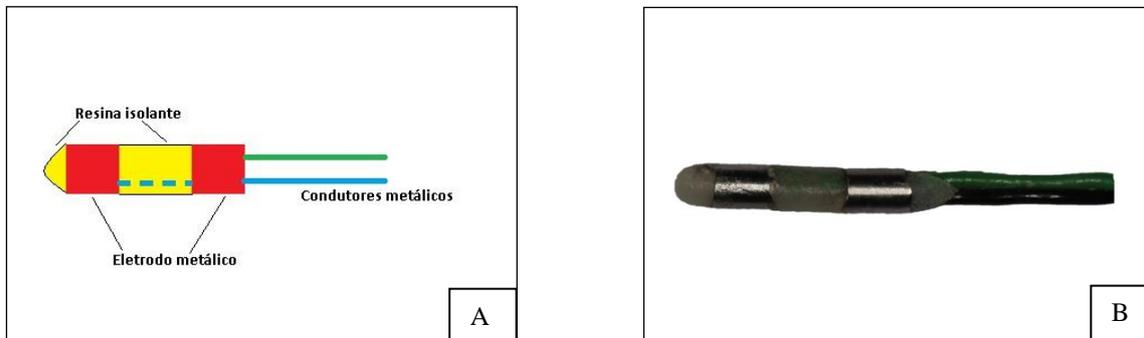
Figura 2 - Técnica de contenção de ratos



**FONTE:** Arquivo do autor

As sessões de eletroestimulação foram realizadas com uso de estimulador específico, equipamento de fabricação nacional da marca QUARK® (Dualpex 961 - modelo URO), com sonda especificamente desenvolvida para este estudo, com 2 anéis de aço inoxidável com 2.0 mm de diâmetro e 3.0 mm de comprimento. Os anéis são conectados a fios elétricos por meio de estanho e isolados entre si por 6.0 mm de resina acrílica autopolimerizável (substância não condutora), totalizando 9.0 mm de comprimento total, como pode ser visto na figura 3.

Figura 3 - Desenho esquemático da sonda para eletroestimulação (A) e fotografia da sonda adaptada ao eletroestimulador (B).



FONTE: Arquivo do autor

A higienização das sondas aconteceu com água corrente e sabonete antisséptico e armazenadas em lugar seco.

Foi utilizada uma corrente bifásica simétrica retangular com largura de pulso de  $700\mu\text{s}$ , frequência de 50Hz e uma intensidade de 4mA, ou até causar contração visual. Tempo On/off de 5/10 segundos respectivamente. As ratas foram submetidas a trinta sessões de eletroestimulação, que aconteceram 2 vezes ao dia, com duração de 6 minutos cada e 5 minutos de descanso entre elas, durante 3 semanas consecutivas. Estes parâmetros foram adotados de acordo com os estudos de Wyndaele & Poortmans<sup>15</sup> e Bo et al.<sup>18</sup>

Palma<sup>7</sup> relata que o músculo esfíncter anal externo compõe-se de unidades motoras de contração rápida, o qual costumam responder de forma satisfatória a frequências de 35 a 50Hz.

Os critérios adotados para a experimentação e manutenção dos animais foram feitos rigorosamente dentro das normas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

A fase 4 prossegue com a eutanásia dos animais, que aconteceu no primeiro dia após a última sessão de EE, onde foram eutanasiados por meio da

câmara de CO<sub>2</sub> que causa morte por depressão excessiva do SNC e hipóxia, usa-se uma concentração de 40% de CO<sub>2</sub>, pois possui vantagem por ter um rápido efeito depressor e baixo custo.

Logo depois da eutanásia, os blocos pélvicos foram dissecados. As carcaças foram acondicionadas conforme Resolução da Diretoria Colegiada, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ANVISA – [RDC Nº 306, de 7 de dezembro de 2004](#) em saco branco leitoso, no freezer do biotério do UniCEUB, os gestores do Labocien, entraram em contato com a empresa Quebec Ambiental, que se responsabilizou pela coleta, transporte e incineração dos resíduos biológicos.

Na etapa 5 foi realizada a preparação dos blocos e lâminas para análise morfométrica. Assim, foi removido o bloco de pelve e períneo para exame histopatológico por microscopia de luz. Inicialmente, o músculo esfíncter anal externo foi removido e fixado em formol a 10% e depois desidratado em soluções com concentrações crescente de álcool (70%, 80%, 90% e 3x 100%), diafanizados em xilol por 30 minutos (2 banhos) e impregnados em parafina a 60 graus (3 banhos) e em seguida, emblocados em parafina. Depois, os espécimes foram seccionados em secções de 5µm (micrômetros) de espessura e coradas com a técnica Tricômio de Gomori para avaliar as células musculares.

OBS: A análise histopatológica foi realizada por um pesquisador da área de Morfologia da Universidade de Brasília (UnB).

Depois de coradas, as secções histológicas foram fotografadas com o microscópio (Axion Vision, Zeiss®) e capturadas com o equipamento Aperio ScanScope® e avaliadas no programa ImageScope version 11.2.0.780 (Aperio Technologies Inc, Vista, CA, USA) e, posteriormente, analisadas por um único observador (200x, 400x e 1000x).

Para a avaliação dos diâmetros, selecionou-se 50 fibras por campo, sendo 4 campos registrados por lâmina. Na verificação do diâmetro foi utilizado o editor de imagens *GIMP*<sup>®</sup> (versão 2.8.10) e, em seguida, os diâmetros foram tabulados em planilha de Excel e convertidos para micrômetros (1 pixel = 1,14  $\mu\text{m}$ ). Foram tomadas as medidas dos diâmetros maior e menor e, posteriormente, calculou-se as médias dessas medidas.

A 6ª fase consistiu em análise dos dados obtidos, os resultados foram analisados estatisticamente e comparados entre os grupos.

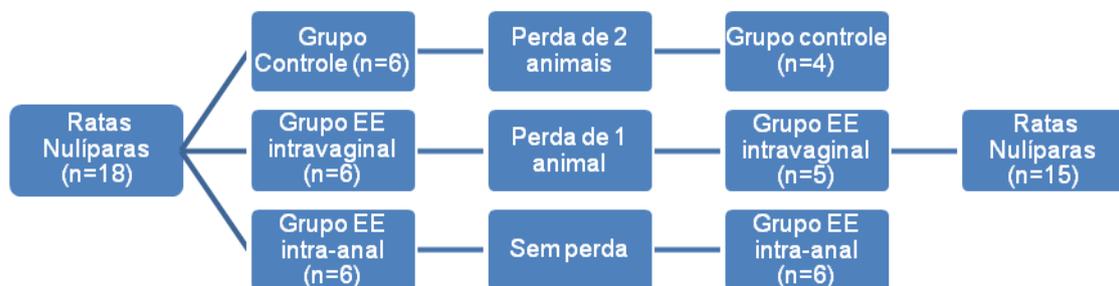
Na análise estatística, a normalidade das variáveis foi analisada empregando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade das variâncias, o teste de Bartlett. Para comparações entre dois grupos foi usado o teste t não pareado; diferenças de  $p < 0,05$  são consideradas significantes. As análises foram realizadas empregando-se o programa Prism<sup>®</sup> 5 Software Package (GraphPad, USA, 2005).

### 3. RESULTADOS

A amostra foi composta por 18 ratas Wistar nulíparas (n=18) com idade de 12 meses cada, divididas de forma equivalente e por determinação aleatória conforme o Fluxograma abaixo.

Devido a falta de informações sobre técnicas histológicas existentes na literatura, houve perda de 3 animais na fase de fixação dos blocos de retos em parafina, etapa que faz parte da fase de execução de técnicas histológicas. As perdas foram de 2 ratas para o grupo controle e 1 rata para o grupo eletroestimulação intravaginal (Figura 4).

Figura 4 - Fluxograma da amostra do estudo



Após a exclusão a amostra foi composta por 15 ratas Wistar nulíparas, sendo que o grupo controle passou a ter quatro ratas, o da eletroestimulação intravaginal cinco e seis na eletroestimulação intra-anal.

Após análise estatística foram encontrados valores dos diâmetros das fibras musculares das ratas do grupo nulípara controle (NC), que obtiveram uma média de 24,69  $\mu\text{m}$ , mediana de 24,97  $\mu\text{m}$ , mínimo-máximo de 23,53  $\mu\text{m}$  e 25,28  $\mu\text{m}$  e desvio padrão (DP) de 0,7869. Já o grupo nulípara intra-anal (NEA) após a

EE apresentou média de 29,07  $\mu\text{m}$ , mediana de 29,00  $\mu\text{m}$ , mínimo-máximo de 27,70  $\mu\text{m}$  e 31,18  $\mu\text{m}$  e um DP de 1,206. Por fim, o grupo nulípara intravaginal (NEV) apresentou uma média de 26,43  $\mu\text{m}$ , mediana de 26,23  $\mu\text{m}$ , mínimo-máximo de 25,34  $\mu\text{m}$  e 28,21  $\mu\text{m}$  e DP de 1,108 (Tabela 1).

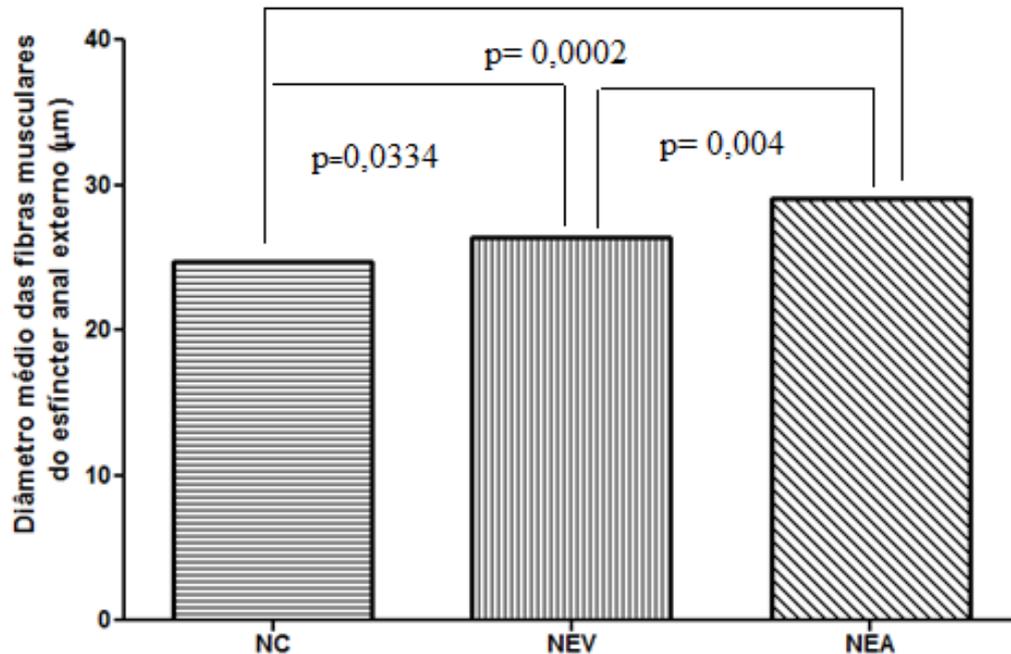
Tabela 1 - Valores de média, mediana, máximo-mínimo e desvio padrão dos diâmetros das fibras

Grupos	Média	Mediana	DP	Mínimo-Máximo
NC	24,69 $\mu\text{m}$	24,97 $\mu\text{m}$	0,7869	23,53 -25,28 $\mu\text{m}$
NEA	29,07 $\mu\text{m}$	29,00 $\mu\text{m}$	1,206	27,70-31,18 $\mu\text{m}$
NEV	26,43 $\mu\text{m}$	26,23 $\mu\text{m}$	1,108	25,34-28,21 $\mu\text{m}$

**Legenda:** Nulípara controle (NC); Nulípara eletroestimulada via intra-anal (NEA); Nulípara eletroestimulada via intravaginal (NEV); DP: Desvio padrão.

Os resultados das análises morfométricas dos diâmetros das fibras musculares do EAE de ratas nulíparas mostraram que, na comparação com o grupo controle (24,7 $\pm$ 0,4  $\mu\text{m}$ ), os grupos submetidos à eletroestimulação por via intravaginal (26,4 $\pm$ 0,5  $\mu\text{m}$ ) ou intra-anal (29,0 $\pm$ 0,5  $\mu\text{m}$ ) apresentaram aumento no diâmetro de 6,9 % ou 17,4% e um valor de  $p=0,0334$  e  $p=0,0002$ , respectivamente (Teste t;  $p<0,05$ ). A comparação entre as vias utilizadas na eletroestimulação mostrou que, quando esta foi feita por via intra-anal as fibras do músculo do EAE apresentaram diâmetro 9,8% maior do que pela via intravaginal e o valor de  $p=0,004$  (Teste t;  $p<0,05$ ). (Gráfico 1)

Gráfico 1 - Diâmetro das fibras musculares do músculo esfíncter anal externo (EAE) de ratas nulíparas



**Legenda:** Nulípara controle (NC); Nulípara eletroestimulada via intravaginal (NEV); Nulípara eletroestimulada via intra-anal (NEA).

Os resultados analisados mostraram que os animais dos grupos NEV e NEA apresentaram aumento nos diâmetros das fibras musculares na comparação com o NC, como visto na tabela 2.

Tabela 2 - Diâmetros das fibras

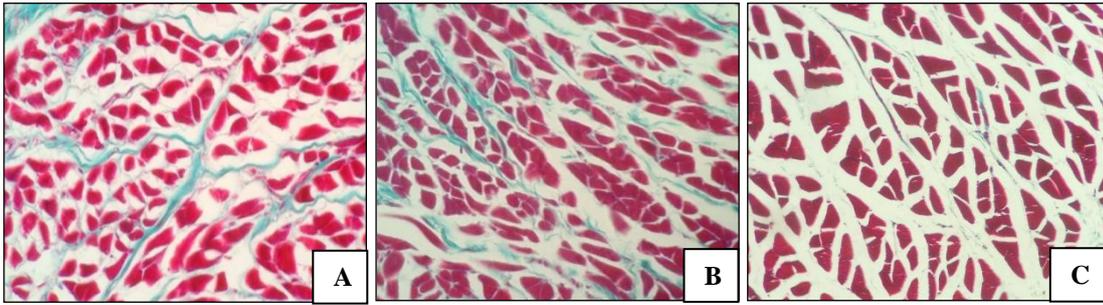
Variáveis	Diâmetro das fibras (µm)
NC	24,7±0,4
NEV	26,4±0,5
NEA	29,0±0,5

**Legenda:** NC (nulípara controle); NEV (nulípara EE vaginal); NEA (nulípara EE anal).

Na figura abaixo, são observadas as fotos das lâminas do músculo EAE dos grupos analisados no presente estudo. Para a avaliação dos diâmetros maior e

menor foram selecionadas 50 fibras por campo, sendo registrados 4 destes por lâmina. Dessa forma, nas lâminas B e C podem ser vistos o aumento do diâmetro das fibras analisadas.

Figura 5 - Fotomicrografias das fibras musculares esqueléticas do músculo EAE  
Coloração tricrômio de Gomori (400x)



**Legenda:** grupo controle (A); nulíparas eletroestimuladas por via intravaginal (B); nulíparas eletroestimuladas via intra-anal (C)

**FONTE:** Arquivo do autor

#### 4. DISCUSSÃO

A EE da pelve e períneo feminino permite duas vias para inserção da sonda do eletroestimulador. A via intravaginal é mais utilizada para o fortalecimento dos músculos do assoalho pélvico, pois as paredes da vagina estabelecem contato com todos os órgãos pélvicos e com os planos musculares adjacentes (EAE, diafragmas pélvico e urogenital). A sonda intra-anal é empregada especificamente para o tratamento da incontinência anal pelo fato de o canal anal possuir relação anatômica apenas com a parede posterior da vagina, mas ressalta-se que o EAE participa como sinergista nas ações dos músculos do diafragma urogenital e pélvico. Assim, a sua hipertrofia beneficia todo o complexo muscular e funcional da pelve e períneo, otimizando a função de cada componente.<sup>19, 20, 21</sup>

O presente estudo mostrou que a aplicação da EE intracavitária aumenta o diâmetro do músculo esfíncter anal externo independente da via, os resultados revelaram que por via intravaginal esse aumento foi de 6,9% e por via intra-anal de 17,4% em comparação com o grupo controle. Entretanto a intra-anal apresentou um aumento de 9,8% quando comparado com a vaginal para hipertrofia deste músculo, que pode ser evidenciada pela síntese proteica decorrente do estresse mecânico causado pela aplicação da corrente.<sup>22</sup>

Além do que, o aumento do diâmetro nas duas vias intracavitárias pode ser justificado pelo fato da sonda intra-anal ter contato direto com o canal anal onde se localiza o EAE, enquanto que por via intravaginal a estimulação elétrica acontece de forma indireta, já que as paredes da vagina tem conexão com o EAE.

Portanto, após análise morfométrica foi constatada a hipertrofia muscular do EAE. De tal forma, que existem estudos que avaliaram a morfometria de diferentes estruturas utilizando a EE intracavitária e encontraram resultados semelhantes a este.<sup>23, 24</sup>

Dentre esses estudos, encontram-se o de Franco et al.<sup>23</sup>, que avaliaram a histomorfometria após 6 e 12 sessões de EE na bexiga de ratas utilizando parâmetros convencionados em frequência de 50 Hz, pulso de 1 ms e intensidade de 20 mA. Os animais foram submetidos a 2 sessões semanais, com duração de 15 minutos cada. Dessa forma, os autores observaram aumento da espessura dos vasos sanguíneos e do músculo detrusor. Sendo assim, concluíram que a técnica é capaz de aumentar a pressão intrauretral e reestabelecer conexões neuromusculares, melhorando a área vascular e função muscular, promovendo hipertrofia muscular e resistência à fadiga.

Da mesma forma, Camargo et al.<sup>24</sup>, utilizaram tal procedimento na uretra de ratas, observando uma hipertrofia das células musculares lisas da uretra. Em discordância Wyndaele & Poortmans<sup>15</sup>, investigaram o efeito da EE intravaginal nos músculos do assoalho pélvico de ratas utilizando um protocolo com sessões que aconteceram três vezes ao dia, com 6 minutos de duração e descanso de 5 minutos entre eles, cinco vezes por semana durante 7 semanas consecutivas, com uma corrente de 25 Hz, pulso de 400- $\mu$ s, On/Off de 5/10 segundos e uma amplitude de 4 mA. Após as sessões de EE foi encontrado somente aumento da densidade capilar enquanto que o diâmetro das fibras musculares permaneceu inalterado.

Alguns parâmetros de Wyndaele & Poortmans<sup>15</sup>, foram adotados neste estudo e outros adaptados de acordo com a necessidade. Os autores utilizaram

4mA, enquanto o presente estudo 2mA, pois essa intensidade de corrente atingiria o limiar motor esperado sem causar sofrimento ao animal. Na pesquisa foi aplicado o método de contenção manual, enquanto que Wyndaele & Poortmans<sup>15</sup>, sedavam os animais durante as sessões de EE. Essa modificação chama a atenção, pois no presente estudo era possível observar sinais de sofrimento no animal durante a EE, o animal não foi exposto à toxicidade do anestésico e a diminuição no custo do projeto pela ausência de drogas sedativas.

Existe uma relação direta entre aumento do diâmetro médio das fibras e aumento da força muscular. É importante salientar que essa afirmação foi verificada para músculo estriado esquelético da região dos membros inferiores de ratos, o que nos leva a pensar que um comportamento semelhante possa ocorrer no músculo EAE, uma vez que este tem a mesma classificação histológica.<sup>25, 26</sup>

Apesar das limitações ocorridas no estudo em relação à redução da amostra devido à perda das ratas, a técnica de maximização dos resultados obtidos foi aplicada para garantir fidedignidade ao registro do diâmetro. Foram mensuradas duzentas fibras por lâmina, na literatura há um direcionamento de se registrar entre 100 a 200 fibras.<sup>26, 27</sup> Dessa forma, foi constatada a hipertrofia muscular pelo aumento dos diâmetros das fibras.

Esses resultados corroboram com os efeitos vistos a nível de prática clínica, pois essa hipertrofia do EAE traz aumento da capacidade funcional da região anorretal, das funções esfinterianas, do mecanismo de continência fecal, favorece homeostase do reflexo anorretal, sensação de segurança nos sujeitos com incontinência fecal, diminuição da depressão e constrangimento.<sup>19,28,29</sup>

## 5. CONCLUSÃO

A eletroestimulação foi capaz de induzir o aumento do diâmetro médio das fibras musculares do esfíncter anal externo de ratas nulíparas tanto pela via intravaginal quanto pela intra-anal, entretanto, esta última se mostrou mais efetiva para hipertrofia do EAE.

Os resultados deste estudo visam contribuir com o uso da eletroestimulação em humanos já que se sabe seus efeitos a nível histológico, e reforçam a necessidade de novos estudos com um maior número de amostras por grupo e com um maior aprofundamento no estudo morfométrico.

## 6. REFERÊNCIAS

- 1.Barleben A, Mills S. Anorectal anatomy and physiology. **Surg Clin N Am.** 2010; 90: 1-15.
- 2.Wald AMD. Fecal Incontinence in Adults. **N Engl J Med.** 2007; 356: 1648-55.
- 3.Dujovny N, Quiros RM, Saclarides TH. Anorectal anatomy and embryology. **Surg Oncol Clin N Am.** 2004; 13: 277-93.
- 4.Kaiser AM, Ortega AE. Anorectal anatomy. **Surg Clin North Am** 2002; 82(6): 1125–38.
- 5.Hayden DM, Weiss EG. Fecal Incontinence: Etiology, Evaluation, and Treatment Clin **Colon Rectal Surg.** 2001; 24 : 64–70.
- 6.Corton MM. Anatomy of pelvic floor dysfunction. **Obstet Gynecol Clin N Am.** 2009; 36: 401-19.
- 7.Palma P. **Urofisioterapia.** 1.ed. Campinas, SP: Personal Link Comunicações; 2009. 422-423.
- 8.Minamoto VB. Classificação e adaptações das fibras musculares: uma revisão. **Fisioterapia e pesquisa.** 2005; 12 (3): 50-5.
- 9.Rezvan A, Jakus-Waldman S, Abbas MA, Yazdany TMD, Nguyen BJ. Review of the Diagnosis, Management and Treatment of Fecal Incontinence. **Female Pelvic Medicine & Reconstructive Surgery** 2015; 21(1): 8-17.
- 10.Abrams P, Andersson KE, Birder L, Brubaker L, Cardozo L, Chapple C, et. al. Fourth International Consultation on Incontinence Recommendations of the International Scientific Committee: Evaluation and Treatment of Urinary Incontinence, Pelvic Organ Prolapse, and Fecal Incontinence. **Neurourology and Urodynamics.** 2010; 29: 213–240.
- 11.Moreno AL. **Fisioterapia em Uroginecologia.** Barueri, SP: Manole, 2004.
- 12.Guarda RI, Gariba M, Nohama P, Amaral VF. Tratamento conservador da incontinência urinária de esforço. **Femina.** 2007; 35 (4): 219-228.
- 13.Heimerl T, Schwandner T, Vonthein R, Ziegler A. Electrical stimulation and biofeedback for the treatment of fecal incontinence: a systematic review. **Int J Colorectal Dis.** 2013; 28: 1567-77.
- 14.Lianza, S. **Estimulação elétrica funcional – FES e Reabilitação.** São Paulo: Atheneu ; 2003. 07-12.
- 15.Wyndaele JJJ, Poortmans A. Functional and histological effects of intravaginal electrical stimulation on the pelvic muscles: a study in the rat. **Int Urogynecol J.** 2006; 17: 444–48.

16. Wieslander CK, Rahn DD, McIntire DD, Acevedo AJF, Drewes PG, Yanagisawa H, et. al. Quantification of pelvic organ prolapse in mice: vaginal protease activity precedes increased mopq scores in fibulin 5 knockout mice. **Biology of Reproduction**. 2009; 80: 407–14.
17. Editorial Opinion. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? **Nutrition**. 2005; 21: 775–77.
18. Bo K, Talseth T, Holme I. Single blind, randomised controlled trial of pelvic floor exercises, electrical stimulation, vaginal cones, and no treatment in management of genuine stress incontinence in women. **BMJ**. 1999; 318: 487-93.
19. Correia GN, Bossini PS, Driusso P. Eletroestimulação intravaginal para o tratamento da incontinência urinária de esforço: revisão sistemática. **Femina**. 2011; 39 (4): 223-30.
20. Vonthein R, Heimerl T, Schwandner T, Ziegler A. Electrical stimulation and biofeedback for the treatment of fecal incontinence: a systematic review. **Int J Colorectal Dis**. 2013; 28: 1567–77.
21. Shafik A, Shafik I, El-Sibai O, Shafik AA. Effect of external anal sphincter contraction on the ischiocavernosus muscle and its suggested role in the sexual act. **Journal of Andrology**. 2006; 27(1): 40-4.
22. Andersen JL, Schjerling P, Saltin B. Muscle, genes and athletic performance. **Sci. Am**. 2000; 283(3): 48-55.
23. Franco GR, Oliveira E, Baracat EC, Simões MJ, Sartoria MGF, Girão MJBC, et. al. Histomorphometric analysis of a rat bladder after electrical stimulation. **Rev Assoc Med Bras**. 2011; 57(1): 20-4.
24. Camargo ALM, Sarlino GRF, Gomes RCT, Simões RS, Castro RA, Girão MJBC. Aspectos morfológicos da uretra de ratas após eletroestimulação do assoalho pélvico. **Rev Bras Ginecol Obstet**. 2013; 35 (4): 159-63.
25. Bucci M, Vinagre EC, Campos GER, Curi R, Pithon-Curi TC. Efeitos do treinamento concomitante hipertrofia e endurance no músculo esquelético. **R. bras. Ci e Mov**. 2005; 13(1): 17-28.
26. Brito MKM, Filho JCSC, Vanderlei LCM, Tarumoto MH, Giacometti JA. Dimensões geométricas das fibras do músculo sóleo de ratos exercitados em esteira rolante: a importância da análise por meio de imagens digitalizadas. **Rev Bras Med Esporte**. 2006; 12 (2): 103-07.
27. Dubowitz V. Histological and histochemical stains and reactions. **Muscle biopsy: a modern approach**. 1973; 20-102.

28. Jung KW, Yang DH, Yoon IJ, Seo SY, Koo HS, Lee HJ, et.al. Electrical Stimulation Therapy in Chronic Functional Constipation: Five Years' Experience in Patients Refractory to Biofeedback Therapy and With Rectal Hyposensitivity. **J Neurogastroenterol Motil.** 2013; 19(3): 366-373.
29. Holzer B, Rosen HR, Novi G, Ausch C, Holbling N, Schiessel R. Sacral nerve stimulation for neurogenic faecal incontinence. **Br J Surg.** 2007; 94: 749-53.