

Lesão muscular induzida por eletroestimulação neuromuscular (EENM) com frequências de 30 Hz e 100 Hz

Muscle damage induced by neuromuscular electrical stimulation (NMES) with frequencies of 30 Hz and 100 Hz

Marina Tessarolo Souza¹, Wladimir Musetti Medeiros²

RESUMO

A eletroestimulação-neuromuscular (EENM) é a ação de estímulos elétricos terapêuticos sobre o tecido muscular, visando a contração muscular e consequentemente a melhora dos status muscular. **Objetivo:** Avaliar a lesão muscular decorrente da contração muscular isométrica induzida por meio da EENM de baixa frequência (30 Hz) e de alta frequência (100 Hz). **Métodos:** Estudo experimental tipo Cross-over, randomizado e não cego. Participaram do estudo 10 universitários voluntários, gênero masculino, idade de $24,4 \pm 6,0$ anos, peso de $77,1 \pm 11,8$ kg, altura de $176,1 \pm 5,6$ cm e IMC de $24,8 \pm 3,4$ kg/m². Dois protocolos (A) e (B) com intervalo de 7 dias entre eles. (A) - 20 minutos de EENM no quadríceps com frequência de 30 Hz. (B) - 20 minutos de EENM com frequência de 100 Hz. Analisado lactato, creatinafosfoquinase e desidrogenase láctica antes, imediatamente após, 6h e 48h após os protocolos. **Resultados:** Comparando 30 Hz vs. 100 Hz observou-se: lactato ($23,7 \pm 6,7$ vs. $13,4 \pm 3,0$ mg/dL, $p = 0,001$); CPK ($195,4 \pm 116,1$ vs. $262,9 \pm 153,6$ UI, $p = 0,022$); DHL ($374,3 \pm 64$ vs. $366,6 \pm 84,1$ UI, ns). A percepção de eficiência contrátil diminuiu significativamente ($p = 0,016$) no protocolo com 100 Hz. **Conclusão:** Tanto a EENM de baixa frequência (30 Hz) quanto de alta frequência (100 Hz) elevam os marcadores sanguíneos de lesão muscular, sendo esta elevação, ainda mais acentuada na alta frequência. Entretanto os valores alcançados refletem uma resposta normal para um exercício de moderada intensidade.

Palavras-chave: Estimulação Elétrica, Músculo Esquelético, Creatina Quinase, Lactato Desidrogenases

ABSTRACT

Neuromuscular electrical stimulation (NMES) is the action of therapeutic electrical stimulation on muscle tissue in order to contract the muscle and consequently improve the muscle status. **Objective:** To evaluate the muscle damage stemming from isometric muscle contraction induced by NMES of low frequency (30 Hz) and high frequency (100 Hz). **Methods:** Experimental crossover study, randomized, unblinded. The study included 10 male college students, age 24.4 ± 6.0 years, weight 77.1 ± 11.8 kg, height 176.1 ± 5.6 cm, and BMI of 24.8 ± 3.4 kg/m². Two protocols (A) and (B) with an interval of 7 days between them. (A) - 20 minutes of NMES in the quadriceps at a frequency of 30 Hz (B) - 20 minutes of NMES at a frequency of 100 Hz. Measured lactate, creatine phosphokinase and lactate dehydrogenase before, immediately after, and 6 and 48 hours after the protocols. **Results:** Comparing 30 Hz vs. 100 Hz the following were observed: lactate (23.7 ± 6.7 vs. 13.4 ± 3.0 mg/dl, $p = 0.001$); CPK (195.4 ± 116.1 vs. 262.9 ± 153.6 IU, $p = 0.022$); LDH (374.3 ± 64 vs. 366.6 ± 84.1 IU, ns). The perception of contractile efficiency decreased significantly ($p = 0.016$) in the 100 Hz Protocol. **Conclusion:** Both the low-frequency NMES (30 Hz) and the high-frequency (100 Hz) elevate blood markers of muscle damage, most strikingly at the higher frequency. However, the achieved values reflect a normal response to a moderate-intensity exercise.

Keywords: Electric Stimulation, Muscle, Skeletal, Creatine Kinase, Lactate Dehydrogenases

¹ Fisioterapeuta, Docente da Universidade de Santo Amaro - UNISA.

² Doutor em Cardiologia, Pós doutorando no Setor de Função Pulmonar e Fisiologia Clínica do Exercício, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP.

Endereço para correspondência:
Setor de Função Pulmonar e Fisiologia Clínica
do Exercício (SEFICE)
Wladimir Musetti Medeiros
Rua Professor Francisco de Castro, 56
São Paulo - SP
CEP 04020-050
E-mail: wmusettimedeiros@hotmail.com

Recebido em 03 de Fevereiro de 2015.

Aceito em 27 Março de 2015.

DOI: 10.5935/0104-7795.20150005

INTRODUÇÃO

A eletroestimulação neuromuscular (EENM) é a ação de estímulos elétricos terapêuticos, aplicados sobre o tecido muscular, visando contrações musculares que produzem torques de 25 a 90% da contração voluntária máxima, tanto em indivíduos saudáveis quanto doentes.¹⁻³ Seu uso terapêutico visa principalmente acelerar processos de recuperação, ganho de função muscular, melhora do condicionamento físico geral e da qualidade de vida. Evidenciando resultados positivos quanto ao restabelecimento da força, endurance e hipertrofia muscular.¹

Dois importantes parâmetros, intensidade e frequência, podem ser modulados para uma eficiente produção de força durante a aplicação da EENM. A frequência é a taxa de pulsos por segundo que são aplicadas na musculatura e é expressa em pulsos por segundo (pps) ou Hertz (Hz). Estudos têm demonstrado que a EENM de baixa frequência (EENM-bf) promove a melhora da resistência muscular localizada,⁴ enquanto que a EENM de alta frequência (EENM-af) melhora a força muscular.⁵ Alguns autores estabelecem que a estrutura das fibras musculares muda após estimulação por um longo período em função da frequência utilizada, ou seja, EENM com baixa frequência (< 50 Hz) induz a uma diferenciação das fibras musculares rápidas (glicolíticas) para lentas (oxidativas),⁶⁻⁸ enquanto que a estimulação com alta frequência (acima 50 Hz), embora não tão bem documentada, induz a uma diferenciação para fibras lentas para rápidas.⁸⁻¹¹ Desta forma, a frequência utilizada na EENM é fator de extrema relevância dentro do objetivo terapêutico ou esportivo (força e/ou resistência muscular) a ser alcançado.

Contudo, a contração muscular induzida por meio da EENM está, a princípio, sujeita aos mesmos mecanismos lesivos presentes nos exercícios voluntários,¹² podendo desta forma, contribuir negativamente com programas de reabilitação e treinamento físico. Estudos tem comparado a lesão muscular da EENM com a lesão muscular induzida por exercícios isométricos,¹³ exercícios excêntricos¹⁴ e entre diferentes modalidade de correntes elétricas terapêuticas.¹⁵ Entretanto não se tem dado a mesma atenção ao uso de diferentes frequências de EENM.

OBJETIVO

Este estudo objetivou avaliar a lesão muscular decorrente da contração muscular isométrica induzida por meio da EENM de baixa frequência (30 Hz) e de alta frequência (100 Hz).

MÉTODO

Esta pesquisa é um estudo experimental do tipo Cross-over, randomizado, não cego e foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Universidade de Santo Amaro. Todos os participantes foram informados quanto aos procedimentos e riscos presentes e posteriormente assinaram o termo de consentimento livre esclarecido.

A casuística foi composta por 8 universitários do sexo masculino, saudáveis, não treinados, não usuários de qualquer tipo de medicação, sem história de doença ósteo-muscular recente. O processo de seleção do grupo amostral foi aleatório e voluntário através de convite verbal e aceitação.

A população amostral foi submetida a duas etapas experimentais com intervalo de uma semana entre elas: Etapa I na qual os indivíduos foram submetidos a 20 minutos de eletroestimulação neuromuscular com frequência de 30 Hz; Etapa II na qual os indivíduos foram submetidos a 20 minutos de eletroestimulação neuromuscular com frequência de 100 Hz. A musculatura extensora do joelho foi estimulada através de quatro eletrodos posicionados no terço médio e na porção proximal do ventre do músculo vasto lateral, no terço médio do músculo vasto medial e na porção proximal do reto femoral. Utilizou-se um gerador de correntes (Dualpex® 961 Sport - Quark Produtos Médicos, Brasil), adotando-se uma corrente pulsada bifásica simétrica e retangular com pulso de 500 µseg e frequência de 30 Hz ou 100 Hz, com um ciclo on/off de 10"/10". Utilizou-se os eletrodos autoadesivos de superfície da marca PALS® modelo Platinum, formato retangular com tamanho de 5x9 cm. No início da fase EE aplicou-se a mais alta intensidade de corrente tolerada pelos voluntários e reajustes foram realizados a cada 5 minutos. Os valores médios iniciais e finais da intensidade são apresentados na Tabela 1.

Em ambas etapas (30 Hz ou 100 Hz) foi realizado um acesso sanguíneo na veia do

antebraço no membro dominante para avaliação do Lactato, Desidrogenase Láctica (DHL) e Creatinoquinase (CK). Posteriormente, os indivíduos foram mantidos sentados com flexão de 75° da articulação coxofemoral e semiflexão da articulação do joelho por 15 minutos, seguido de uma coleta de sangue (8 ml), denominado fase de Repouso. Após a fase de Repouso os indivíduos foram submetidos a 20 minutos de EENM, imediatamente após o término desta foi realizado uma nova coleta sanguínea (8 ml), sendo denominada fase EENM. Ao término da fase EE os indivíduos permaneceram em repouso por mais 20 minutos, sendo esta denominada fase de Recuperação. Novas coletas sanguíneas foram realizadas 6 e 48 horas após a EENM para avaliação da CK e DHL.

Para a análise do lactato, CK e DHL utilizou-se do espectrofotômetro (Cobas Mira Plus; Roche®). Para o lactato utilizou-se e uma amostra de 3 ml de sangue venoso em tubo fluoretado (kit da Katal Biotecnologia®). Valor de referência em repouso no plasma venoso: 5,7 a 22,0 mg/dl.¹⁶ Para a CK utilizou-se 1,0 ml de plasma venoso heparinizado (kit Bioclin®). Valor de referência em repouso no plasma venoso: homens = 24 a 195 U/l.¹⁷ Utilizou-se 1,0 ml de plasma venoso heparinizado (kit BioTécnica®) para a mensuração de DHL. Valor de referência em repouso no plasma venoso: 225 a 450 U/l.¹⁷

Durante as fases de Repouso, EENM e Recuperação foi mensurada a frequência cardíaca, pressão arterial e desconforto pela escala *10-point Borg category-ratio* (CR10) a cada 5 minutos. A perimetria e dobra cutânea foram mensuradas ao termino de cada fase e tendo como referência as distâncias de 5 e 20 cm acima do polo superior da patela de ambos os membros inferiores. Para a perimetria foi utilizada uma fita métrica e para dobra cutânea foi utilizado um compasso de dobra cutânea marca *Accu-measure*.

A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de normalidade Shapiro-Wilk. As variáveis estudadas são representadas por suas médias e desvio-padrão. Para a comparação entre as etapas I (30 Hz) e II (100 Hz) e entre os momentos utilizou-se a ANOVA seguido do post hoc de Scheffe e o teste *t-Student* pareado para os dados paramétricos. Os dados não paramétricos foram comparados por meio do teste de teste de Kruskal-Wallis seguido do *post hoc* de pairwise comparisons e o Teste de Wilcoxon.

Tabela 1. Alterações antropométricas e ajustes dos parâmetros de EENM

	30 Hz		100 Hz		ANOVA <i>p</i> =
	Inicial	Final	Inicial	Final	
Perimetria proximal (cm)	56.5 ± 3.9	58.1 ± 4.0	57.0 ± 3.5	58.8 ± 3.7	0.670
Perimetria distal (cm)	44.9 ± 3.6	46.4 ± 3.4	45.0 ± 3.3	46.5 ± 3.1	0.662
DC proximal (mm)	20.0 ± 4.7	20.0 ± 4.7	21.0 ± 5.2	21.0 ± 5.2	0.954
DC distal (mm)	17.3 ± 3.8	17.3 ± 3.8	17.3 ± 4.1	17.3 ± 4.1	0.998
Intensidade (mA)	36.8 ± 8.7	51.8 ± 8.9	30.8 ± 8.8	45.3 ± 9.5	0.001
IP (mA.ms) ³	18.4 ± 4.3	25.9 ± 4.4	15.4 ± 4.4	22.6 ± 4.8	0.001

Dados apresentados como média ± desvio padrão. DC: Dobra cutânea; IP: produto Intensidade vs. Pulso. Análise de variância ANOVA

O software SPSS 20.0 (SPSS™, Chicago, IL) foi utilizado para a análise estatística. O nível de significância utilizado foi de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Os indivíduos avaliados apresentaram as seguintes características: idade de 24,4 ± 6,0 anos, peso de 77,1 ± 11,8 kg, altura de 176,1 ± 5,6 cm e IMC de 24,8 ± 3,4 kg/m². A Tabela 1 apresenta as alterações antropométricas e os ajustes na EENM. Observou-se alterações significativas apenas nos ajustes da EENM, em ambas as frequências observou-se um aumento significativo na intensidade entre o início e o final da EENM (30 Hz: 36,8 ± 8,7 vs. 51,8 ± 8,9, $p = 0,023$) e (100 Hz: 30,8 ± 8,8 vs. 45,3 ± 9,5, $p = 0,029$). Observou-se o mesmo comportamento no produto Intensidade vs. Pulso (IP) (30 Hz: 18,4 ± 4,3 vs. 25,9 ± 4,4, $p = 0,023$) e (100 Hz: 15,4 ± 4,4 vs. 22,6 ± 4,8, $p = 0,029$).

Valores absolutos das alterações de CK são apresentados na Figura 1A. No protocolo de 30 Hz observou-se aumentos de 14,2 ± 8,5% e 37,4 ± 13,4% e no protocolo de 100 Hz aumentos 28,4 ± 53,6% e 85,0 ± 55,1% após 6 e 48 horas respectivamente (Figura 1B). Diferenças entre os protocolos de 30 Hz e 100 Hz foram observadas apenas após 48 horas, tanto em valores absolutos quanto em delta percentual.

As alterações na DHL em valores absolutos podem ser observadas na Figura 2A. A DHL elevou-se 9,5 ± 2,7% e 26,3 ± 14,3% no protocolo de 30 Hz e 30,2 ± 16,7% e 41,2 ± 16,1% após 6 e 48 horas respectivamente (Figura 2B). Diferenças entre os protocolos de 30 Hz e 100 Hz não foram observadas quando analisados os valores absolutos. Contudo, ao analisarmos os valores em delta percentual observou-se maiores elevações no protocolo de 100 Hz. Tanto 6 horas quanto 48 horas após a EENM (Figura 2B).

Em ambos os protocolos observou-se elevações significativas do lactato. Diferenças

entre os protocolos estiveram presentes tanto em valores absolutos (Figura 3A) quanto em delta percentual (Figura 3B).

Não observou-se diferenças significativas na percepção de desconforto (CR10 - Borg) tanto quando comparados os momentos quanto os protocolos (Figura 4A). Porém diferenças significativas foram observadas na percepção da eficiência contrátil (Figura 4B).

DISCUSSÃO

Os principais achados do presente estudo foram: i - o significativo aumento dos marcadores de lesão muscular (DHL e CPK) após a aplicação da EENM. ii - a elevação mais acentuada da CPK na EENM-af. iii - o significativo aumento do ácido láctico com a EENM-bf.

Elevação dos marcadores de lesão muscular

A elevação dos marcadores de lesão muscular é uma resposta comum ao exercício muscular voluntário ou eletricamente induzido. Diversos estudos têm observado importantes alterações histológicas tais como ruptura da linha Z, infiltração de macrófagos e lesão nos filamentos de desmina.^{12,13,18} Se faz necessário a observação que os estudos de Aldayel et al.¹² e Mackey et al.¹⁸ utilizaram, respectivamente, 45 minutos de EENM e 180 contrações musculares. Uma carga de exercício que, independentemente da presença da EENM, já seria suficiente para causar micro lesões musculares.¹⁹

Contudo, Jubeau et al.¹³ ao comparar 40 contrações musculares induzidas por meio da EENM com 40 contrações voluntárias no mesmo torque obtido na EENM observou maiores valores de CPK na EENM.¹³ Semelhantemente, um estudo que comparou 50 contrações musculares induzidas por EENM ou voluntariamente observou, imediatamente após as contrações, um maior decréscimo da força gerada na CVM.²⁰

Esta redução na força obtida na contração voluntária máxima ou em qualquer outro modo de contração muscular é considerado o melhor marcador de lesão muscular.²¹ Desta forma, a elevação dos marcadores sanguíneos de lesão muscular parece ser uma resposta normal após contrações musculares induzidas por meio da EENM.

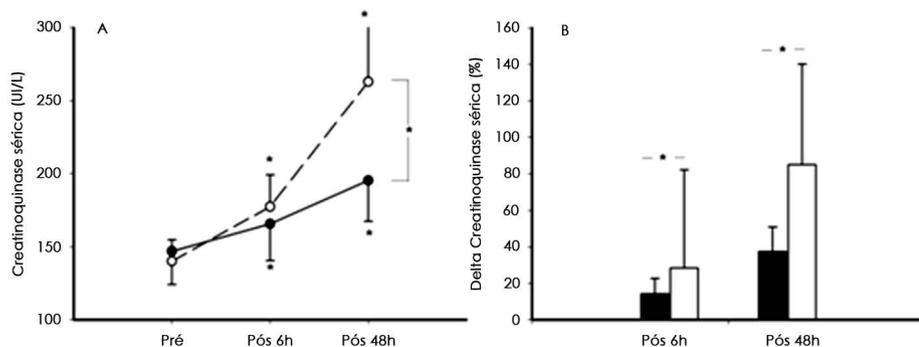
Embora a elevação de CPK e DHL refletia algum grau de ruptura da membrana celular ou alteração da sua permeabilidade, não obrigatoriamente caracteriza uma lesão muscular. Existe um consenso de que uma elevação na CPK, pós exercício físico, de até 500 UI é considerada normal.²² A impossibilidade de classificar as alterações de CPK e DHL do presente estudo, como lesão muscular, ficam mais evidentes ao observamos os estudos que avaliaram a resposta ao exercício físico extenuante e de alta intensidade.

Após exercícios prolongados como provas de maratona ou triatlo, os níveis de DHL dobram e de CPK podem aumentar 15 vezes e permanecer alterados por semanas.²³ Após exercícios resistidos de alta intensidade têm-se observado valores de CPK de 1349 UI para indivíduos treinados e 3272 UI para sedentários.²² Desta forma, os dados do presente estudo apontam para uma resposta normal, na elevação de CPK e DHL após a EENM.

EENM de baixa versus alta frequência

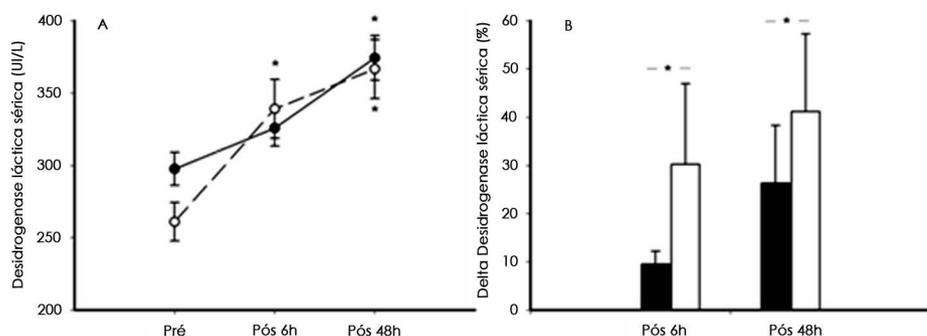
Ao compararmos alta e baixa frequência observou-se uma elevação mais acentuada da CPK na EENM-af (Figura 1). Os seguintes mecanismos podem explicar este achado: i - A relação força-frequência demonstra que o aumento nos valores de frequência resulta em maiores valores de força,²⁴ consequentemente, maior estresse mecânico sobre a fibra muscular. ii - estudos têm demonstrado que independente do recrutamento randômico e espacial dependente, a EENM pode apresentar algum grau de recrutamento seletivo das unidades motoras.

Cabric et al.²⁵ observou, nas fibras do tipo II, aumento do tamanho da fibra, do volume nuclear e aumento da fração mitocondrial ao submeter jovens universitários a EENM-af.²⁵ Um recrutamento preferencial das unidades motoras de contração rápida (fibras tipo II) também foi observado por Trimble et al.²⁶ A relevância do recrutamento preferencial das fibras tipo II na EENM-af para os resultados do presente estudo, reside no fato de que as fibras do tipo II, com baixa capacidade oxidativa, são mais susceptíveis a lesão pós exercício físico.²⁷



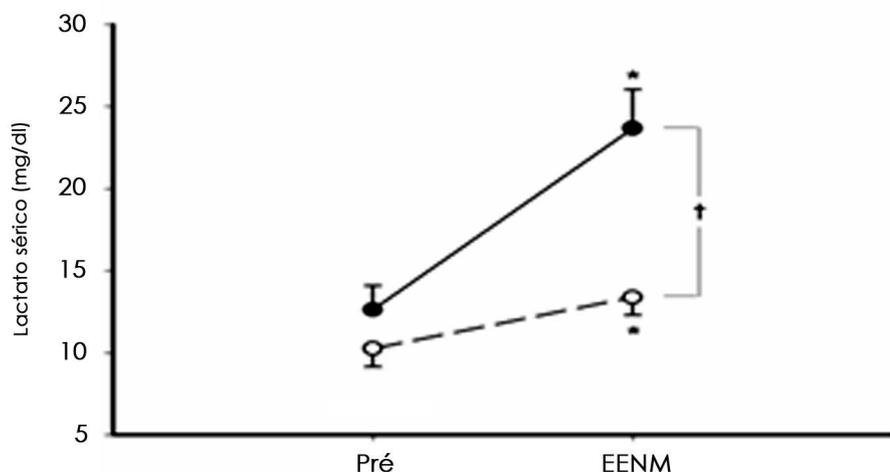
Símbolos pretos para 30 Hz e símbolos brancos para 100 Hz. Note a diferença significativa nos deltas de CPK no protocolo com 100 Hz (B). * $p < 0,05$ na análise intergrupo comparado aos valores de repouso. † $p < 0,05$ na análise entre grupos

Figura 1. Comportamento da Creatinoquinase sérica em função do tempo (A)



Símbolos pretos para 30 Hz e símbolos brancos para 100 Hz. Note a diferença significativa nos deltas de DHL no protocolo com 100 Hz (B). * $p < 0,05$ na análise intergrupo comparado aos valores de repouso. † $p < 0,05$ na análise entre grupos

Figura 2. Comportamento da Desidrogenase láctica sérica em função do tempo (A)



Símbolos pretos para 30 Hz e símbolos brancos para 100 Hz. * $p < 0,05$ na análise intergrupo comparado aos valores de repouso. † $p < 0,05$ na análise entre grupos

Figura 3. Comportamento do Lactato sérico antes e imediatamente após o término da EENM

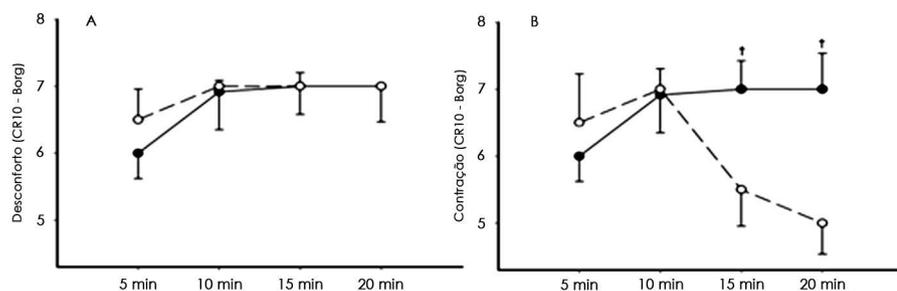
Já está bem documentado que a ordem de recrutamento não seletiva, espacial dependente e o padrão sincrônico das unidades motoras, quando utilizado a EENM, contribuem para uma mais rápida fadiga e importantes diferenças metabólicas quando comparado ao exercício voluntário para um mesmo torque gerado.²⁸ Entretanto, não se tem observado diferenças significativas em diversos parâmetros sistêmicos e locais, tais como VO_2 , ventilação, frequência cardíaca, dispneia, microcirculação e saturação tecidual de O_2 quando comparado a alta frequência versus baixa frequência,^{29,30} sugerindo uma mesma efetividade contrátil e metabólica tanto na alta quanto na baixa frequência. Entretanto, observou-se no presente estudo uma maior formação de lactato na EENM-bf.

Ao convertemos os dados de lactato do presente estudo em mmol/L, obtemos 2.6 ± 0.7 mmol/L e 1.5 ± 0.3 mmol/L para a EENM-bf e EENM-af respectivamente. Estes resultados são semelhantes aos observados por Aldayel et al.¹⁵ 2.1 ± 0.1 mmol/L e 2.6 ± 0.2 mmol/L ao comparar a EENM com corrente alternada e corrente pulsada respectivamente.¹⁵

Este comportamento pode ser justificado não por uma maior eficiência contrátil da EENM-bf, mas sim pela fadiga precoce da EENM-af. Hipótese esta que não pode ser confirmado com os dados do presente estudo. Como citado anteriormente, maiores valores de frequência resultam em maiores valores de força, porém, com maiores níveis de fadiga.²⁴

Desta forma, contrações musculares mais vigorosas seguidas de uma menor resposta contrátil devido a fadiga precoce poderiam justificar uma menor formação de lactato ao término do protocolo de EENM-af. Dois aspectos podem justificar essa hipótese: i - a significativa elevação da CPK na EENM-af (Figura 1), ii - os menores valores de percepção subjetiva da intensidade de contração muscular nos dez minutos finais da EENM-af, mesmo diante de valores semelhantes de percepção subjetiva de desconforto e de intensidade (mA) (Figura 4).

Kesar et al.³¹ ao comparar 30 Hz versus 60 Hz observou um declínio na força gerada significativamente maior na frequência de 60 Hz.³¹ Semelhantemente, Gregory et al.²⁴ também observou uma queda mais acentuada no torque gerado e uma maior fadiga na alta frequência.²⁴



Símbolos pretos para 30 Hz e símbolos brancos para 100 Hz. Note a significativa redução da eficiência contrátil no protocolo de 100 Hz (B) sem alterações na percepção de desconforto (A). * $p < 0,05$ na análise intergrupo comparado aos valores de repouso. † $p < 0,05$ na análise entre grupos

Figura 4. Percepção de desconforto (A) e da eficiência contrátil (B) durante a aplicação da EENM

CONCLUSÃO

A contração muscular induzida tanto pela EENM de baixa quanto de alta frequência induzem a elevação dos marcadores sanguíneos de lesão muscular. A maior elevação de DHL na EENM de alta frequência, mesmo diante de uma menor acidose e resposta contrátil, deve ser considerada sob a luz das características do protocolo adotado, tais como a intensidade suportável por um longo período. Os valores observados permitem que os dois modelos de intervenção podem ser usados em programas de reabilitação.

REFERÊNCIAS

- Maddocks M, Gao W, Higginson IJ, Wilcock A. Neuromuscular electrical stimulation for muscle weakness in adults with advanced disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;1:CD009419.
- Medeiros WM, Fernandes MC, Azevedo DP, Freitas FF, Amorim BC, Chiavegato LD, et al. Oxygen delivery-uptake mismatch in contracting locomotor muscle in COPD: peripheral factors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2015;308(2):R105-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00404.2014>
- Selkowitz DM. Improvement in isometric strength of the quadriceps femoris muscle after training with electrical stimulation. *Physical therapy.* 1985;65(2):186-96.
- Nuhr MJ, Pette D, Berger R, Quittan B, Crevenna R, Huelsman M, et al. Beneficial effects of chronic low-frequency stimulation of thigh muscles in patients with advanced chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2004;25(2):136-43. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ehj.2003.09.027>
- Quittan B, Wiesinger GF, Sturm B, Puig S, Mayr W, Sochor A, et al. Improvement of thigh muscles by neuromuscular electrical stimulation in patients with refractory heart failure: a single-blind, randomized, controlled trial. *Am J Phys Med Rehabil.* 2001;80(3):206-14. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/00002060-200103000-00011>
- Pette D. Fiber transformation and fiber replacement in chronically stimulated muscle. *J Heart Lung Transplant.* 1992;11(5):S299-305.

- Pette D. Fiber transformation and fiber replacement in chronically stimulated muscle. *J Heart Lung Transplant.* 1992;11(5):S299-305.
- Sillen MJ, Franssen FM, Gosker HR, Wouters EF, Spruit MA. Metabolic and structural changes in lower-limb skeletal muscle following neuromuscular electrical stimulation: a systematic review. *PLoS One.* 2013;8(9):e69391. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0069391>
- Gorza L, Gundersen K, Lømo T, Schiaffino S, Westgaard RH. Slow-to-fast transformation of denervated soleus muscles by chronic high-frequency stimulation in the rat. *J Physiol.* 1988;402:627-49. DOI: <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.1988.sp017226>
- Pette D, Vrbová G. What does chronic electrical stimulation teach us about muscle plasticity? *Muscle Nerve.* 1999;22(6):666-77.
- Zhang SY, Wang FM, Liu G, Wang DL, Guo XJ, Qian GS. Adaptation of myofibrilla, MHC and metabolic enzyme of rabbit diaphragm muscle to different frequency chronic electrical stimulation. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi.* 2005;21(4):367-70.
- Aldayel A, Jubeau M, McGuigan MR, Nosaka K. Less indication of muscle damage in the second than initial electrical muscle stimulation bout consisting of isometric contractions of the knee extensors. *Eur J Appl Physiol.* 2010;108(4):709-17. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-009-1278-0>
- Jubeau M, Sartorio A, Marinone PG, Agosti F, Van Hoecke J, Nosaka K, et al. Comparison between voluntary and stimulated contractions of the quadriceps femoris for growth hormone response and muscle damage. *J Appl Physiol (1985).* 2008;104(1):75-81. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00335.2007>
- Hansen M, Trappe T, Cramer RM, Qvortrup K, Kjaer M, Langberg H. Myofibrillar proteolysis in response to voluntary or electrically stimulated muscle contractions in humans. *Scand J Med Sci Sports.* 2009;19(1):75-82. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0838.2007.00766.x>
- Aldayel A, Jubeau M, McGuigan M, Nosaka K. Comparison between alternating and pulsed current electrical muscle stimulation for muscle and systemic acute responses. *J Appl Physiol (1985).* 2010;109(3):735-44. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00189.2010>
- Shimojo N, Naka K, Nakajima C, Yoshikawa C, Okuda K, Okada K. Test-strip method for measuring lactate in whole blood. *Clin Chem.* 1989;35(9):1992-4.
- Société Française de Biologie Clinique. Enzymology Commission. Recommendations. *Ann Biol Clin (Paris).* 1982;40(2):87-164.

- Mackey AL, Bojsen-Moller J, Qvortrup K, Langberg H, Suetta C, Kalliokoski KK, et al. Evidence of skeletal muscle damage following electrically stimulated isometric muscle contractions in humans. *J Appl Physiol (1985).* 2008;105(5):1620-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.90952.2008>
- Lavender AP, Nosaka K. A light load eccentric exercise confers protection against a subsequent bout of more demanding eccentric exercise. *J Sci Med Sport.* 2008;11(3):291-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsams.2007.03.005>
- Jubeau M, Muthalib M, Millet GY, Maffiuletti NA, Nosaka K. Comparison in muscle damage between maximal voluntary and electrically evoked isometric contractions of the elbow flexors. *Eur J Appl Physiol.* 2012;112(2):429-38. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-011-1991-3>
- Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB. Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. *Sports Med.* 1999;27(1):43-59. DOI: <http://dx.doi.org/10.2165/00007256-199927010-00004>
- Vincent HK, Vincent KR. The effect of training status on the serum creatine kinase response, soreness and muscle function following resistance exercise. *Int J Sports Med.* 1997;18(6):431-7.
- Kobayashi Y, Takeuchi T, Hosoi T, Yoshizaki H, Loeppky JA. Effect of a marathon run on serum lipoproteins, creatine kinase, and lactate dehydrogenase in recreational runners. *Res Q Exerc Sport.* 2005;76(4):450-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/02701367.2005.10599318>
- Gregory CM, Dixon W, Bickel CS. Impact of varying pulse frequency and duration on muscle torque production and fatigue. *Muscle Nerve.* 2007;35(4):504-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/mus.20710>
- Cabric M, Appell HJ, Resic A. Fine structural changes in electrostimulated human skeletal muscle. Evidence for predominant effects on fast muscle fibres. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1988;57(1):1-5. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00691229>
- Trimble MH, Enoka RM. Mechanisms underlying the training effects associated with neuromuscular electrical stimulation. *Phys Ther.* 1991;71(4):273-80.
- Friden J, Lieber RL. Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. *Med Sci Sports Exerc.* 1992;24(5):521-30. DOI: <http://dx.doi.org/10.1249/00005768-199205000-00005>
- Bickel CS, Gregory CM, Dean JC. Motor unit recruitment during neuromuscular electrical stimulation: a critical appraisal. *Eur J Appl Physiol.* 2011;111(10):2399-407. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-011-2128-4>
- Sillen MJ, Wouters EF, Franssen FM, Meijer K, Stakenborg KH, Spruit MA. Oxygen uptake, ventilation, and symptoms during low-frequency versus high-frequency NMES in COPD: a pilot study. *Lung.* 2011;189(1):21-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00408-010-9265-0>
- Angelopoulos E, Karatzanos E, Dimopoulos S, Mitsiou G, Stefanou C, Patsaki I, et al. Acute microcirculatory effects of medium frequency versus high frequency neuromuscular electrical stimulation in critically ill patients - a pilot study. *Ann Intensive Care.* 2013;3(1):39. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2110-5820-3-39>
- Kesar T, Binder-Macleod S. Effect of frequency and pulse duration on human muscle fatigue during repetitive electrical stimulation. *Exp Physiol.* 2006;91(6):967-76. DOI: <http://dx.doi.org/10.1113/expphysiol.2006.033886>