

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS UMUARAMA**

**CORRENTE ELÉTRICA POSITIVA ALTERNADA
NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS
DE CAMUNDONGOS**

**Ivolando Marques Ferreira
Médico Veterinário**

**UBERLÂNDIA - MINAS GERAIS - BRASIL
DEZEMBRO DE 2005**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS UMUARAMA**

**CORRENTE ELÉTRICA POSITIVA ALTERNADA
NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS
DE CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária, UFU, como parte das exigências para obtenção do título de Mestrado em Ciências Veterinárias – Clínica e Cirurgia.

Autor: Ivolando Marques Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Duvaldo Eurides

Co-orientador: Prof. Dr. Frederico Ozanam Carneiro e Silva

**Uberlândia - Minas Gerais - Brasil
DEZEMBRO DE 2005**

“Se pudesse deixar algum presente a você, deixaria aceso o sentimento de amar a vida. A consciência de aprender tudo o que foi ensinado pelo tempo. Lembraria os erros que foram cometidos para que não mais se repetisse. A capacidade de escolher novos rumos”.

“Deixaria para você, se pudesse, o respeito àquilo que é indispensável, além do trabalho a ação. E quando tudo mais faltasse, um segredo: o de buscar no interior de se mesmo a resposta e a força para encontrar a saída”.

Mahatma Gandhi

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

IVOLANDO MARQUES FERREIRA, nascido em 22 de janeiro de 1949, em Santa Vitória, MG, onde concluiu o primeiro grau e o segundo em Araraquara, SP. Formado em Ciências Biológicas pela Faculdade de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em fevereiro de 1976. Também é Médico Veterinário formado pela Faculdade de Medicina Veterinária (UFU), em dezembro de 1978. Desde abril 1979, atua como professor na Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia. Durante este período de atividade profissional, participou de vários cursos para atualização na sua área de trabalho. Em novembro de 2003, depois de aprovado em concurso de seleção, iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, na área de Clínica e Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária, UFU, sob orientação do professor Dr. Duvaldo Eurides.

DEDICO

*Aos meus pais, **Oswaldo Marques Ferreira (in memórian)** e **Laurentina Cândida da Silva**, por me mostrarem, com tanto amor e garra, o verdadeiro sentido da vida. Pelos ensinamentos no decorrer do percurso...*

OFEREÇO CARINHOSAMENTE

À minha esposa **Luzia Alves Correa Marques**, por estar presente nos momentos difíceis com um amor incondicional. Pelo estímulo, apoio e compreensão dos diversos momentos vividos durante este amadurecimento profissional.

Aos meus filhos, **Rodrigo, Thiago e Raphael**, carinhosos, amigos e companheiros, que representam o maior sentido de minha vida.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu co-orientador professor **Dr. Frederico Ozanam Carneiro e Silva** pelos ensinamentos em anatomia dos animais domésticos, apoio, incentivo e pela grande prestimosa ajuda na etapa final deste trabalho. Admiro sua seriedade e competência, dedicada à sua carreira profissional.

MINHA HOMENAGEM ESPECIAL

Ao meu orientador e amigo, professor **Dr. Duvaldo Eurides** pela confiança extrema e carinho até hoje a mim investida, desde os primeiros dias como aluno da graduação, e por ser um educador ainda acima do professor, pelo caráter pessoal e profissionalismo. O meio científico agradece e se engrandece com a sua presença.

Muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela forma como abre meus olhos para enxergar a vida a cada dia de um modo diferente, mais aprimorado, e pelos obstáculos propositados à minha frente.

Ao professor Dr. Marcelo Emílio Beletti, um excelente amigo e companheiro se desdobrou para ajudar com dedicação e paciência na leitura e interpretação histopatológica. Sempre com apoio incondicional.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Clínica e Cirurgia pelos ensinamentos e momentos agradáveis proporcionados durante nossa longa temporada na Faculdade de Medicina Veterinária.

Ao professor Vanderli Anacleto de Campos pela valiosa contribuição na análise estatística dos resultados deste estudo. Com certeza peça fundamental para finalização deste trabalho.

À equipe de trabalho, composta pelos acadêmicos Renata Camilli e Pablo Noleto, pela dedicação e esforço na execução das atividades de rotina desenvolvidas durante o período experimental.

À Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia por permitir a realização desse mestrado, para aprimoramento de meus conhecimentos em clínica e cirurgia.

Ao Instituto Vallée pela importante contribuição no fornecimento de gaiolas e animais para realização desse experimento.

Aos professores Dr. Alcimar Barbosa Soares e Adriano A. Pereira, do Laboratório de Engenharia Elétrica da Universidade Federal de Uberlândia, por oferecerem conhecimentos sobre o funcionamento do aparelho estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis.

Aos amigos da pós-graduação e técnicos administrativos, não podendo citar todos os nomes que foram companheiros em nossa jornada de trabalho, mas relacionados em meus pensamentos.

Aos técnicos administrativos do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, em especial aos senhores Rondino, João de Assis, João Batista, José Maria e Darcy, pela colaboração impar. Sem eles dificilmente se realizaria um experimento com essa complexidade.

E também aos técnicos administrativos do Laboratório de histologia, senhores Rui, Thiago e Helgio, pelo apoio indispensável no aprendizado da rotina de trabalho e na confecção das lâminas.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente colaboraram na realização desse experimento facilitando a realização de um sonho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
3. MATERIAL E MÉTODOS	06
3.1. Animais	06
3.2. Grupos experimentais	06
3.3. Anestesia	06
3.4. Contenção dos animais	07
3.5. Eletroestimulação	07
3.6 Avaliação macroscópica	07
3.7. Avaliação em microscopia de luz	08
3.8. Análise Estatística.....	08
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5. CONCLUSÕES	20
6. APÊNDICE	21
7. REFERÊNCIAS	22

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Média das áreas (mm ²) das feridas cutâneas de camundongos do subgrupo controle (I) e do tratado (II) com 2mA de corrente elétrica positiva alternada com eletro kinesis, no 7 ^o , 14 ^o e 21 ^o dias de pós-operatório (PO). Uberlândia, 2005.....	13
2	Epiderme, derme, celularidade e neovascularização de feridas cutâneas de camundongos do subgrupo controle e tratado com 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico, no 7 ^o , 14 ^o e 21 ^o dias de PO. Uberlândia, MG, 2005.	15

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico, utilizado no tratamento de feridas cutâneas no dorso de camundongos, com 2mA de corrente elétrica positiva alternada.	09
2. Estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico (A), conectado à plataforma com eletrodos (B) e camundongos contidos com ganchos revestidos com borracha na região cervicotorácica e lombosacra (C).	09
3. Camundongos contidos e submetidos a 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico. Nota-se os diapositivos utilizados para manter a mesma pressão dos eletrodos (a) sobre o dorso dos animais (setas).	10
4. Esquema representativo do período cíclico, ligado e desligado, da aplicação de 2mA de corrente elétrica positiva alternada, de 60 hertz, sete minutos por dia, durante 07, 14 e 21 dias, através do estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico, administrado em feridas de camundongos.	10
5. Ferida cutânea de camundongo tratada com 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico. Remoção de pele com a ferida da região dorsal do tórax, decorridos sete dias de pós-operatório.....	11

6. Fragmento de pele coletado da região do tórax de camundongo tratado com 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico (A), estendido e fixado sobre um papelão (B), decorrido sete dias de pós-operatório..... 11
7. Representação da média das áreas (mm²) das feridas cutâneas de camundongos do subgrupo controle e tratado com 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico, nos períodos de 7, 14 e 21 dias de pós-operatório. 14
8. Microfotografia da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos no 7^o dia de PO do subgrupo controle (A) e tratado com 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico (B). Nota-se em “A” inúmeros vasos sanguíneos (setas) e poucos polimorfonucleares. Em “B” grande quantidade de polimorfonucleares e poucos vasos sanguíneos (seta), HE, 100 X 16
9. Microfotografia da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos no 21^o dia de PO do subgrupo controle (A) e tratadas com 2mA de corrente elétrica positiva alternada com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico (B). Nota-se que a camada da derme e epiderme na área periférica (p) e central (c) da ferida do subgrupo controle se apresenta mais espessa em relação ao subgrupo tratado (HE – 100 X). 19

CORRENTE ELÉTRICA POSITIVA ALTERNADA NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS DE CAMUNDONGOS

RESUMO - Foram utilizados 36 camundongos, adultos, fêmeas para estudo da reparação tecidual de feridas cutâneas tratadas com estimulação elétrica de 2mA, durante sete minutos, uma vez ao dia, através do estimulador transcutâneo eletro Kinesis. Os animais foram distribuídos, aleatoriamente, em três grupos de igual número, sendo subdividido em subgrupo controle (I) e tratado (II). Foram submetidos à remoção circular de pele de 10,0mm na região dorsal do tórax e as feridas foram avaliadas no 7º, 14º e 21º dias de pós-operatório (PO). A redução da área das feridas dos animais do subgrupo tratado não superou, significativamente, a redução da área das feridas do subgrupo controle, sendo observado inúmeros fibroblastos e vasos sanguíneos, intensas hemorragias e presença moderada de plasmócitos e polimorfonucleares. Nos animais tratados a derme e a epiderme se encontravam delgadas, com maior quantidade de polimorfonucleares. A administração de 2mA, durante sete minutos, em ferida cutânea de camundongos induz a formação de uma derme e epiderme delgada. O aspecto final da cicatriz das feridas tratadas e não tratadas é semelhante.

Palavras-chave: camundongos, cicatrização, eletro-estimulação, ferida

ALTERNATING POSITIVE ELECTRIC CHAIN IN THE TREATMENT OF CUTANEOUS WOUNDS OF MICE

ABSTRACT - Thirty six female mice had been used to study the repairing of cutaneous wounds which was treated with seven minute electric stimulation of 2mA a day, by using the transcutaneous kinesis stimulator. They had been distributed in three groups of equal number, being subdivided in sub-groups which have been named: controlled (I) and treatment (II). The animals had been submitted to the circular removal of skin of 10,0mm in the dorsal region of the thorax and the wounds had been evaluated in 7th, 14th and 21th days of postoperative (PO). The reduction area of the wounds of the treated sub-group significantly did not surpass the area related to wounds of the controlled sub-group. In the wounds of the controlled group, it was observed innumerable sanguineous vases, intense hemorrhages, intense presence of fibroblasts, moderate of plasmocytes and polymorfonuclears. In the ones of the treated animals dermal and the epidermis met thin with bigger amount of polymorfonuclears. The administration of 2mA, during seven minutes, in cutaneous wound of mice induces the formation of a dermal and thin epidermis. The final aspect of the scar of the wounds of the treated and controlled animals was distinctly similar.

Keywords: mice, healing, electric-stimulation, wound

1. INTRODUÇÃO

A pele é um dos maiores órgãos do corpo, podendo atingir 16% do peso corporal dos animais (BAUER & AIKEN, 1989). Possui múltiplas funções como proteção do organismo contra a perda de água e atritos, armazenamento de gordura, carboidratos e proteínas. Participa da termo-regulação corporal, formação de vitamina D3, respostas imunitárias aos alérgenos, receptor sensorial e circulação sanguínea (GÜRTLER, *et al.*, 1976).

Ferida de pele é a interrupção na continuidade da proteção corporal que deixa o tegumento subjacente, normalmente estéril, exposto a qualquer tipo de contaminação (WALDRON & TREVOR, 1998).

O processo cicatricial é complexo e composto por regeneração celular, proliferação celular e produção de colágeno (BAUER, 1998). É afetado por fatores locais e sistêmicos como idade, estado nutricional, hipovolemia, medicamentos, doenças sistêmicas, corpos estranhos e uso inadequado de produtos no local. Na cicatrização por primeira intenção, o tecido lesado é reaproximado e sua recuperação ocorre com formação mínima de tecido de granulação. Na de segunda intenção, o ferimento permanece aberto e o espaço lesado é preenchido por tecido de granulação e sua cobertura é feita por migração de células epiteliais para o centro da ferida. Na de terceira intenção, as primeiras fases da cicatrização ocorrem com a ferida aberta e posteriormente é aproximada para acelerar o processo (WALDRON & TREVOR, 1998).

Várias substâncias como collagenase (TEVES *et al.*, 1989), papaína (SANCHEZ NETO *et al.*, 1993), barbatimão (CASTRO e SILVA, 1996; EURIDES *et al.*, 1998), óleo de copaíba (BRITO, 1996; EURIDES *et al.*, 1996), açúcar (PRATA *et al.*, 1988) e calêndula (JORGE NETO *et al.*, 1996; EURIDES *et al.*, 2001), foram utilizadas para auxiliar a reparação cicatricial de feridas cutâneas.

Nos últimos anos tem se intensificados experimentos sobre a cicatrização de tecidos moles e duros e o efeito da terapêutica aplicada. Tratamentos utilizados podem ocasionar diminuição do período de cicatrização ou até mesmo retardar o processo cicatricial (BOLTON & VAN RIJSWIJK, 1991).

Estudos realizados em animais têm demonstrado que a estimulação elétrica atua efetivamente sobre processo de cicatrização. A estimulação elétrica tem demonstrado ser uma boa opção no reparo de lesões cutâneas (BROWN & GOGIA, 1987; BROWN *et al.*, 1988; NUCCITELLI, 2002), nas osteotomias (BLACK, 1985; CHAO *et al.*, 2000), cartilagens (WELCH *et al.*, 2004), tendões (BURSSENS *et al.*, 2003), ligamentos (LITKE & DAHNERS, 1994). A Eletroestimulação transcutânea também tem sido utilizada na fisioterapia (PECKHAM & KNUTSON, 2005).

Em tecidos estimulados com eletricidade, efeitos dérmicos foram referidos por BROWN & GOGIA (1987) e BROWN *et al.* (1988), sendo notada uma orientação diferente das fibras de colágeno em animais tratados.

O objetivo deste experimento foi avaliar os aspectos morfológicos da cicatrização de feridas cutâneas de camundongos tratadas com corrente elétrica positiva alternada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A eletroterapia consiste da aplicação de corrente elétrica diretamente na ferida cutânea ou próxima a ela. Atualmente são utilizados três tipos de estimulação elétrica, corrente direta, corrente em pulsos e corrente alternada (LEE *et al.* 1993). A corrente direta ou galvânica é contínua, isto é, do cátodo para o ânodo, com duração igual ou maior que um segundo e quando menor que um segundo é denominado de corrente em pulso. Possui efeitos eletrotérmicos produzidos pela resistência gerada pelos tecidos, variando de acordo com a intensidade da corrente e o tempo de exposição e eletroquímicos. São observados pela formação de hidróxidos de sódio no cátodo e ácido hidrocloreídrico no ânodo. Esta reação modifica o pH ocasionando queimaduras químicas. A corrente em pulsos é unidirecional de curta duração, seguido de intervalo entre pulsos, onde a amplitude é zero. Apresenta a vantagem de minimizar os efeitos eletrotérmicos e eletroquímicos. A alternada em pulsos bifásicos, na maioria dos casos é simétrica. Possui a vantagem de não ionizar a ferida e gera poucos efeitos eletrotérmicos e eletroquímicos, por ser uma corrente bidirecional (OJINGWA & ISSEROFF, 2003). Foi referido por LEE *et al.* (1993), que o potencial elétrico de uma ferida pode mudar de polaridade nos primeiros dias da cicatrização. O que sugeriu uma conexão entre a mudança do potencial e o processo de cicatrização.

Feridas de animais estimuladas com corrente elétrica ocasiona efeitos térmicos, com orientação diferenciada das fibras colágenas (BROW *et al.*, 1988). Feridas cutâneas de ratos tratadas com corrente direta de 300 μ A, ocorre rápida epitelização e a derme apresenta aumento expressivo na síntese de fibras colágenas e da força de tensão (TASKAN *et al.*, 1997). A corrente em pulsos de 40 μ A, também ocasiona aumento na síntese de colágeno no tratamento de queimaduras cutâneas em ratos. A estimulação elétrica em feridas na espécie humana, ocasiona aumento da resistência tensional e na síntese de colágeno (BURSSENS *et al.*, 2003).

Tratamentos de feridas cutâneas na espécie humana, com estimulação elétrica, reduziu a incidência de infecções e acelerou o processo de cicatrização (FEEDAR & KLOTH, 1991; GRIFFIN *et al.*, 1991; UNGER *et al.*, 1991). Os efeitos da

estimulação vão além dos pontos de aplicação dos eletrodos. Podendo atingir uma área de 2,0 a 3,0cm do local da eletroestimulação (PREM, 2003). Tem sido observada diferente orientação das fibras de colágeno em feridas cutâneas em coelhos tratadas com estimulação elétrica (BROWN & GOGIA, 1987). Entretanto, a intensidade de corrente, polaridade e frequência da estimulação para tratamento de feridas cutâneas em animais ainda não foram estabelecidas (PREM, 2003).

Em humanos os bons resultados obtidos são expressivos, sendo que em animais ainda pouco se sabe sobre os efeitos da estimulação elétrica na cicatrização de feridas (BROWN, 2003). A eletroterapia é contra-indicada em feridas quando associadas com osteomielite, neoplasias (KLOTH *et al.*, 1990), arritmia cardíaca (RASSMUSSEM *et al.*, 1987) e gravidez (BROWN, 2003).

Tratamentos de feridas de 0,3mm de profundidade no dorso de cobaias com corrente direta anódica de 50 a 300 μ A, ocasionou rápida epitelização e na derme foi notado aumento substancial na atividade da síntese de colágeno (ALVAREZ *et al.*, 1983; MERTZ *et al.*, 1989). Estimulação de 200 a 800 μ A aplicadas em humanos para tratamento de úlceras isquêmicas de pele, infectadas ou não, cicatrizaram com maior rapidez do que as não tratadas (GAULT *et al.*, 1976).

Estimulação em pulsos de alta voltagem com polaridade negativa em coelhos, até o terceiro dia, seguido da aplicação com polaridade positiva durante quatro dias, a reparação cicatricial foi de 100%. Enquanto que no subgrupo controle foi de 87%, sendo que a epitelização foi mais rápida nos animais tratados (BROWN *et al.*, 1988).

Corrente alternada e contínua aplicadas em feridas cutâneas de suínos proporcionou decréscimo no tempo de cicatrização e aumento na perfusão. A contínua reduziu a área da ferida mais rapidamente que a estimulação com corrente alternada. Entretanto, a estimulação com corrente alternada ocasionou maior redução do volume da ferida, em relação à estimulação com corrente contínua (REGER *et al.*, 1999).

A pele integra ou lesionada em humanos e de animais apresentam corrente iônicas naturais geradas pelo epitélio (OJINGWA & ISSEROFF, 2003). Durante os cinco primeiros dias de cicatrização de uma ferida de pele, o potencial elétrico da ferida pode mudar de polaridade, devido ao aumento no número de células. O fato sugere uma mudança do potencial do processo de cicatrização (LEE *et al.* 1993). O

potencial elétrico transcutâneo é resultante da ação da bomba de sódio e potássio da membrana basal das células epiteliais (ILLINGWORTH & BARKER, 1980).

Foi verificado em sapos, que a atividade celular da bomba de sódio através da membrana basal e lateral, institui um agrupamento de gradiente que direciona o fluxo dos íons de sódio através da junção dermo-epidérmica. Criando assim, um potencial transepidermal. Lesões do epitélio gera um retorno dos íons de sódio contra o gradiente de concentração nas bombas da camada basal, criando a “corrente de ferida” (JAFEE & VANABLE, 1984).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados 36 camundongos (*Mus musculus*), adultos, fêmeas, linhagem albino “swis” com peso aproximado de 50 gramas. Os animais foram alojados em gaiolas individuais e receberam ração comercial^a e água à vontade, sobre as mesmas condições de ambiente. Foram aclimatados por um período de duas semanas, antes do início do experimento.

3.2. Grupos experimentais

Depois de aclimatados e uniformizados os camundongos foram distribuídos aleatoriamente, em três grupos, sendo cada grupo subdividido em subgrupo controle (I) e tratado (II), com o mesmo número de animais. As avaliações pós-operatórias (PO) foram realizadas diariamente durante 7, 14 e 21 dias da intervenção cirúrgica.

3.3. Anestesia

Os camundongos foram submetidos à indução anestésica com cetamina^b (30,0mg/kg, SC) e xilazina^c (5,0mg/kg, SC), para remoção por tração, dos pêlos da região dorsal do tórax, com o auxílio de uma pinça hemostática de “Halsted”. Com um “punch” de 10,0mm de diâmetro, delimitou-se uma área de pele na região dorsal do tórax que foi removida com tesoura expondo a fáscia muscular.

3.4. Contenção dos animais

Decorridas 24 horas da remoção de pele, os animais do subgrupo controle e tratado foram contidos em decúbito ventral, sobre uma plataforma com eletrodos conectados ao eletroestimulador transcutâneo neuromuscular Kinesis^d clínico. A contenção foi feita com ganchos envolvidos com borracha macia e elástica, presa a uma mola em espiral bem flexível, sendo uma aplicada na região cervicotorácica e outra na lombosacra.

Os camundongos do subgrupo controle permaneceram contidos sobre a mesa, durante sete minutos por dia, sob os eletrodos desativados. Período de tempo igual e nos mesmos horários do subgrupo tratado com eletroestimulação transcutânea eletro Kinesis (Figura 1,2 e 3).

3.5. Eletroestimulação transcutânea

As feridas dos animais dos subgrupos tratados foram submetidas à aplicação de 2mA de corrente elétrica positiva alternada, de 60 hertz, sete minutos por dia, durante 07, 14 e 21 dias. A eletroestimulação foi realizada com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis, (Figura 1, 2 e 3) que apresenta um ciclo ligado e outro desligado, de duração em segundos (seg.). Inicia em zero e após 2,8 seg. chega ao patamar de 2mA, permanecendo durante 0,2 seg. Seguido de um declínio de duração de 3,0 seg., com um ciclo ligado de 6,0 seg. Em seguida, apresenta um ciclo desligado de 15,0 seg. Totalizando um tempo de funcionamento cíclico de 21 segundos (Figura 4).

3.6. Avaliação macroscópica

As feridas dos animais do subgrupo tratado e controle foram avaliadas uma vez ao dia, para observar os aspectos do tecido de granulação, aumento de volume, contração e coloração. Como também mensuradas com paquímetro^e, uma vez ao

dia, até os períodos pré-estabelecidos de PO. Para obtenção da área utilizou-se a equação matemática $A = \pi R.r$, onde R = raio maior e r = raio menor. O raio maior foi medido no sentido craniocaudal e o menor laterolateral.

3. 7. Avaliação em microscopia de luz

Os animais foram sacrificados nos períodos preestabelecidos, sob anestesia inalatória em câmpula e cloreto de potássio, conforme recomenda o código de ética para uso em animais (CRMV, 2002), para coleta da área em cicatrização (Figura 5). A área da lesão foi coletada, estendida, fixada em papelão (Figura 6) e mantidas em frascos contendo solução aquosa de formol a 10%, durante 48 horas. Foram desidratadas em soluções de concentrações crescentes de etanol e incluídas em parafina histológica.

O material foi cortado em micrótomo Leica modelo 2.065, com navalha de 8,0mm e em cortes de 5 μ m, de espessura. Os cortes foram corados com hematoxilina-eosina (HE) para avaliação em microscopia de luz.

Os achados histológicos foram agrupados quantitativamente, utilizando-se escalas de zero a três símbolos “+” com as seguintes qualificações:

0 = ausente

+ = pouco

+ + = moderado

+ + + = intenso

3. 8. Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos nos dias 7, 14 e 21 de PO, foi feita utilizando-se o teste “t” de Student fixando $\alpha = 0,05$, como nível de rejeição de hipótese de nulidade (FONSECA & MARTINS, 1992).



Figura 1. Estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico, utilizado no tratamento de feridas cutâneas no dorso de camundongos, com 2mA de corrente elétrica positiva alternada.

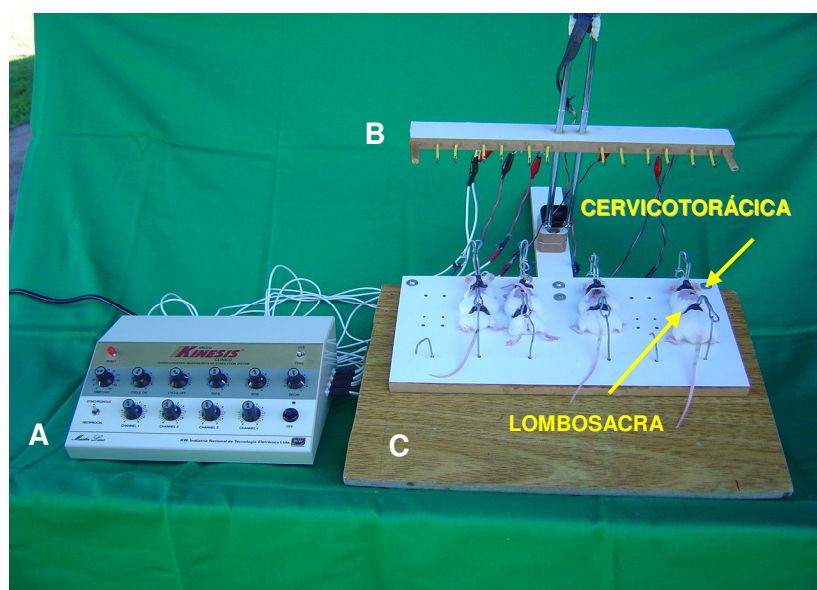


Figura 2. Estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico (A), conectado a plataforma com eletrodos (B) e camundongos contidos com ganchos envolvidos com borracha na região cervicotorácica e lombosacra (C).

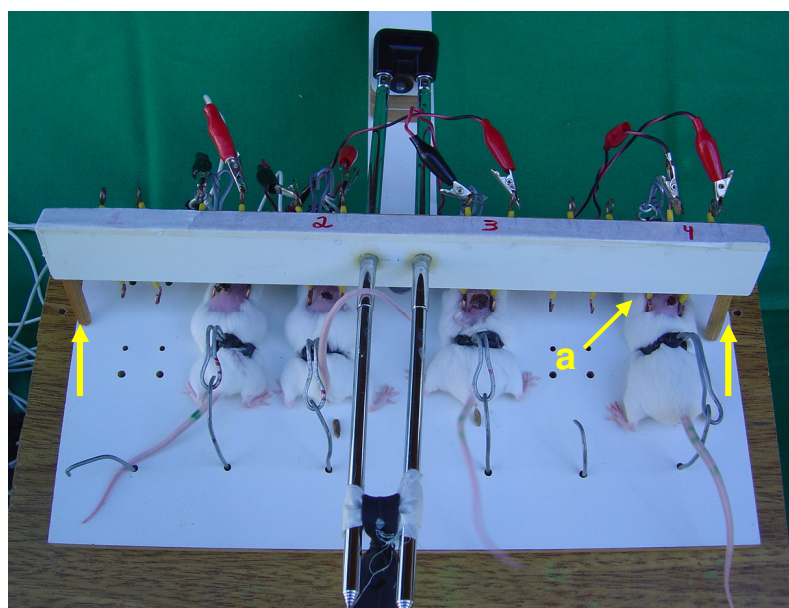


Figura 3. Camundongos contidos e submetidos a 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico. Nota-se os diapositivos utilizados para manter a mesma pressão dos eletrodos (a) sobre o dorso dos animais (setas).

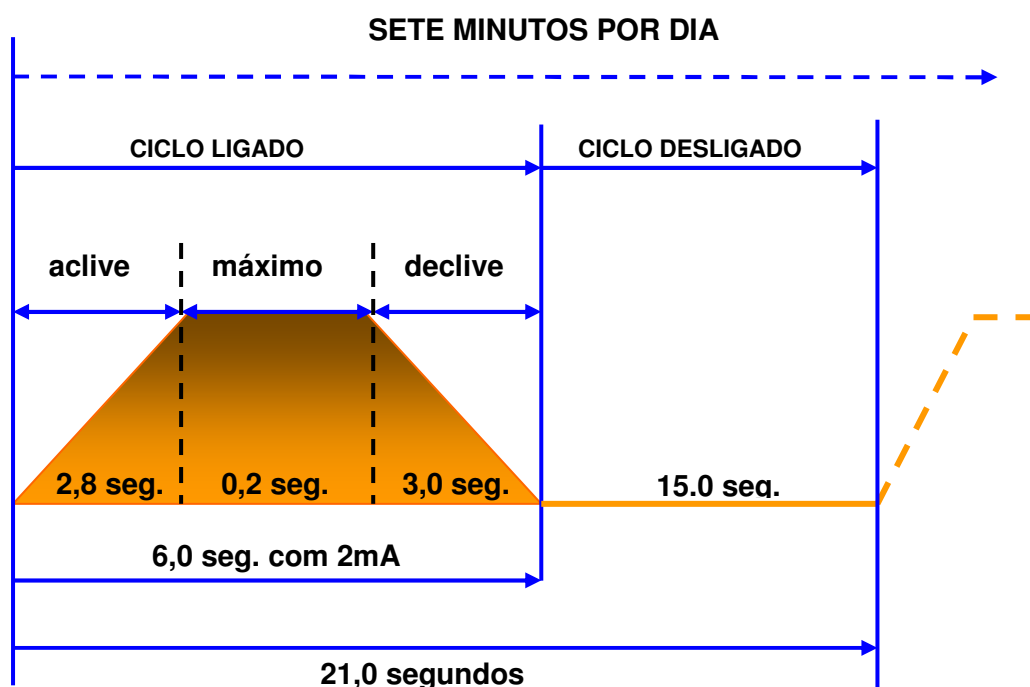


Figura 4. Esquema representativo do período cíclico, ligado e desligado, da aplicação de 2mA de corrente elétrica positiva alternada, de 60 hertz, sete minutos por dia, durante 07, 14 e 21 dias, através do estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico, administrado em feridas de camundongos.



Figura 5. Ferida cutânea de camundongo tratada com 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico. Remoção de pele com a ferida da região dorsal do tórax, decorridos sete dias de pós-operatório.

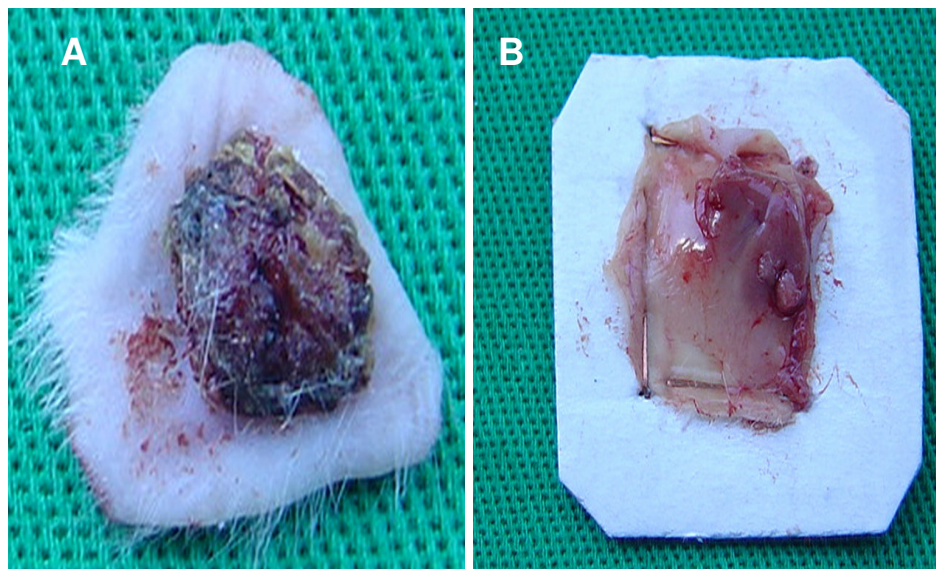


Figura 6. Fragmento de pele coletado da região do tórax de camundongo tratado com 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico (A), estendido e fixado sobre um papelão (B), decorrido sete dias de pós-operatório.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A indução anestésica com cetamina e xilazina foi suficiente para facilitar a remoção por tração dos pêlos da região dorsal do tórax dos camundongos, com o auxílio de uma pinça hemostática de “Halsted”. Como também, a associação anestésica permitiu uma analgesia adequada e segura, para demarcação e remoção de uma área de 10,0mm² de pele.

A contenção dos animais em decúbito ventral, nas regiões cervicotorácica e lombosacra com ganchos envolvidos com borracha, presa em mola espiral flexível, permitiu fácil posicionamento dos eletrodos na região dorsal dos animais, para estimulação elétrica transcutânea. O método de contenção também não ocasionou, aparentemente, comprometimento ou traumatismo nas regiões aplicadas. Cada eletrodo foi aplicado lateralmente à ferida, a uma distância aproximadamente de 4,0mm da lesão. Não foi notada descoloração e nem necrose do local da aplicação, como referido por NESSLER & MASS (1987). A pressão exercida pelos eletrodos sobre a pele na região dorsal dos camundongos foi sempre a mesma, devido aos dispositivos que impediam que o peso da plataforma de aplicação da corrente elétrica recaísse sobre os animais (Figura 3). A intensidade da corrente de 2mA, durante sete minutos aplicados no tratamento das feridas cutâneas, foi a mínima que o aparelho eletro Kinesis fornecia. Esta Intensidade, aparentemente, não ocasionou desconforto aos animais, nem desequilíbrio eletroquímico e eletrodinâmico, como referido por OJINGWA & ISSEROFF (2003). Os animais quando liberados da contenção se locomoviam visivelmente sem anormalidade.

Ao exame macroscópico as feridas dos animais do subgrupo I, no 7º dia de PO apresentavam-se de coloração vermelha escuro, bordas e área central aumentadas de volume com aspecto irregular e com crostas. As do subgrupo II, mostravam-se bordas e área central aumentadas de volume, aspecto irregular e formação de fina crosta de coloração marrom escuro aderida à lesão.

No 14º dia de PO, as feridas dos animais do subgrupo I evidenciavam-se bordas e área central aumentadas de volume, aspectos irregulares e crostas de coloração marrom escuro, com exsudato purulento. Nos do subgrupo II, as feridas se encontravam com redução da área central, bordas aumentadas de volume e

pequena de crosta de coloração marrom claro. Verificou-se que as feridas dos animais do subgrupo I e II se apresentavam aparentemente reparadas no 21^o dia de PO, com coloração esbranquiçada e com crescimento de pêlos nas bordas das lesões.

Em qualquer nível de significância (1% ou 5%), a média das áreas das feridas do subgrupo tratado não superou significativamente a das feridas do subgrupo controle. A área da ferida dos animais do subgrupo II no 7^o PO, era menor que a dos do subgrupo controle. No subgrupo controle, no 14^o PO, a área se apresentava menor. Entretanto, nesses períodos também não havia diferença expressiva entre as áreas dos dois subgrupos (Tabela 1). Os resultados obtidos demonstram que não ocorreu aceleração expressiva na reparação cicatricial, entre o subgrupo controle e tratado.

Tabela 1. Média das áreas (mm²) das feridas cutâneas de camundongos do subgrupo controle (I) e do tratado (II) com 2mA de corrente elétrica positiva alternada com eletro kinesis, no 7^o, 14^o e 21^o dias de pós-operatório (PO). Uberlândia, 2005.

7º DIA DE PO		14º DIA DE PO		21º DIA DE PO		
I	II	I	II	I	II	
76,8672	51,2762	7,3476	12,717	0	0,8164	
78,2174	69,3547	7,5124	10,7388	0	0	
53,4114	67,8632	11,2098	11,7436	3,0615	1,2089	
65,9400	68,0359	7,536	11,2098	0	0	
52,1240	25,7166	11,775	3,454	0	0	
47,3355	37,7585	9,1845	11,8692	0	0	
Média	62,31	53,334	9,094	10,289	0,51	0,338
DP	13,306	18,404	1,982	3,414	1,250	0,537

0 = feridas cicatrizadas. DP = desvio padrão.

Teste t de Student
Controle x Tratado
 $T_{\text{critico}} = \pm 1,81$

7^o DIAS DE PO

$T_{\text{calculado}} = 0,968$

Controle > Tratado

14^o DIAS DE PO

$T_{\text{calculado}} = - 0,7422$

Controle < Tratado

21^o DIAS DE PO

$T_{\text{calculado}} = 0,558$

Controle > Tratado

Foi referido por OLIVEIRA (1992) que a presença da crosta em uma ferida favorece o processo de cicatrização. Neste experimento, a capa fibrinoleucocitária

ocorreu ao 6º dia de PO, constatou-se que as feridas se apresentavam de coloração vermelha clara e de superfície pouco rugosa, tanto dos animais do subgrupo I como do II. A ausência da crosta permitiu melhor avaliar os aspectos morfológicos e morfométricos.

As feridas dos animais dos dois subgrupos, aparentemente, ocluíram no 21º dia de PO. Entretanto, a inversão de valores das áreas das feridas observada no 7º e ao 14º dia de pós-operatório ocorreu, provavelmente, em virtude da estimulação elétrica que ocasionou letargia na evolução da reparação, apesar de não ser estatisticamente significativa (Figura 7).

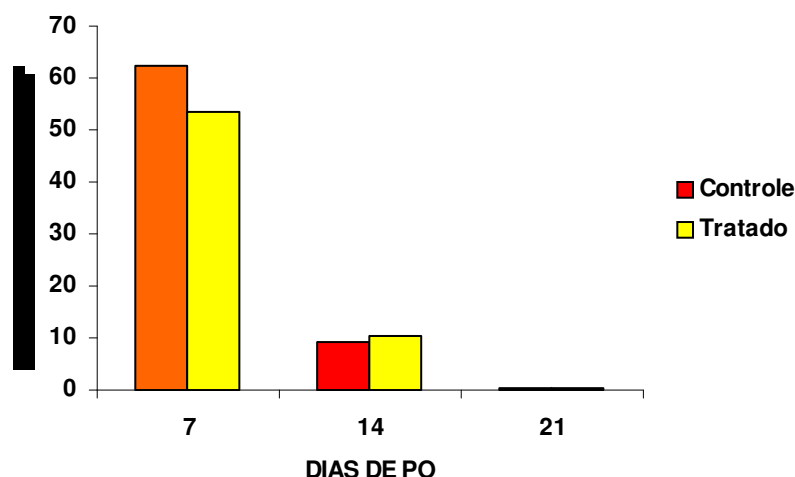


Figura 7. Representação da média das áreas (mm²) das feridas cutâneas de camundongos do subgrupo controle e tratado com 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico, nos períodos de 7, 14 e 21 dias de pós-operatório. Uberlândia, MG, 2005.

Feridas de ratos tratadas com rosa mosqueta (MARCHINI *et al.*, 1988) e as de camundongos com óleo de copaíba (BRITO, 1996; EURIDES *et al.*, 1996) e com calêndula (JORGE NETO *et al.*, 1996; MASTRANTONIO *et al.*, 2001), apresentavam no 14º dias de PO, diâmetro menor que dos animais do subgrupo controle. Resultado diferente ao obtido neste experimento, contudo, de valor estatisticamente não significativo. A observação deveu-se possivelmente à falta de estímulo no fluxo sanguíneo, não ocorrendo, portanto aumento da microvascularização através da estimulação elétrica. No 20º dia de PO as feridas dos animais dos dois subgrupos se

encontravam, aparentemente, cicatrizadas não sendo notado diferença estatística entre os dos dois subgrupos. As lesões apresentavam de coloração passando de rósea a esbranquiçada. A mudança na coloração da ferida ocorreu, possivelmente, devido à fase de regressão endotelial que reduziu a vasculatura do tecido conjuntivo recém formado (MODOLIN & BEVILACQUA, 1985).

Através da avaliação em microscopia de luz foi verificado que no 7º dia de PO, tanto nas lesões do subgrupo I como do subgrupo II, as superfícies se encontravam cobertas por uma crosta fibrinoleucocitária. Também com presença elevada de fibroblastos e moderada de plasmócitos e intensa de polimorfonucleares na ferida dos animais do subgrupo tratado, Tabela 2 e Figura 8. A acentuada hiperemia e hemorragia na ferida dos animais do subgrupo controle e moderada no tratado, caracterizaram o início da reparação tecidual (MODOLIN & BEVILACQUA, 1985; TEVES *et al.*, 1986).

Tabela 2. Epiderme, derme, celularidade e neovascularização de feridas cutâneas de camundongos do subgrupo controle e tratado com 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico, no 7º, 14º e 21º dias de PO. Uberlândia, MG, 2005.

	7º DIA DE PO		14º DIA DE PO		21º DE PO	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado
Crosta	+++	+++	0	0	0	0
Epitelização	normal	+++	normal	+ delgada	delgada	+ delgada
Fibrina	+++	+++	0	0	0	0
Fibroblastos	++	++	+++	++	++	+
Fibroplasia	++	++	+++	++	+++	+
Polimorfonucleares	++	+++	+	+	0	0
Plasmócitos	++	++	+	+	+	+
Neovascularização	+++	++	+++	+	++	+
Hemorragia	+++	++	+++	++	+++	++
Epiderme e derme	normal	delgada	normal	+ delgada	normal	+ delgada

0 = ausente; + = pouco; ++ = moderado; +++ = intenso.
Aparentemente: normal ou + delgado.

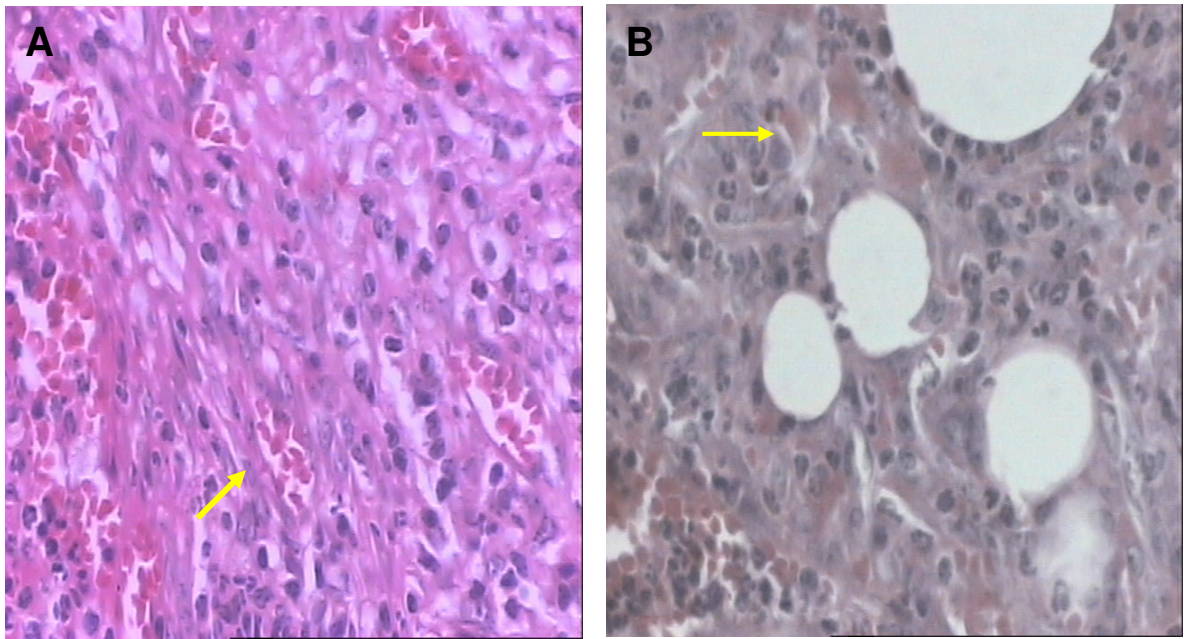


Figura 8. Microfotografia da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos no 7^o dia de PO do subgrupo controle (A) e tratado com 2mA de corrente elétrica positiva alternada, com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico (B). Nota-se em “A”, inúmeros vasos sanguíneos (setas) e poucos polimorfonucleares. Em “B” grande quantidade de polimorfonucleares e poucos vasos sanguíneos (seta), HE, 100 X.

Entretanto, nas feridas dos animais do subgrupo tratado com eletroestimulação, a derme e a epiderme se apresentavam aparentemente delgada, com maior quantidade de polimorfonucleares e menor fibroplasia no centro da ferida. O número de vasos sanguíneos era visivelmente menor em relação às feridas dos animais do subgrupo controle. GOLDMAN et al. (2004) relataram que tratamento com corrente em pulsos de alta voltagem em feridas isquêmicas de pele, em humanos, proporciona aumento da vasodilatação arterial e da microcirculação ao redor da ferida, com neoformação de capilares na pele. O aumento dos vasos sanguíneos, verificado neste experimento, deveu-se, possivelmente, à diminuição da mitose e do número de vasos sanguíneos, como também diferenciação das células mesenquimais. A intensa neovascularização, verificada nos animais do subgrupo controle, é indicativa de uma adequada irrigação para a reparação cicatricial (HATAKA, 1998), sendo um processo dinâmico importante para restabelecimento da área lesada (MORAES, 1987).

Decorridos 14 dias de pós-operatório observou-se nas feridas dos animais do subgrupo controle que o epitélio se encontrava aparentemente normal. Notou-se inúmeros vasos sanguíneos, colágenos de densidade moderada e bem organizados, com repleta formação de fibras colágenas e presença de plasmócitos, fibroblastos e fibrócitos. Já as feridas submetidas à eletroestimulação se diferenciavam por apresentarem a camada da derme e epiderme mais delgada em relação à do subgrupo controle (Tabela 2). Foi mencionado que feridas no dorso de cobaias submetidas à corrente direta positiva, apresenta rápida epitelização e a derme apresenta aumento significativo na atividade da síntese de colágeno (ALVAREZ *et al.*, 1983; MERTZ *et al.*, 1989). Resultado que não foi obtido nesse experimento. Nas cirurgias eletivas sem complicações, os níveis sanguíneos de corticosteróides voltam rapidamente ao normal. Entretanto, se existir componentes de lesão tecidual que permanecem ativos por um tempo prolongado, os níveis de corticosteróides continuam elevados por semanas ou meses. O que deve ter ocorrido neste experimento, nas feridas sob eletroestimulação.

Nos animais do subgrupo controle e tratado, aos 21 dias de PO, a camada da derme se apresentava mais delgada em relação ao 14^o de PO. A epitelização foi completa e irregular com as bordas mais delgadas que a área central. Nas feridas do subgrupo controle foi notado acentuados números de vasos sanguíneos e inúmeras hemorragias. E, aparentemente, maior número de fibras colágenas bem organizadas e menor de fibroblastos, macrófagos e fibrócitos. No entanto, o espessamento da cicatriz era maior no centro da ferida dos animais do subgrupo controle. Nos do subgrupo II, o número de vasos sanguíneos era menor em relação ao subgrupo I. Possivelmente, a eletroestimulação com 2mA ocasionou redução da produção de fibras colágenas e da neovascularização (Tabela 2).

Do ponto de vista metabólico, os corticosteróides inibem a captação de aminoácidos e a síntese protéica pelos tecidos (GOLDENBERG & BEVILACQUA, 1981). Fato que deve ter ocorrido com as feridas submetidas ao tratamento com estimulação elétrica, induzindo formação de uma delgada camada de tecido conjuntivo (Figura 9).

Foi observado aumento da fibroplasia em feridas cutâneas de cobaias submetidas à estimulação elétrica com corrente direta anódica de 4mA e de 50 a

300 μ A. Ocasionou também rápida epitelização com aumento significativo da síntese de colágeno (ALVAREZ *et al.*, 1983; MERTZ *et al.*, 1989). A maior quantidade de fibroblastos encontrada nas feridas dos animais do subgrupo controle se refere à multiplicação do número de fibroblastos a partir do sétimo dia de pós-operatório (FRIEDRICH *et al.*, 2001). Estas células são estimuladas a migrarem para a lesão da ferida quando submetidas à estimulação elétrica de baixa intensidade de corrente e pulso de 7 μ A, durante 15 dias, no tratamento de tendões de ratos (OWOEYE *et al.*, 1987). Neste experimento, no entanto, com a metodologia utilizada foi verificado maior quantidade de fibroblastos nos animais do subgrupo controle. Entretanto, as feridas dos animais foram submetidas a 2mA de corrente elétrica positiva alternada, de 60 hertz, durante sete minutos. O que não acarretou diferença expressiva entre as áreas das feridas dos animais dos dois subgrupos. Ao mesmo tempo, acarretou menor espessura da derme e epiderme em relação ao subgrupo controle. Observação também verificada com corrente alternada aplicada em feridas cutâneas de suínos (REGER *et al.*, 1999). Possivelmente, a diferença dos resultados obtidos neste trabalho, em relação aos referidos em cobaias (ALVAREZ *et al.*, 1983; MERTZ *et al.*, 1989, humanos (FEEDAR & KLOTH 1991; GRIFFIN *et al.*, 1991; UNGER *et al.*, 1991; OJINGWA & ISSEROFF, 2003), em coelhos BROWN *et al.*, 1988) e em suínos (REGER *et al.*, 1999), deveu-se, possivelmente, a falta de padronização da intensidade, polaridade, frequência e o tempo de estimulação da corrente elétrica em camundongos.

O maior número de fibroblastos encontrados nas feridas dos animais do subgrupo controle, a partir do 15^o dia, deveu-se à fase da fibroplasia (FRIEDRICH *et al.*, 2001; MORAES, 1987). Entretanto, o menor número destas células, nas feridas tratadas com 2mA de corrente alternada positiva, não foram coincidentes aos achados de LEE *et al.* (1993). Possivelmente, a metodologia aplicada, neste experimento, ocasionou diminuição da síntese de colágeno secretada pelos fibroblastos, em consequência da mudança de polaridade da ferida que alterou o processo de cicatrização. Supondo-se a existência de uma conexão entre o potencial e o processo de cicatrização (LEE *et al.*, 1993), que é resultante da ação da bomba de sódio e potássio da membrana basal das células epiteliais (ILLINGWORTH & BARKER, 1980).

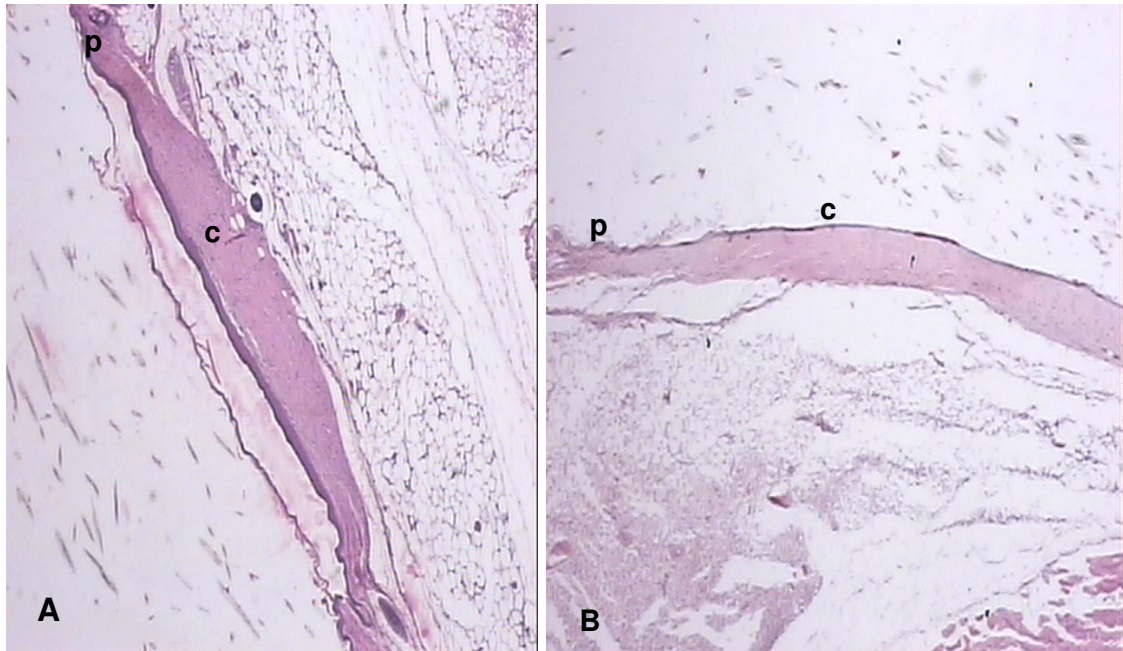


Figura 9. Microfotografia da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos no 21^o dia de PO do subgrupo controle (A) e tratadas com 2mA de corrente elétrica positiva alternada com estimulador transcutâneo neuromuscular eletro Kinesis clínico (B). Nota-se que a camada da derme e epiderme na área periférica (p) e central (c) da ferida do subgrupo controle se apresenta mais espessa em relação ao subgrupo tratado (HE – 100 X).

5. CONCLUSÕES

A administração diária e durante 21 dias, de 2mA de corrente elétrica positiva alternada de 60 hertz, por sete minutos, com eletro Kinesis, em ferida cutânea de camundongos, induz a formação delgada da derme e epiderme.

O aspecto final da cicatriz das feridas dos animais tratadas com eletroestimulação e não tratadas, se apresentam semelhantes.

6. APÊNDICE

MATERIAIS DA PESQUISA

- a. Nuvilab. Nuvital Nutriente. Colombo, Paraná.
- b. Ketalar. Parke Davis. São Paulo, SP.
- c. Dorcipec. Instituto Valleé. Montes Claros, MG.
- d. Eletro Kinesis. KW Indústria Nacional de Tecnologia e Eletrônica. Amparo, SP.
- e. Paquímetro. Mitutoyo, 9454, Japão.

7. REFERÊNCIAS

ALVAREZ, O.M.; MERTZ, P.M.; SMERBECK RV, *et al.* Healing of superficial skin wounds in stimulated by external electrical current. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 81, p. 144-148, 1983.

BAUER, M.S. Tratamento com ferimento aberto. In: STEPHEN, J.B., SHERDING, R.G. **Manual Saunders: Clínica de pequenos animais**: São Paulo: Roca, p. 404-408, 1998.

BAUER, M.S.; AIKEN, S. The healing of open wounds. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery Small Animal**, v. 4, n. 4, p. 268-273, 1989.

BLACK, J. Electrical stimulation of hard and soft tissues in animal models. **Clinics Plastic Surgery**, v. 22, n. 2, p. 243-252, 1985.

BOLTON, L.; VAN RIJSWIJK, L. Wound dressings: meeting clinical and biological needs. **Dermatology Nursing**, Pitman, v. 3, n. 2, p.1 46-161, 1991.

BRITO, N.M.B. Aspectos morfológicos e morfométricos da cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos tratados com óleo de copaíba, 1996. 59f. **Dissertação (Mestrado em Técnica Operatória e Cirurgia Experimental)** – Escola Paulista de Medicina, São Paulo.

BROWN, M.; GOGIA, P.P. Effects of high voltage stimulation on cutaneous wound healing in rabbits. **Physical Therapy**, v. 67, p. 662-667, 1987.

BROWN, K.; MCDONELL, M.Y.; MENTON, D.N. Electrical stimulation effects on cutaneous wound healing in rabbits. **Physical Therapy**, v. 68, p. 955-960, 1988.

BROWN, M. **Estimulação elétrica para o tratamento de feridas**. In: Feridas: tratamento e cicatrização. PREM, P.G., Rio de Janeiro: Revinter, 2003 p.137-143.

BURSSSENS, P.; FORSYTH, R.; STEYAERT, A.; *et al.* R. Influence of burst TENS stimulation on the healing of Achilles tendon suture in man. **Acta Orthopaedica Belgica**, v. 69, n. 6, p. 528-32, 2003.

CASTRO e SILVA, H.V. Ação da *Stryphnodendron barbatiman* sobre a cicatrização: estudo experimental em ratos. **H.B. Científica**, v. 3, n. 1, p. 77-79, 1996.

CHAO, P.H.; ROY, R.; MAUCK, R.L.; *et al.* Chondrocyte translocation response to direct current electric fields. **Journal of Biomechanical Engineering**, New York, v. 122, n. 3, p. 261-7, 2000.

CRMV. Conselho Regional de Medicina Veterinária. EUTANÁSIA: Resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária que institui normas e procedimentos para eutanásia em animais. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas Gerais**, v. 75, n. 17, p. 25, 2002.

EURIDES, D.; MAZZANTI, A.; FERREIRA, G.G.; *et al.* Aspectos morfológicos, morfométricos e histológicos da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de copaíba (*Copaifera langsdorfei*). **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia de Uruguaiana**, v. 2, n. 3, p. 37-42, 1996.

EURIDES, D.; MAZZANTI, A.; BELETTI, M.E. *et al.* **Morfologia e morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com solução aquosa de barbatimão (*Stryphonodendron barbatiman* Martins). Estudo experimental.** Uberlândia: Curso de Medicina Veterinária, 1998. 12p. Monografia apresentada para a obtenção do grau de Médico Veterinário.

EURIDES, D.; MASTRANTONIO, E.C.; SHIMIZU, B.J. *et al.* Morfometria e histologia de feridas cutâneas de camundongos tratadas com própolis e calêndula (*Calendula officinalis*), **Ciência Animal**, Suplemento, v. 11, p. 22, 2001.

FEEDAR, J.A.; KLOTH, L.C. Chronic dermal ulcer healing enhanced with monophasic pulsed electrical stimulation. **Physical Therapy**, v. 70, p. 639-649, 1991.

FONSECA, J.S.; MARTINS, G.A. **Curso de estatística**. 3.ed. São Paulo: Atlas, 1992. 286p.

FRIEDRICH, T.; SCHMIDT, W.; JUNGMICHEL, D.; *et al.* Histopathology in rabbit Achilles tendon after operative tenolysis (longitudinal fiber incisions). **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 11, n. 1, p. 4-8, 2001.

GAULT, W.R.; GATENS, P.F. Use of low intensity direct current in management of ischemic skin ulcers. **Physical Therapy**, v. 6, p. 265-269, 1976.

GOLDENBERG, S.; BEVILACQUA, R.G. **Bases da cirurgia**. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1981. 302p.

GOLDMAN, R.; ROSEN, M.; BREWLEY, B.; GOLDEN, M. Electrotherapy promotes healing and microcirculation of infrapopliteal ischemic wounds: a prospective pilot study. **Advances in Skin & Wound Care**, v. 17, n. 6, p. 284-94, 2004. Abstract.

GRIFFIN, J.W.; TOOMS, R.E.; MENDIUS, R.A.; *et al.* Efficacy of high voltage pulsed current for healing of pressure ulcers in patients with spinal cord injury. **Physical Therapy**, v. 71, p. 433-442, 1991.

GÜRTLER, H.H.; KERTZ, A.E.; KOLB, E.L.; *et al.* **Fisiología veterinaria**. 2.ed. Acribia: Zaragoza, 2V, v2, 1976.1115p.

HATAKA, A. **Cinética vascular e celular na cicatrização tendínea experimental em cães (*Canis familiaris*)**. 1998. 63 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998.

ILLINGWORTH, C.M.; BARKER, A.T. Measurement of electrical currents emerging during the regeneration of amputated finger-tips in children. **Clinical Physics and Physiological Measurement**, v. 1, n. 1, p. -79-87, 1980.

JORGE NETO, J. Tratamento de úlcera varicosa e lesões de pele com *Calêndula officinalis* L. e ou com *Stryphonodendron barbadetiman* (Vellozo) Martins. **Revista Ciência Farmacêutica**, n. 17, p. 181-186, 1996.

JAFFE, L.F.; VANABLE, J.W. Electric fields and wound healing. **Clinics in Dermatology**, v. 2, n. 3, p. 34-44, 1984.

KLOTH, L.; McCULLOCH, J.M.; FEEDAR, J.A. **Wound healing: alternatives in managment, contemporary perspectives in rehabilitation**. 5. ed. Philadelphia: F. A. Davis, 1990, 235 p.

LITKE, D.S.; DAHNERS, L.E. Effects of different levels of direct current on early ligament healing in a rat model. **Journal of Orthopaedic Research**. Chapel Hill, v. 12, n. 5, p. 683-88, 1994.

LEE, R.C.; CANADAY, D.J.; DOONG, H. A review of the biophysical basis for the clinical application of electric fields in soft-tissue repair. **Journal of Burn Care and Rehabilitation**. St Louis, v. 14, n. 3, p. 319-35, 1993.

MARCHINI, F.B.; MARTINS, D.M.F.S.; TEVES, D.C.; *et al.* Efeito do óleo de rosa mosqueta na cicatrização de feridas abertas. **Revista Paulista Medicina**, v. 106, n. 6, p. 356, 1988.

MERTZ, P.M.; DAVIS, S.; EAGLSTEIN, W.H. Pulsed electrical stimulation increases the rate of epithelialization in partial thickness wounds. **Proceedings of the Biomedical Research and Growth Society**. Resumo, 1989.

MODOLIN, M.; BEVILACQUA, R.G. Cicatrização das feridas. Síntese de aquisições recentes. **Revista Brasileira Clínica Terapêutica**, v. 14, n. 6, p. 208-213, 1985.

MORAES, J.R.E. Neovascularization: regulating mechanisms, experimental models and antiangiogenesis. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 3, n. 2, p. 287-290, 1987.

NESSLER, J.P.; MASS, D.P. A direct-current electrical stimulation of tendon healing *in vitro*. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 217, p. 303-12, 1987.

NUCCITELLI, R. A role endogenous electric fields in wound healing. **Advances in Skin & Wound Care**, Springhouse, v. 15, n. 6, p. 112-20, 2002.

OLIVEIRA, H. P. Traumatismos nos animais domésticos. **Caderno Técnico Escola Veterinária, UFMG**, v. 1, n. 7, p. 01-57, 1992.

OJINGWA, J.C.; ISSEROFF, R. Electrical stimulation of wound healing. **Dermatology Foundation**, v.36 n. 4, p. 1-12, 2003.

OWOEYE, I.; SIELHOLZ, N.I.; NELSON, A.J. Low-intensity pulsed galvanic current and the healing of tenotomized rat Achilles tendons: preliminary report using load-to-breaking measurements. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 68, n. 7, p. 415-8, 1987

PECKHAM, P.H.; KNUTSON, J.S. Functional electrical stimulation for neuromuscular applications. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 7, p. 327-60, 2005.

PRATA, M. B.; HADDAD, C.M.; GOLDENBERG, S.; *et al.* Uso tópico do açúcar em ferida cutânea. Estudo experimental em rato. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 3, n. 2, p. 43-48, 1988.

PREM, P.G. Estimulação elétrica para o tratamento de feridas. **Feridas: tratamento e cicatrização**, Rio de Janeiro: Revinter, 2003. p.192.

RASSMUSSEM, M.J.; HAYES, D.L.; VLESTSTRA, R.E.; *et al.* Can transcutaneous electrical nervestimulation be safely used in patients with permanent cardiac pacemakers? **Mayo Clinic Proceedings**, v. 63, n. 5, p.443-5,1987.

REGER, S.I.; HYODO, A.; NEGAMI, S.; *et al.* Experimental wound healing with electrical stimulation. **Artif Organs**, v. 23, n. 5, p. 460-462, 1999.

SANCHEZ NETO, R.; BARONE, B.; TEVES, D.C.; *et al.* Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamentos com solução de papaína a 2%. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 18-23, 1993.

TASKAN, I.; OZYAZGAN, I.; TERCAN, M.; *et al.* Comparative study of the effect of ultrasound and electroestimulation on wound healing in rats. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.100, n.4, p.966-72, 1997.

TEVES, D.C.; SIMÕES, M.J.; MARTINS, D.M.F.S.; *et al.* Aspectos morfológicos dos processo de cicatrização em ratos albinos sob ação da collagenase. **Farmácia Médica**, v. 98, p. 191-194, 1989.

TEVES, D.C; CABRAL, A.C.V.; SIMÕES, M.J.; *et al.* Biologia da reparação tecidual. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 50, n. 5, p. 39-44, 1986.

UNGER, P.; EDDY, J.; RAIMASTRY, S.A. Controlled study of the effect of high voltage pulse current on wound healing. **Physical Therapy**, v. 71, n. 6, 1991.

WALDRON, D.R.; TREVOR, P. Tratamento dos ferimentos superficiais. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Manole, 2 V. v. 1, cap. 25, p. 334-347, 1998.

WELCH, W.C.; WILLIS, S.L.; GERSZTEN, P.C. Implantable direct current stimulation in para-axial cervical arthrodesis. **Advances in Therapy**, v. 21, n. 6, p. 389-400, 2004.