

LETÍCIA BERMÚDEZ GOMES ALVES

**EVOLUÇÃO TEMPORAL DE EDEMA
SOB EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
TECNOLOGIA EM SAÚDE
PUCPR**

CURITIBA

2011

LETÍCIA BERMÚDEZ GOMES ALVES

**EVOLUÇÃO TEMPORAL DE EDEMA
SOB EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde da PUCPR como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia em Saúde.

Área de Concentração: Bioengenharia

Orientador: Prof. Dr. Percy Nohama

Co-orientador: Prof. Dr. Josuê Bruginski de Paula

CURITIBA

2011

SUMÁRIO

SUMÁRIO	i
1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Contextualização do Tema.....	14
1.2. objetivos.....	18
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1. A microcirculação e o Processo Inflamatório	19
2.2. Estimulação Elétrica: uma opção de tratamento	35
2.2.1. Efeitos Cicatrizantes	36
2.2.2. Efeitos no Edema.....	38
2.2.3. Efeitos em Pacientes Diabéticos.....	42
2.2.4. Efeitos na Cicatrização Óssea	42
2.2.5. Efeitos Analgésicos.....	43
2.3. As Correntes Elétricas	44
2.3.1. Impedância Cutânea	47
2.3.2. Eletrodos.....	50
2.4. Estimulação Elétrica com Pulsos de Alta Tensão	52
2.4.1. Efeitos da eletroestimulação	53
3. METODOLOGIA	66
3.1. Amostra.....	66
3.2. Procedimentos	67
3.3. Análise Estatística.....	83
4. RESULTADOS	85
4.1. Número de Pixels.....	85
4.2. Intensidade de Pixels	88
4.3. Visualização dos Rins e Bexiga	91
4.4. Escore da Absorção do Meio de Contraste.....	94
4.5. Área de Pixels Claros X Área Total	95
5. DISCUSSÃO	98
6. CONCLUSÕES	113

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	115
8. REFERÊNCIAS.....	117
9. ANEXO.....	140

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Difusão entre capilar e espaço intersticial (Guyton e Hall, 2006).....	20
Figura 2: Controle da microcirculação pelo sistema nervoso (Lamb et al., 1988).....	21
Figura 3: Esquema do controle da filtração vascular.....	22
Figura 4: Anastomoses artério-venosas regulando o fluxo sanguíneo (Fox, 1999).....	23
Figura 5: Capilares linfáticos (GUYTON e HALL, 2006).....	25
Figura 6: Seqüência da cicatrização clássica (BROUGHTON e ROHRICH, 2005).....	28
Figura 7: Microcirculação normal (A) e aumentada, (B) (TROWBRIDGE <i>et al</i> , 1996).....	31
Figura 8: Movimento dos íons em direção ao eletrodo (Robinson & Mackler, 2007).....	45
Figura 9: Comportamento celular (ZHAO et al., 2003).....	47
Figura 10: Pele íntegra (OKINGWA e ISSEROFF, 2002).....	49
Figura 11: Pele lesada (OKINGWA e ISSEROFF, 2002).....	49
Figura 12: Forma de onda monofásica da EEAT (Robinson e Mackler, 2007).....	53
Figura 13: Membrana vascular de ovo de galinha.(Palanker et al., 2008).....	55
Figura 14: Permeabilidade da membrana vascular (Taylor et al., 1997).....	57
Figura 15: Anestesia – Xilazina e Quetamina.....	68
Figura 16: Posicionamento dos eletrodos.....	69
Figura 17: Injeção do Contraste.....	70
Figura 18: Estudo Piloto.....	71
Figura 19: Medida da espessura do abdômen dos ratos.....	72
Figura 20: A imagem radiográfica A de T_0 , T_{30} , T_{60} e T_{90}	73
Figura 21: Osciloscópio.....	75
Figura 22: Montagem do trabalho prático.....	76
Figura 23: Imagem original à esquerda e imagem duplicada.....	78
Figura 24: Imagem original à esquerda, e à direita a imagem duplicada.....	79
Figura 25: Etapas da análise das imagens radiográficas.....	80
Figura 26: A- Histograma e B - listagem do número de pixels na imagem.....	81
Figura 27: Imagem radiográfica da sobreposição do contraste.....	82
Figura 28: Gráfico de comparação do número de pixels ao longo do tempo.....	86
Figura 29: Gráfico de variação percentual no número de pixels entre Grupo A e B.....	87
Figura 30: Gráfico de comparação da intensidade de pixels entre os Grupos A e B.....	89

Figura 31: Gráfico da variação percentual da intensidade de pixels.....	90
Figura 32: Imagem do cálice renal (A) e a bexiga urinária (B).....	91
Figura 33: Gráfico de visualização do rim entre os Grupos A e B	93
Figura 34: Redução da área de pixels claros.....	97
Figura 35: Evolução temporal do contraste após injeção do contraste.....	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação do número de pixels entre Grupo A e B	85
Tabela 2: Comparação de número de pixels versus tempo.....	86
Tabela 3: Variação percentual T_0 a T_{90}	87
Tabela 4: Comparação da intensidade de pixels entre Grupo A e B	88
Tabela 5: Comparação da intensidade de pixels X tempo.....	89
Tabela 6: Variação percentual da intensidade de pixels de T_0 a T_{90}	90
Tabela 7: Comparação da visualização do rim entre os Grupos A e B.....	92
Tabela 8: Comparação da visualização do rim X tempo.....	93
Tabela 9: Escore da visualização do espalhamento do contraste X tempo	94
Tabela 10: Escore do espalhamento do contraste entre os Grupos A e B	95
Tabela 11: Proporção da redução da área de pixels claros X área total	96
Tabela 12: Variação da proporção entre grupo A e B em T_0	96

LISTA DE ABREVIATURAS

EEAT: Estimulação elétrica de alta tensão

NMES: *Neuromuscular electrical stimulation*

TENS: *Transcutaneous electrical nerve stimulation*

SNA: Sistema nervoso autônomo

PPP: Pixels por polegadas

*“A alegria não chega apenas no encontro do achado,
mas faz parte do processo de busca. E ensinar e aprender
não podem dar-se fora da procura, fora da boniteza e da alegria”*

Paulo Freire

AGRADECIMENTOS

Escrever os agradecimentos é mais difícil do que redigir a dissertação. Diversas pessoas colaboraram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho, com sugestões, idéias, críticas e opiniões. Outros contribuíram com carinho, amizade e compreensão, e simplesmente sua presença, torcendo por mim.

Posso cometer mais injustiças esquecendo pessoas que me ajudaram do que fazer jus a todas que merecem. Temendo esquecer alguém, agradeço a todos que conviveram comigo nestes últimos dois anos.

Ao meu orientador Prof. Percy Nohama, cujo coração bate forte por detrás de poesias e livros. Provavelmente, ainda não sabe que não foi ele que me escolheu como orientanda, e sim, o contrário; pelo seu conhecimento, seu senso crítico e sua capacidade de instigar os alunos a sempre buscar mais e melhor;

Ao meu co-orientador Prof. Josuê Bruginski de Paula, pela contribuição fundamental de idéias para viabilização desse projeto e, pela maneira, sempre gentil, de sugerir modificações no mesmo;

Ao Prof. Munir Antônio Gariba, cuja colaboração nas etapas conclusivas da pesquisa foi excepcional e muito bem-vinda;

Ao Prof. Ubirajara Iobe Tasqueti, por disponibilizar o aparelho de Raio-X, utilizado nesta pesquisa, e auxiliar, com imensa boa vontade, na avaliação das imagens radiográficas;

À Profa. Márcia Olandoski, pelas aulas tão bem ministradas de estatística e pela ajuda na análise dos dados nesta pesquisa;

Aos técnicos da Radiologia da PUCPR José Nilton Cavalcante e Josimar Besson, pela boa vontade e pelo apoio técnico excepcional;

Ao aluno da PUCPR, Gean Francesco Derosso Chu, por me ajudar a “decifrar” os dados do osciloscópio e me acompanhar nas tardes de laboratório;

À Márcia Raquel de Andrade, gerente do Instituto São Paulo – filial Curitiba, por gentilmente, ceder o aparelho de estimulação elétrica, viabilizando esta pesquisa;

À Bruna Escaramelo Silva, residente do Curso de Veterinária PUCPR, pelo carinho e apoio e por me ensinar a trabalhar com os ratinhos;

Ao técnico do Biotério da PUCPR, Rafael Zotz, pelo bom-humor, alegria e pela ajuda fundamental na etapa experimental desta pesquisa;

Agradeço imensamente à Deus, por estar sempre comigo, dando-me força interior, amparando-me nos momentos difíceis e dando-me tantas alegrias na vida;

Ao meu marido Márcio Domenici Alves Segundo, por acreditar sempre em mim, ter paciência, me ajudar nas madrugadas de digitação e pelo seu amor, que me dá segurança e me conforta;

À princesa Mariana Gomes Alves, minha filha, por ser esta criança doce e meiga, de olhinhos brilhantes, sempre perguntando sobre os meus ratinhos do laboratório;

Ao Márcio Domenici Alves III, meu filho lindo, de riso fácil, pela chegada tão inesperada e maravilhosa no meio do mestrado; e por me dar tanta alegria sempre;

Aos meus pais, Fernando Consoni Gomes e Vera Beatriz Bermúdez Gomes, pelo amor incondicional, pela presença constante em TODOS os momentos, pelo aprendizado, carinho e apoio;

Aos meus irmãos queridos, Eduardo Bermúdez Gomes, Isabela Bermúdez Gomes e Fernanda Bermúdez Gomes, cada qual com sua contribuição, seja nos

telefonemas ou apenas na função de cuidar das crianças para que eu pudesse escrever...

À minha família maravilhosa
Marcinho, Mariana e Márcio III

RESUMO

Introdução: A maior parte das lesões teciduais normalmente resultam em edema, levando o indivíduo a um quadro de dor e desconforto. O objetivo desta pesquisa foi determinar se, sob os efeitos da estimulação elétrica, há redução de edema.

Metodologia: Vinte ratos machos da espécie Wistar, divididos em dois grupos, teste e controle, foram anestesiados e, no abdômen foi-lhes injetado 0,9 ml de solução radiopaca de ioexol. Esta solução de contraste foi utilizada como um marcador para observação do tempo de reabsorção do mesmo na presença da corrente elétrica. O espalhamento foi monitorizado por meio de radiografia, a cada 30 min, começando no instante 0 (T_0) até 90 min do início (T_{90}). A tensão elétrica foi ajustada em 90% do limiar motor dos animais, com frequência de 120 Hz e duração de pulso de 12,8 μ s, por 1 h.

Resultados: O grupo tratado com o estímulo elétrico não apresentou redução do edema, estatisticamente significativos nos intervalos T_0 ($p=0,515$), T_{30} ($p=0,460$) e T_{60} ($p=0,237$), em relação ao grupo controle. Entretanto, quando se observou o período equivalente a T_{90} , na comparação dos grupos, o espalhamento do edema foi maior no grupo tratado ($p=0,055$). Nas variáveis intensidade de pixels e área de pixels claros versus área total não houve diferenças estatisticamente significantes na comparação entre os dois grupos ($p=0,46$ e $p=0,680$, respectivamente). **Conclusão:** No período de 90 min de avaliação, a estimulação elétrica de alta tensão reduziu o edema simulado no abdômen dos ratos do grupo teste, comparados ao do grupo controle, porém somente nos 30 min finais.

PALAVRAS-CHAVES: Edema, Eletroterapia, Estimulação elétrica, EEAT.

ABSTRACT

Introduction: Most tissue injury results in some kind of edema, leading in pain and discomfort. The aim of this study was to determine whether, under the effects of high voltage pulsed current (HVPC), there is reduction of edema. **Method:** Twenty Wistar male rats were anesthetized and injected in the abdomen, with 0.9 ml of ioexol solution. This X-ray contrast was used as a marker for observing the time of resorption even in the presence of electrical current. The spread was monitored by radiography, every 30 min from the initial moment (T_0) to the final one (T_{90}). The magnitude of the delivered voltage was set to 90% of the animals motor threshold contraction, frequency of 120 Hz, with 12.8 μ s/pulse duration, for 1 h. **Results:** The test group, treated with electrical stimulation, failed to decrease the edema sham, statistically significant in the intervals of T_0 ($p = 0.515$), T_{30} ($p = 0.460$) and T_{60} ($p = 0.237$) in the control group. However, when it observed the range of T_{90} , in the comparison group, the spreading of edema was higher in the treated group ($p = 0.055$). For the variables intensity of pixels and area of light pixels versus total area, no statistical differences occurred when comparing the two groups ($p = 0.46$ and $p = 0.680$, respectively). **Conclusion:** Until 90 min of evaluation, the high-voltage electrical stimulation reduced the simulated swelling in the abdomen of the mice in group test compared to group control, but only in the final 30 min.

KEYWORDS: Edema, Electrotherapy, electrical stimulation, HVPC

1. INTRODUÇÃO

1.1. CONTEXTUALIZAÇÃO DO TEMA

Lesões decorrentes de traumas são comuns durante a prática esportiva, e podem levar o atleta ao afastamento das competições (STEWIEN e CAMARGO, 2005, YARD e COMSTOCK, 2006, SILVA, ABDALLA e FISBERG, 2007).

Segundo estudos de Serrão *et al.* (2007), o próprio exercício, em demasia, pode ser considerado uma agressão, ocasionando sintomas indesejáveis.

Os exercícios de maior intensidade causam danos teciduais (BOTELHO, FACIO E MINAMOTO, 2005), produção de hormônios do estresse e alterações, tanto circulatórias quanto na função, de algumas células imunológicas (NATALE *et al.*, 2003). Aumento de volume local (EISUKE, NAOKATA e KOICHI, 2007) e danos na membrana celular dos músculos (ao nível de túbulos T no retículo sarcoplasmático) (PROSKE e MORGAN, 2001) também foram sugeridos como consequência do exercício excêntrico.

Grande parte das lesões resulta em processo inflamatório agudo, no qual o edema é um dos sinais mais importantes (WANG *et al.*, 2008, REIS *et al.*, 2004). A lesão acentua a velocidade do fluxo sanguíneo em um curto período de tempo aumentando, assim, a resposta inflamatória local e o edema (WANG *et al.*, 2008).

O edema constitui um mecanismo pelo qual o corpo passa a produzir reparações nos tecidos lesados, porém, em grande magnitude, o edema nos tecidos provoca alterações funcionais do interstício (desarticulação do colágeno e negatização

acentuada da pressão intersticial), dor, desconforto, limitação do movimento e, ainda, de forma crônica, a fibrose (CINGOLANI *et al.*, 2004, SGARBI, JUNIOR e NETO, 2006).

O estímulo inflamatório conduz a eventos de dor cada vez mais intensos e provoca alterações fisiopatológicas nos tecidos circunvizinhos, ocasionando maior desconforto e estímulo doloroso, em um processo de realimentação positiva (DESPOPOULOS, 2003, BRAIN *et al.*, 1992).

Segundo Verri Jr. *et al.* (2007), os mediadores químicos liberados na inflamação são os grandes responsáveis pela sensação dolorosa.

Quando a inflamação aguda dura mais de alguns dias, a reação inflamatória crônica se desenvolve, ocasionando destruição irreversível do parênquima normal com conseqüente reparo e substituição por tecido conjuntivo fibroso, resultando, muitas vezes, na perda da função das partes afetadas (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

Gabriel, Petit e Carril (2001) relatam ainda que, caso o edema não seja reduzido, acarretará estado de incapacidade funcional pela limitação da elasticidade muscular, diminuição dos arcos articulares, encurtamento de aponeuroses e, em certos casos, até mesmo a necrose tecidual.

A limitação de movimento, pelo edema, pode alterar a função fibroblástica, comprometendo a produção de colágeno para recuperação da ferida local (RADEK *et al.*, 2008).

Desse modo, para que não haja prejuízo funcional para os indivíduos lesados, os tratamentos para o edema estão sendo pesquisados para possibilitar um processo de recuperação mais rápido e efetivo (TAYLOR *et al.*, 1992; MELLO DE PAULA *et al.*, 2006, DOLAN *et al.*, 2005; MAN, MORRISSEY e CYWINSKI, 2007; ZAINUDDIM *et al.*, 2005, FISH, MENDEL e SCHULTZ, 1991; DOLAN *et al.*, 2003, MENDEL e FISH, 1993,

KARNES *et al.*, 1995, TAYLOR *et al.*, 1997, REED, 1988, McGEOWN, McHALE e THORNBURY, 1987, NEWTON e KARSELIS, 1983). Recursos como crioterapia (SILVA, IMOTO e CROCI, 2007; MATHEUS *et al.*, 2008; OLIVEIRA, GAVA e SALVINI, 2007), cinesioterapia (SILVA, IMOTO e CROCI, 2007), compressão local (OLIVEIRA *et al.*, 2007), bandagens compressivas (DAMSTRA, BROUWER e PARTSCH, 2008), manipulações (CASLEY-SMITH *et al.*, 1998) e eletroterapia (SILVA, IMOTO e CROCI, 2007) vêm sendo estudados para a obtenção da melhora de edemas decorrentes de quadro inflamatório.

A estimulação elétrica aparece como uma alternativa bastante viável, com resultados satisfatórios no que diz respeito à recuperação de feridas (BAKER *et al.*, 1997) e edema (NELSON, HAYES e CURRIER, 2003, MENDEL e FISH, 1993; DOLAN *et al.*, 2005; TAYLOR *et al.*, 1992; TAYLOR *et al.*, 1997; MAN, MORRISSEY e CYWINSKI, 2007; BUTTERFIELD *et al.*, 1997 e DOLAN *et al.*, 2003) , em especial, os estímulos de alta tensão. Seus efeitos vêm sendo observados com diversas técnicas de aplicação, diferentes parâmetros de utilização e resultados claramente satisfatórios (TAYLOR *et al.*, 1992; MERRIMAN *et al.*, 2004, DOLAN *et al.*, 2005; MAN, MORRISSEY e CYWINSKI, 2007; DOLAN *et al.*, 2003, REED, 1988).

A vantagem sobre outros tratamentos ocorre porque a estimulação elétrica de alta tensão, além de reduzir significativamente o edema (FISH, MENDEL e SCHULTZ, 1991; BUTTERFIELD *et al.*, 1997; DOLAN *et al.*, 2003; MAN, MORRISSEY e CYWINSKI, 2007; DOLAN *et al.*, 2005; TAYLOR *et al.*, 1992, REED, 1988, KARNES *et al.*, 1995), ainda promove o incremento do fluxo sanguíneo local (IM, LEE e HOOPES, 1990, TRACY, CURRIER e THRELKELD, 1988, NELSON, HAYES e CURRIER, 2003), redução da permeabilidade vascular (REED, 1988, PALANKER *et al.*, 2008), efeitos

antimicrobianos e bactericidas (FRANEK, POLAK e KUCHARZEWSKI, 2000, KUYKENDALL *et al.* 2004), aumento na troca de líquidos entre os tecidos (MERRIMAM *et al.*, 2004), redução da dor (RODRIGUES-BIGATON *et al.*, 2008), cicatrização de ferimentos (STARKEY, 2001) e, ainda, não causa irritação na pele (NEWTON e KARSELIS, 1983).

Além disso, por ser uma corrente com duração de pulso muito curta promove menor alteração de pH e temperatura no tecido, sendo considerada uma corrente bastante segura (LAMPE, 1998).

Na presente pesquisa, propôs-se uma forma inédita de provocar o edema, sem que houvesse processo inflamatório envolvido, utilizando uma substância radiopaca injetada. A maioria dos autores utilizaram métodos de indução de edema mais agressivos, tais como o trauma mecânico (MENDEL, WYLGALA E FISH, 1992, TAYLOR *et al.*, 1992, MOHR, AKERS e LANDRY, 1987, BETTANY *et al.*, 1990, DOLAN *et al.*, 2003, DOLAN *et al.*, 2005) e a injeção de histamina (REED, 1998, TAYLOR *et al.*, 1997, KARNES *et al.*, 1995), ambos produzindo um evento inflamatório acentuado, comprometendo um tempo maior de reabsorção do edema.

A avaliação de edema proposta por vários autores emprega a técnica de volumetria ou deslocador de água (FISH, MENDEL e SCHULTZ, 1991, MENDEL, WYLGALA e FISH, 1992, GEBRUERS *et al.*, 2007, DOLAN *et al.*, 2005, OLIVEIRA *et al.*, 2006), e medidas circunferenciais (TEWARI *et al.*, 2008); métodos difíceis, imprecisos e/ou inviáveis de se reproduzir com a mesma acuidade em amostras de pequeno porte, como os ratos utilizados nesta pesquisa. Assim, optou-se por utilizar uma metodologia inédita para coleta dos dados, por meio de radiografia contrastada, possibilitando acompanhar a evolução do edema em diferentes intervalos de tempo.

1.2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste projeto de pesquisa é determinar se, sob os efeitos da estimulação elétrica, há redução do edema, em ratos.

Dentre os objetivos específicos, busca-se:

- (a) quantificar a reabsorção da substância radiopaca, que simula o edema o abdômen dos ratos, por meio de análise da área do espalhamento do mesmo ao longo do tempo;
- (b) determinar se o protocolo estimulatório proposto reduz o edema mais rapidamente que o grupo controle, nos quatro intervalos definidos;
- (c) avaliar os resultados da comparação da quantidade de contraste reabsorvido entre cada um dos instantes de monitoração entre si e entre os grupos teste e controle;
- (d) analisar os resultados obtidos em cada uma das etapas descritas, explicitando os aspectos ligados ao comportamento do edema durante 90 min.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A microcirculação e o Processo Inflamatório

A microcirculação constitui um conjunto de vasos sanguíneos responsável pelo envio de nutrientes para as células dos tecidos e, em contrapartida, remoção dos produtos finais do seu metabolismo (GUYTON e HALL, 2006)

Cada rede microvascular está organizada para suprir as necessidades do órgão ou tecido em questão (LAMB *et al.*, 1988).

As arteríolas que compõem a microcirculação ramificam-se em pequenos vasos, as meta-arteríolas, constituídas de uma camada descontínua de músculo liso. Estas, por sua vez, desmembram-se em capilares que se anastomosam, dando origem a uma grande rede capilar (SIQUEIRA JUNIOR e DANTAS, 1996).

O sangue que percorre esses vasos é composto por células vermelhas (eritrócitos), células brancas (leucócitos) e plaquetas, todos suspensos no plasma sanguíneo (SUGIHARA-SEKI e FU, 2005).

Todos os dias, em média, 20 l de plasma são filtrados dos capilares para o espaço intersticial (CINGOLANI *et al.*, 2004). Isto ocorre essencialmente por difusão, como mostra a Figura 1, resultando da movimentação de moléculas de água e substâncias dissolvidas no fluido plasmático, possibilitando diferentes íons e moléculas se movimentarem, primeiro em uma direção e depois em outra (GUYTON e HALL, 2006).

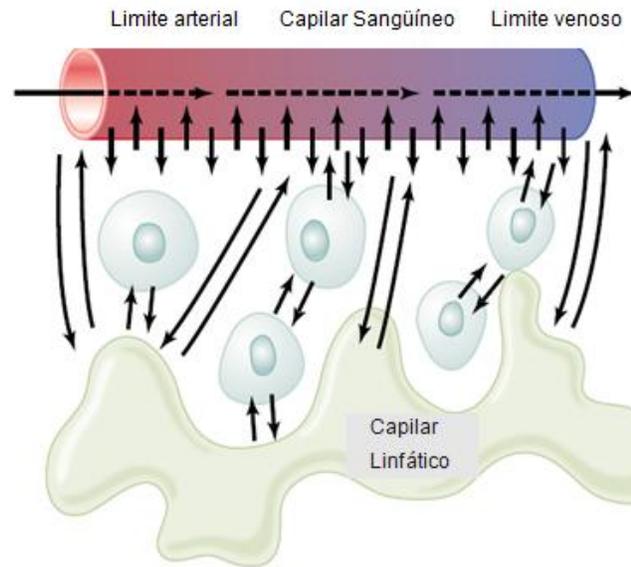


Figura 1: Difusão entre capilar e espaço intersticial (Guyton e Hall, 2006).

O controle da resistência periférica e da própria microcirculação é realizado em parte pelo Sistema Nervoso, que atua sobre a musculatura lisa ao redor dos vasos e, em parte, pela quantidade de metabólitos locais produzidos pelas células, que atuam nos esfíncteres pré-capilares – quanto mais metabólitos maior o escape de líquido através da membrana vascular (Figuras 2 e 3) (LAMB *et al.*, 1988).

Segundo Berne *et al.* (2004), esta vasomotricidade pode ser independente de fatores externos (apresentando contração ou relaxamento do tipo aleatório) ou responder às alterações de pressão intramural (diferença entre a pressão intra e extravascular). Assim, quando há uma queda acentuada de oxigênio local e aumento da pressão intramural, os fatores humorais (metabólitos) podem suprimir a vasomotricidade, como, por exemplo, em um exercício físico intenso.

Assim, o local de aumento da atividade celular (por exemplo: o local solicitado para desempenhar o exercício) requer um aumento no fluxo sanguíneo local, provavelmente porque a natureza dos metabólitos eleva a PCO_2 (pressão parcial de

dióxido de carbono), diminui o pH sangüíneo, aumenta a concentração de íons K^+ , adenosina e ácido láctico, diminuindo a PO_2 (pressão parcial de oxigênio) e aumentando a temperatura local (LAMB *et al.*, 1988).

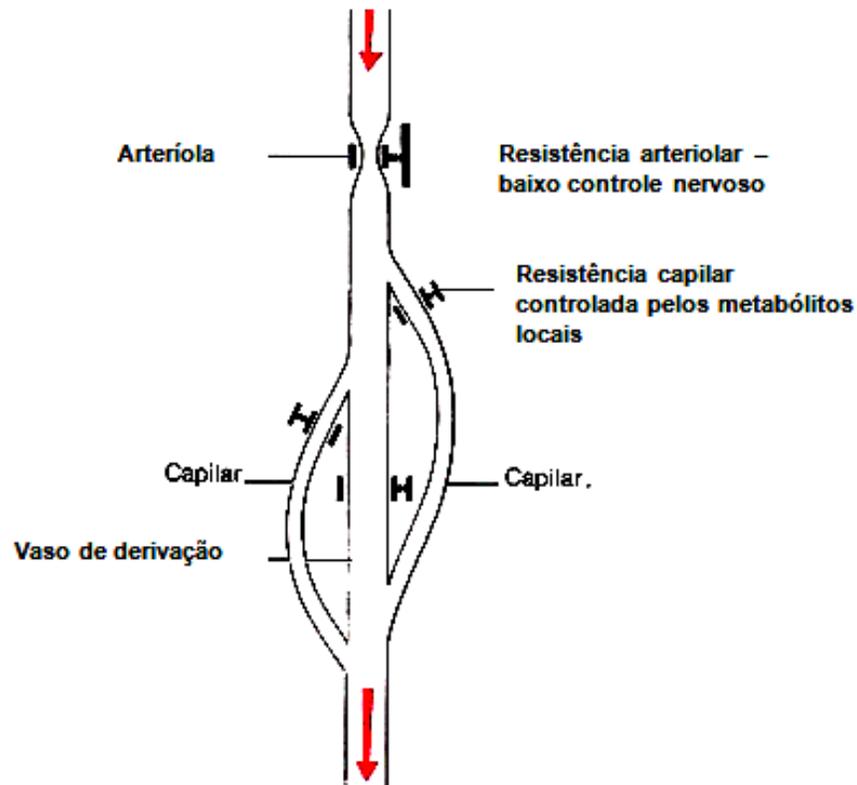


Figura 2: Controle da microcirculação arteriolar pelo sistema nervoso e metabólitos locais no controle da resistência periférica vascular (Lamb et al., 1988).

Há, ainda, estudos experimentais, citados por Sugihara-Seki e Fu (2005), que indicam fatores como a adesão entre leucócitos (liberados no início do processo inflamatório) e endotélio vascular, aumentando significativamente a resistência ao fluxo sangüíneo nos microvasos.

Claro que isto depende da quantidade de leucócitos locais e, ainda, do diâmetro do vaso. Leucócitos liberados após um estímulo teriam efeitos piores do que aqueles

presentes normalmente no sangue (SUGIHARA-SEKI e FU, 2005).

Nos achados de NATALE *et al.* (2003), a contagem leucocitária, após o exercício aeróbico prolongado, aumentou significativamente. Nesse estudo, oito indivíduos saudáveis submeteram-se a exercícios vigorosos (exercícios de resistência e de pico máximo aeróbico) e a coleta de sangue para observação. Em todos os exercícios, o nível de leucócitos aumentou significativamente em relação ao encontrado normalmente no indivíduo, indicando que a atividade aeróbica prolongada é a que mais aumenta a contagem leucocitária, ou seja, o processo inflamatório local.



Figura 3: Esquema do controle da filtração vascular.

Na anatomia microcirculatória existem também as anastomoses arteriovenosas (Figura 4) que podem estar envolvidas na regulação do fluxo sanguíneo; normalmente, nos processos patológicos, evitando aumento de pressão a nível capilar (SIQUEIRA JUNIOR e DANTAS, 1996).

É, portanto, nos capilares que ocorre a troca de nutrientes necessária para a função celular. Esta troca acontece por meio de filtração (GUYTON e HALL, 2006).

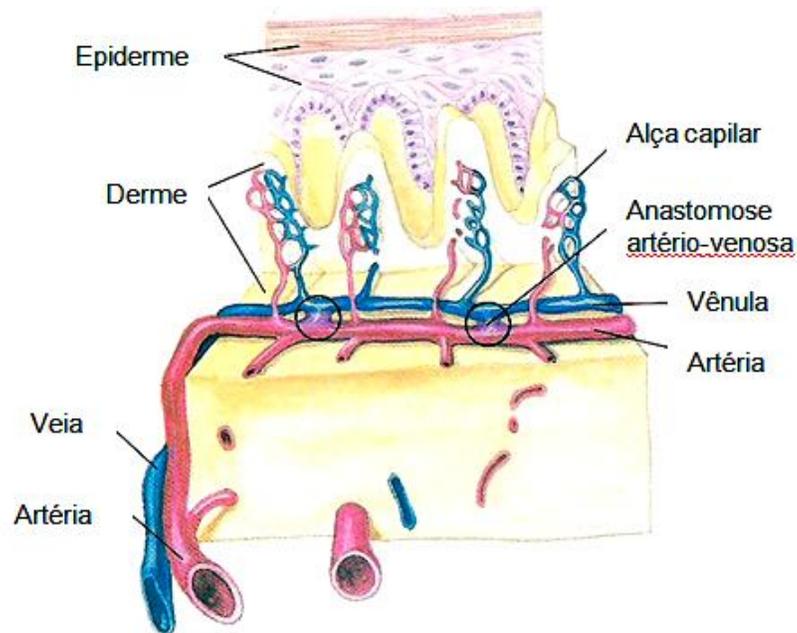


Figura 4: Anastomoses artério-venosas impedindo o aumento da pressão capilar, regulando o fluxo sanguíneo (Fox, 1999).

Segundo Cingolani *et al.* (2004), quem estabelece esta filtração constante são dois mecanismos de pressão denominados:

- pressão hidrostática (ou pressão de líquido): com valor aproximado de 35 mmHg;
- pressão coloidsmótica (ou pressão de proteína plasmática): que se opõe à pressão sangüínea, com valor aproximado de 25 mmHg.

Esta diferença de pressão faz com que o fluido e as diferentes substâncias dissolvidas nele sejam “pressionados” para dentro do espaço intersticial pela diferença de pressão (35-25= +10 mmHg).

Este fenômeno de diferencial de pressões, determinando o mecanismo de filtração vascular e transporte de substâncias, principalmente macromoléculas (proteínas), através dos poros da membrana vascular é conhecido como “Lei de Starling” (TROWBRIDGE e EMLING, 1996, SIQUEIRA JUNIOR e DANTAS, 1996).

E. H. Starling apontou, há mais de um século, que em condições normais, existe um estado de equilíbrio na membrana do vaso sanguíneo que ocorre pelos valores de pressões hidrostática e coloidosmótica representados pela quantidade de líquido e proteínas, respectivamente, existentes na microcirculação (GUYTON e HALL, 2006).

O líquido e as proteínas que extravasam dos vasos são depois reabsorvidos pelos capilares linfáticos, com a ajuda dos filamentos ancoradouros que abrem os canais linfáticos por meio da percepção da diferença de pressão nos meios externo e interno (LITTLE e GINSBURG, 1984).

Assim que entram nas vias linfáticas, o líquido e as proteínas distendem a musculatura lisa do capilar, provocando um estímulo de resposta de contração, que atua como bomba propulsora levando o conteúdo linfático de volta à circulação venosa (Figura 5) (GUYTON e HALL, 2006).

Quando uma lesão ocorre no tecido, causada por bactérias, trauma, agentes químicos, calor ou qualquer outro fenômeno, mudanças nas pressões ocorrem e alterações importantes são observadas ao redor do local lesado. Este conjunto de mudanças ocasionadas no tecido recebe o nome de inflamação (GUYTON e HALL, 2006, VANDER, SHERMAN e LUCIANO, 1981, TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

O objetivo da inflamação é proteger o organismo e induzir o tecido ao seu estado normal novamente. Esse processo destrói, dilui ou controla os agentes provocadores da

lesão, representando a soma das reações dos tecidos do corpo à lesão celular ou à morte celular (STARKEY, 2001, SIQUEIRA JUNIOR e DANTAS, 1996).

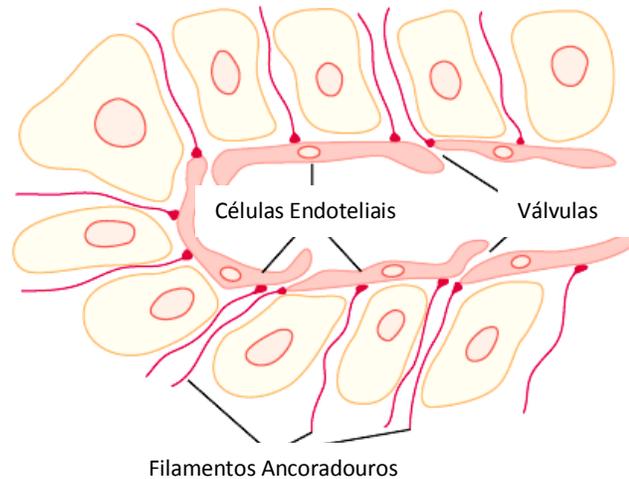


Figura 5: Estrutura dos capilares linfáticos que auxiliam na absorção de proteínas e líquido intersticial (GUYTON e HALL, 2006).

Segundo Siqueira Junior e Dantas (1996) e Lamb *et al.* (1988), logo após a agressão, há uma vasoconstrição das arteríolas, provavelmente mediada por uma reação neurogênica, que dura, no máximo, 5 s. Depois ocorre vasodilatação, inicialmente, arteriolar (provocada pela abertura dos esfíncteres pré-capilares e presença de substância H – histamina), desencadeando todos os fenômenos inflamatórios.

Isto explicaria a resposta vascular localizada logo após uma agressão (GAMGEMI, CARNINO e STELLA, 2010).

A proporção de todos esses efeitos é determinada pelo grau da agressão ocorrida e promove a liberação de substâncias conhecidas como mediadores químicos responsáveis pelos eventos inflamatórios citados (LAMB *et al.*, 1988).

Importante citar que o trauma acaba por destruir as células endoteliais regionais, provocando espaços entre elas, sem destruir a membrana basal dos vasos (ela fica intacta e não ocorre hemorragia) (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

Esta condição possui significado funcional, pois a presença do líquido que extravasa, em consequência disso, gera modificações na distribuição do fluxo microvascular e retarda o intercâmbio de nutrientes e produtos finais do metabolismo celular entre célula e plasma (SELKURT, 1986).

Durante essa hiperemia reativa à própria complacência vascular é alterada (FINKELSTEIN, COLLINS e COHN, 1988; BALDASSARRE *et al.*, 2001).

Interessante que, nos achados de Zhan, Yuan e Oettgen (2009), a resposta vascular aos agentes inflamatórios, ocorreu pela presença dos genes específicos chamados de fatores Ets – 1, ativados no indivíduo. Os pesquisadores ainda observaram que esses fatores liberaram substâncias vasoativas (angiotensina, trombina e prostaglandinas), que não só aumentam a pressão sanguínea, como promoveram o recrutamento de células inflamatórias; incluindo células T e monócitos nas paredes dos vasos. Nas amostras com deficiência desses fatores Ets – 1 não houve resposta acentuada de agentes respondendo ao influxo de angiotensina.

Saban *et al.* (2007) também observaram a regulação genética da resposta de secreção das substâncias pró-inflamatórias e, portanto, da inflamação, após uma lesão.

Um estudo anterior (CALVANO *et al.*, 2005) já havia utilizado 8 sujeitos adultos para pesquisa de contagem leucocitária com objetivo de acompanhar a resposta inflamatória após exposição a um mediador químico injetável e avaliação genética posterior.

Segundo os estudos de Kriete e Mayo (2009) e de Ungvari *et al.* (2007) durante o processo de envelhecimento estes fatores genéticos aumentaram sua atividade. Pacientes de 22 até 92 anos foram avaliados por meio da reatividade destes fatores em fibroblastos e observou-se o incremento das respostas na função dos NF – kB (quando o *NF-kB* é ativado por um sinal químico, ativa a maquinaria da expressão gênica que comanda a inflamação ou seja é um agente pró-inflamatório).

Além disso, com o progresso do processo inflamatório, há a liberação de enzimas lisossômicas dos macrófagos causando destruição de várias células teciduais lesadas ou necróticas e promovendo limpeza local (MOSSER e EDWARDS, 2008).

As características do processo inflamatório, segundo Guyton e Hall (2006), são principalmente:

- (1) aumento da permeabilidade da membrana vascular;
- (2) vasodilatação local;
- (3) extravasamento de plasma sanguíneo para os espaços intersticiais, principalmente porque o excesso de fibrinogênio e outras proteínas estão saindo dos capilares também;
- (4) migração de um número grande de granulócitos e monócitos para o tecido;
- (5) inchaço das células do tecido.

De acordo com a figura 6 (BROUGHTON e ROHRICH, 2005), os eventos inflamatórios são: vasodilatação ativa, eventos celulares, epitelização, síntese de colágenos (fibroblastos), contração da ferida e remodelamento.

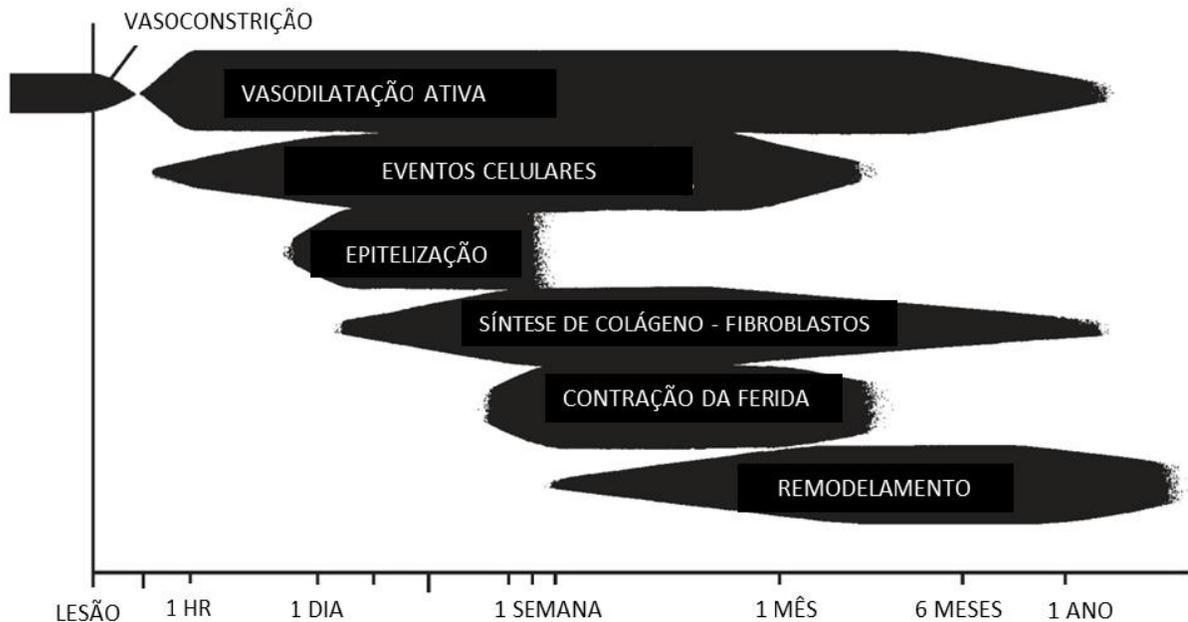


Figura 6: Seqüência de tempo de uma cicatrização clássica (BROUGHTON e ROHRICH, 2005).

Os sinais clínicos da inflamação são: dor, inchaço (tumor), calor (aumento de temperatura) e rubor (alteração de coloração da pele) (VANDER, SHERMAN e LUCIANO, 1981; SIQUEIRA JUNIOR e DANTAS, 1996; FOX, 1999).

O fator fisiológico local mais comum de formação de edema é o excesso de filtração capilar, levando a um acúmulo de líquido no espaço intersticial. Isto é determinado pelo incremento do coeficiente de filtração capilar dado pela equação 1:

$$F = K_f \times (P_c - P_{if} - \pi_c + \pi_{if}) \quad (1)$$

sendo K_f , o produto da permeabilidade com a área do capilar; P_c , a pressão hidrostática do capilar; P_{if} , a pressão hidrostática do interstício; π_c , a pressão coloidosmótica do plasma capilar e π_{if} , a pressão coloidosmótica do interstício.

A filtração capilar aumenta quando ocorre:

(1) aumento do coeficiente de filtração capilar;

(2) aumento da pressão hidrostática ou;

(3) diminuição da pressão coloidosmótica do plasma (GUYTON e HALL, 2006).

Portanto, quando ocorre aumento da pressão hidrostática na microcirculação (que força a saída de fluido dos vasos) e a passagem do fluido pelas vênulas, a permeabilidade da membrana vascular permite a passagem de grandes quantidades de proteínas, o que provoca mais saída de fluido para fora dos vasos pelo aumento da pressão coloidosmótica no tecido (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

Durante o processo inflamatório agudo, estes mediadores químicos dilatam os vasos que compõem a microcirculação da região afetada, tornando as células endoteliais muito permeáveis a grandes moléculas. O aumento do volume tissular relaciona-se de forma direta a essas alterações (VANDER, SHERMAN e LUCIANO, 1981).

A histamina é o primeiro mediador químico a ser liberado após o trauma. Esta amina vasoativa é considerada um poderoso vasodilatador da resposta inflamatória e está presente em diversos tecidos, em especial nos mastócitos, basófilos circulantes e plaquetas (VANDER, SHERMAN e LUCIANO, 1981, TROWBRIDGE e EMLING, 1996, FOX, 1999).

Fatores humorais ou mediadores químicos, como hormônios e íons, também auxiliam no controle da circulação e atuam nos capilares, vasodilatando-os ou constringindo-os de acordo com o quadro 1 (GUYTON e HALL, 2006):

Devido à injúria, essas células rompem-se mecanicamente e liberam histamina. Essas células estão estrategicamente localizadas nos tecidos conjuntivos próximos às vênulas das superfícies cutâneas e mucosas e atuam diretamente nas células endoteliais da membrana vascular (Figura 5) (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

Quadro 1: Agentes Humorais envolvidos no processo inflamatório.

FATOR HUMORAL	VASODILATADOR	VASOCONSTRICTOR
Norepinefrina / Epinefrina		X
Angitensina II		X
Vasopressina		X
Endothelin-A		X
Bradicinina	X	
Histamina	X	
↑ [Cálcio]		X
↑ [Potássio]	X	
↑ [Magnésio]	X	
↑ [Hidrogênio]	X	
↑ [Dióxido de Carbono]	X	

↑ : aumento de substância no local

Para que isto ocorra, a histamina deve ligar-se aos receptores das células endoteliais conhecidos como H1. A interação provoca a contração das células criando espaços (*gaps*) intercelulares por meio dos quais as substâncias atravessam (VANDER, SHERMAN e LUCIANO, 1981).

Em 1969, Majno, Shea e Leventhal, supuseram que os mediadores químicos liberados durante o processo inflamatório produzem contrações nas estruturas vasculares e abrem canais (*gaps*) entre as células endoteliais, permitindo que as macromoléculas do plasma (proteínas) extravasem com mais rapidez para o interstício. Neste estudo, os pesquisadores utilizaram histamina para produzir um processo inflamatório e evidenciaram a contração do núcleo das células endoteliais, reforçando o achado de abertura entre estas células.

Segundo Miller e Sims (1986) este tipo de comunicação célula-célula está muito bem documentado por pesquisas experimentais (FURCHGOTT, 1983; De MEY *et al.*, 1982). Esses estudos descrevem a reação celular como resposta à própria liberação de

substâncias químicas inflamatórias pelas células e não pela interação das substâncias com a musculatura do vaso.

Além da histamina, o corpo possui mais três sistemas capazes de originar os mediadores inflamatórios: o de cininas, o fibrinolítico e o de complemento (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

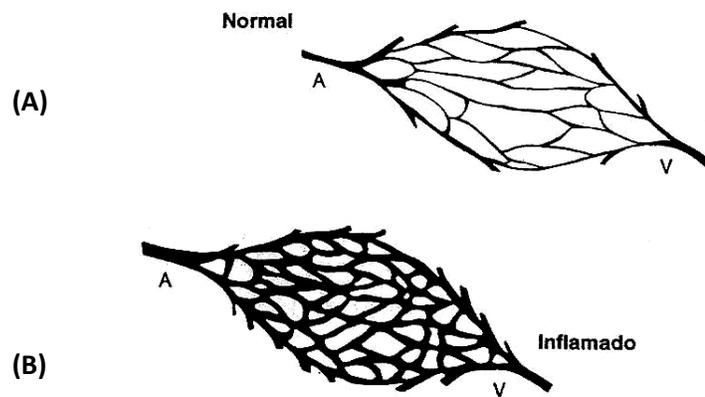


Figura 7: Microcirculação normal (A) e aumentada, após a liberação da histamina (B) (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

O sistema de cininas tem efeitos similares aos da histamina, pois resultam na liberação do nano-peptídeo bradicinina (Figura 7) (VANDER, SHERMAN e LUCIANO, 1981, TROWBRIDGE e EMLING, 1996). Além disso, segundo Vander, Sherman e Luciano (1981), são poderosos fatores quimiotáticos (exercem poder de atração sobre outras células).

A bradicinina parece estar relacionada com a fase tardia da permeabilidade vascular. É formada a partir de precursores inativos como fator de Hageman (fator XII) ativando a calicreína que quebra o cininogênio, que inativa uma glicoproteína do plasma, para produzir a bradicinina. Já o sistema fibrinolítico está relacionado aos

últimos estágios da resposta inflamatória aguda. Assim como no sistema de cininas, quem começa a cascata de eventos é o fator de Hageman. Sua ativação leva à produção de plasmina, a partir do seu precursor inativo plasminogênio (TROWBRIDGE e EMLING, 1996). Por meio de reações químicas, ele pode ativar tanto o sistema de cininas quanto o de complemento e, ainda, aumentar a permeabilidade vascular pela produção de fibrinopeptídeos, a partir da digestão de fibrinas (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

O sistema de complemento é acionado e outras células partem em defesa do tecido. São elas basófilos, neutrófilos e, principalmente, macrófagos (DESPOPOULOS, 2003, SCHAUF, 1993, FOX, 1999). Este sistema é constituído por 20 proteínas interativas da membrana celular e plasma (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

Os neutrófilos e macrófagos liberados secretam proteases como elastases e collagenases e, ainda, agentes de crescimento como fatores de crescimento fibroblástico - bFGF (SCHULTZ *et al.*, 2003).

O objetivo do sistema complemento é a “lise” (quebra) de células bacterianas no local da lesão, atraindo leucócitos e estimulando fagócitos. Algumas das proteínas do complemento (designadas C1 a C9) têm efeitos vasculares semelhantes aos das cininas. Outras delas causam liberação de histamina pelos mastócitos, e algumas ocasionam a quimiotaxia dos neutrófilos para a área inflamada para realizarem a fagocitose (SCHAUF, MOFFETT e MOFFETT, 1993).

Segundo Schawartz *et al.* (2009), em seus estudos sobre a ligação existente entre a hiperosmolaridade e o aumento da inflamação, perceberam que osmolaridades mais altas resultam na secreção mais acentuada de agentes pró-inflamatórios (citocinas). No estudo, a análise dos resultados foi baseada na verificação do aumento

da produção do RNA das citocinas após aumento de osmolaridade pela inflamação local por meio do uso de: injeções diárias subcutâneas de BCG aplicadas durante uma semana (*Mycobacterium bovis* atenuada), no primeiro grupo e; injeções diárias de *Mycobacterium tuberculosis* inativas durante dois dias, no segundo grupo (SCHAWARTZ, *et al.*, 2009).

As prostaglandinas têm também um papel fundamental no processo inflamatório e a principal delas é produzida pelos macrófagos: prostaglandina E2 (PGE2). Esta substância potencializa tanto a capacidade de estimulação dos aferentes da dor pela bradicinina, como as alterações vasculares da inflamação (SCHAUF, MOFFETT e MOFFETT, 1993).

No momento em que as alterações fisiológicas acontecem, a probabilidade de diminuição da drenagem linfática aumenta, visto que a relação oferta/demanda líquida sofre desequilíbrio e há uma conseqüente obliteração ou obstrução do vaso linfático, causando o conseqüente edema (CINGOLANI *et al.*, 2004, SELKURT, 1986).

O edema é a condição de acúmulo excessivo de líquido no interstício (SELKURT, 1986; SCHAUF, MOFFETT e MOFFETT, 1993; TROWBRIDGE e EMLING, 1996; SIQUEIRA JUNIOR e DANTAS, 1996 e LITTLE e GINSBURG, 1984).

A formação do edema, segundo Selkurt (1986), requer aumento de pressão venosa superior a 10 mmHg ou, no mínimo, redução de pressão coloidosmótica do plasma em 50 %. Esta margem de segurança apresentada, durante a formação do edema, ocorre pelos seguintes aspectos:

- (a) aumento da pressão hidrostática do interstício, com conseqüente redução da pressão oncótica do líquido intersticial pelo líquido filtrado;

(b) aumento do bombeamento miogênico linfático, devido à pressão hidrostática do interstício estar aumentada; o que reduz o aumento do volume intersticial e a remoção de proteínas intersticiais e;

(c) vasoconstrição miogênica da musculatura lisa dos esfíncteres arteriolares e pré-capilares, reduzindo a pressão hidrostática capilar e a área de superfície capilar.

A dor associada ao edema ocorre porque o fluido exsudato extravasado produz compressão nas terminações nervosas sensitivas. Outro fator parece recair sobre os próprios mediadores químicos que podem diminuir o limiar de dor nas fibras nervosas (LOW e REED, 2001 e TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

O aumento de temperatura provocado pelo edema causa maior fluxo de sangue para o local (AL MALTY e PETROFSKY, 2007).

A resposta inflamatória aguda torna-se crônica quando a inflamação aguda não é totalmente resolvida ou quando o agente infeccioso persiste. Caracteriza-se pela proliferação de fibroblastos e elementos vasculares e, ainda, infiltração de macrófagos, linfócitos e plasmócitos (TROWBRIDGE e EMLING, 1996 e SCHULTZ *et al.*, 2003).

Esta resposta está geralmente associada à destruição irreversível do parênquima normal com substituição do tecido por conjuntivo fibroso, gerando perda de função da região (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

Os mecanismos desta destruição envolvem produção de radicais livres derivados do oxigênio de células inflamatórias (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

Segundo De Palma (2008) e Guo e Di Pietro (2010), para que haja melhora da lesão, em cada indivíduo dever-se-ia considerar os fatores locais (oxigenação, presença ou não de infecções, metabolismo) e os fatores sistêmicos (idade, estresse,

hormônios sexuais, diabetes ou não, uso de medicações, obesidade, uso de álcool, cigarro e nutrição do indivíduo) e, dependendo disso, haveria ou não melhora no tecido lesado.

A etapa final do processo inflamatório é o reparo tecidual. Os fibroblastos, na região, dividem-se rapidamente e começam a secretar grandes quantidades de fibras colágenas, elásticas e reticulares (VANDER, SHERMAN e LUCIANO, 1981 e GOSAIN e DiPIETRO, 2004).

De acordo com Eberle *et al.* (2010), mínimos mecanismos estimulatórios nos locais inflamados e edemaciados podem piorar a dor e a resposta neuro-inflamatória.

Nestes casos, Drummond (2010) sugere que é melhor atuar diretamente com medidas que bloqueiem ou até, impeçam o processo inflamatório, do que deixar que ele seja exacerbado, agravando os sintomas locais.

2.2. Estimulação Elétrica: uma opção de tratamento

Desde 1783, a partir dos trabalhos de Murat (Mendel e Fish, 1993), têm-se estudado os efeitos da estimulação elétrica. Segundo Robinson e Mackler (2007), a estimulação elétrica pode produzir inúmeros efeitos nos tecidos biológicos.

As correntes elétricas podem atuar no edema pós-trauma (STRALKA, JACKSON e LEWIS, 1998), em reabilitação pós-cirúrgica (HOLCOMB, RUBLEY e GIROUARD, 2007), na cicatrização de feridas (KLOTH *et al.*, 2005), no aumento de fluxo sanguíneo local (PETROFSKY *et al.*, 2008), na redução da dor (STRALKA, JACKSON e LEWIS,

1998 e MELLO DE PAULA *et al.*, 2006) e na melhora da força muscular (BENNIE, PETROFSKY e NISPEROS, 2002).

O corpo possui uma capacidade variável de condução elétrica. Quanto mais elétrons livres (íons) um material apresentar, melhor condutor de corrente ele será. Nem todos os tecidos corporais são bons condutores (STARKEY, 2001).

Outro fator determinante para a passagem de corrente pelo tecido, é a quantidade de água que ele apresenta: sangue e nervos apresentam menor resistência à passagem da corrente elétrica (STARKEY, 2001).

Neste contexto, Gentzkow (1992) ressalta uma mudança na corrente elétrica contida na superfície do próprio tecido, quando lesado; explicada posteriormente.

2.2.1. Efeitos Cicatrizantes

Reich e Tarjan (2007) mostraram que o uso da eletroestimulação acelera a resposta cicatricial, provavelmente pelo fluxo da corrente, aumentar a resposta fisiológica no local da lesão.

Cukjati *et al.* (2001) verificaram quantitativamente que úlceras de pressão estimuladas com correntes elétricas melhoram mais rapidamente e com mais qualidade do que as que não recebem este tratamento. Mais de 90% de lesões tratadas com correntes elétricas melhoraram, enquanto que nos tratamentos placebo apenas 70% delas foram curadas. E, ainda, somente 72% daquelas que receberam tratamentos conservadores melhoraram durante a observação do mesmo período de tempo.

Segundo Kloth *et al.* (2005), os efeitos da eletroestimulação estão bem documentados também na melhora da cicatrização de feridas crônicas. Alguns desses

estudos reportam a migração celular para o local enquanto outros avaliam a síntese de substâncias pelas células expostas ao estímulo elétrico.

Os campos elétricos também foram utilizados nos experimentos de Jennings, Chen e Feldman (2008), onde os genes que regulam a formação de fibroblastos foram submetidos ao campo elétrico de 100 mV/mm por 1 h, e apresentaram aumento de expressão sugerindo efetividade na recuperação de feridas que não haviam sido curadas no tempo normal.

Baker *et al.* (1997) testaram a estimulação elétrica bifásica no tratamento de 80 pacientes diabéticos com escaras abertas e chegaram à conclusão que existe uma melhora considerável no fechamento da ferida após a aplicação de corrente bifásica assimétrica.

Solis *et al.* (2007) obtiveram resultados positivos com o uso de estimulação elétrica intermitente (10-40 mA, 250 μ s, 50 pulsos/seg) para contração muscular prevenindo o aparecimento de edema e inflamação local, sinais que antecedem a úlcera de pressão.

Em relação às úlceras de decúbito, Kloth e Feedar (1988) também descreveram resultados significativos com o uso da estimulação elétrica de alta tensão na cicatrização das feridas. Em sua pesquisa utilizaram 16 pacientes apresentando úlceras de pressão em um tratamento de estimulação elétrica com frequência de 100Hz, 60 min por dia, cinco dias por semana, visando a reepitelização e granulação.

Levine *et al.* (1989) sugeriram que a melhora na cicatrização de úlceras sob o efeito da estimulação elétrica ocorreu pelo aumento do fluxo sanguíneo local e diminuição da pressão nas estruturas ósseas.

Quando se utilizou o estímulo elétrico de baixa corrente (na faixa de microamperes) para a melhora do processo de reparo tecidual em ratos, os resultados, de acordo com o estudo de Leffmann *et al.* (1994) não foram satisfatórios, não havendo diferença histológica significativa (densidade de fibroblastos e vascularização local) entre o grupo tratado e o grupo controle.

Já Mendonça *et al.* (2009) relataram a existência de uma fase proliferativa mais precoce no reparo de lesões cirúrgicas em ratos, utilizando o estímulo de baixa corrente (μA) associada ou não a um princípio ativo (*Aloe vera*). Além disso, observaram a hiperplasia menor no grupo controle quando comparado aos demais grupos.

2.2.2. Efeitos no Edema

Estudos de Karnes (1995), Taylor *et al.* (1997), Reed (1988) e Holcomb, Rubley e Girouard (2007) apontaram que o estímulo elétrico pode atuar diretamente na permeabilidade da membrana vascular e evitar, assim, um intenso extravasamento de líquidos após um trauma físico, prevenindo a instalação de um processo inflamatório acentuado.

Outro fator interessante da corrente elétrica, segundo Starkey (2001), é que o aumento da temperatura eleva o movimento aleatório dos elétrons livres, o que reduz a resistência ao fluxo de corrente.

Além disso, a corrente elétrica afeta a orientação, migração, formato e crescimento celular, além de estimular a angiogênese e melhorar a cicatrização (WANG e ZHAO, 2010).

Se a corrente é capaz de estimular a angiogênese, ou seja, incrementar a produção de fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF) então, segundo Goldman *et al.* (2007), esses mesmos fatores auxiliam na formação de novos vasos linfáticos, o que melhora a captação de líquidos, na ocasião de um edema.

Segundo Low e Reed (2001), o efeito de controle e redução de edema observado com o uso da eletroestimulação ocorre através de, pelo menos, três mecanismos distintos. São eles:

(1) ação de bombeamento muscular, em que a contração intermitente comprime vasos adjacentes e aumenta a pressão intersticial (ação considerada efetiva na redução do edema);

(2) aplicação da corrente deslocando proteínas carregadas negativamente do líquido intersticial da região traumatizada. Este aumento da captação linfática reduz o edema. Ainda existem algumas controvérsias nesse aspecto, apesar de estudos (MOHR, AKERS e LANDRY, 1987, TAYLOR *et al.*, 1992) demonstrarem os efeitos positivos na aplicação da corrente pulsada de alta tensão no controle e redução do edema;

(3) redução da permeabilidade dos capilares, diminuindo a perda de líquido e proteína plasmática para o espaço intersticial (MENDEL, WYLGALA e FISH, 1992 e REED, 1988).

Um outro mecanismo que explicaria o controle do edema seria baseado na teoria de que uma corrente pulsada monofásica produz espasmo vascular, impedindo que os fluídos plasmáticos escapem dos vasos (STARKEY, 2001).

Isto foi observado nos experimentos de Palanker *et al.* (2008) onde, após 1 min de estimulação elétrica nas membranas coriônicas de ovos, ocorreu vasoconstrição

temporária de artérias e veias. Após 30 s de parada do tratamento os vasos começaram a se dilatar novamente.

Cho *et al.* (2000) constataram, após utilizar corrente elétrica com frequência de 1 Hz e tensão de 2 V/cm, a intensa migração de macrófagos para o local da ferida, sugerindo que tal fenômeno ocorra pela direta ligação existente entre a adesão de proteínas nas células e a presença dos campos elétricos.

A estimulação a nível motor também apresentou resultados eficazes no controle e redução do edema. Como citado por Low e Reed (2001) e Starkey (2001), as contrações musculares auxiliariam no retorno venoso e linfático através de um aumento da frequência da corrente para se obter uma contração tônica, e, em seguida, empregar-se-ia um ciclo de funcionamento de 50% para provocar contrações desejadas.

Segundo as pesquisas de Al Maltby e Petrofsky (2007), os tecidos que se encontraram com aumento de temperatura (36,8°C, 36,9°C) responderam melhor à estimulação elétrica do que aqueles que mantinham temperatura normal (36,5°C, 36,6°C).

O aumento do fluxo sanguíneo também foi observado nos estudos de Shen, Gao e Su (2009), quando compararam coelhos em um grupo controle e 3 grupos estimulados eletricamente (1 Hz, 10 Hz e 40 H) com eletrodos implantados no nervo ciático e glúteo máximo. O resultado apontou para melhora da velocidade de fluxo de sangue para o local do procedimento cirúrgico com a frequência de 40 Hz e, ainda, aparecimento de fatores angiogênicos no local.

O aplicação de estimulação elétrica em ferimentos associado a um prévio aquecimento no ambiente também foi testado por Petrofsky *et al.* (2008). Eles

observaram que, após a estimulação elétrica com uma intensidade de 15 mA no ambiente frio, o fluxo sanguíneo das amostras aumentou, porém voltou rapidamente ao normal; entretanto, no ambiente aquecido (34° C), o fluxo sanguíneo local continuou a aumentar mesmo após 10 min e se manteve alto até 60 min após o fim da estimulação. Ambos os resultados, segundo o estudo, são desejáveis no processo de recuperação, dependendo da fase da inflamação. Sugeriu-se, neste caso, o uso da estimulação elétrica associado a um ambiente aquecido gerando vantagens na recuperação tecidual.

Já Im, Lee e Hoopes (1990) pesquisaram o uso da estimulação elétrica pulsada para melhora de fluxo sanguíneo e redução da isquemia no tecido de 12 porcos. Em seu estudo, utilizaram a frequência de 128 Hz com intensidade de 35 mA, duas vezes ao dia, por nove dias. Interessante notar que realizaram o uso da estimulação com pólo negativo nos três primeiros dias, depois com o pólo positivo nos três dias seguintes e os últimos três dias com estímulo negativo novamente. Obtiveram resultados significativos reduzindo de 28 para 13,2% a área da necrose provocada nos tecidos.

Quando comparado o uso da estimulação elétrica e o uso do laser terapêutico, Demir, Balay e Kirnap (2004) obtiveram resultados satisfatórios da corrente elétrica contínua na intensidade de 300µA, em relação à redução do número de células inflamatórias no local da lesão induzida, em ratos. As amostras foram divididas em quatro grupos sendo: dois grupos-controle, um deles tratado com laser de 904 nm a 1J/cm² e outro grupo tratado com a estimulação elétrica. Após análise histopatológica do tecido, concluíram que os grupos tratados obtiveram resultados melhores do que os grupos-controle e, que o grupo tratado com a corrente elétrica apresentou menor

número de leucócitos polimorfonucleares, macrófagos, mastócitos e ainda, maior número de fibroblastos em relação ao grupo tratado com laser.

2.2.3. Efeitos em Pacientes Diabéticos

No caso de pacientes diabéticos, nos quais o processo inflamatório é deficitário, o uso da estimulação elétrica produziu aceleração na resposta celular prevenindo infecções locais (TAWER e HOUGHTON, 2001). Entretanto, como o próprio estudo de Baker *et al.* (1997) ressalta, a fisiopatologia da lesão influencia significativamente na melhora ou não da ferida quando se aplica o estímulo elétrico.

Na pesquisa realizada por Lawson e Petrofsky (2007) com o uso da estimulação elétrica aplicada em um ambiente climatizado (32° C), com 20 pacientes (10 diabéticos e 10 não-diabéticos) observou-se uma significativa melhora no fluxo sanguíneo no centro da ferida pré-existente. Os pesquisadores concluíram que 22% das feridas dos pacientes não-diabéticos melhorou enquanto apenas 8% delas nos pacientes diabéticos).

2.2.4. Efeitos na Cicatrização Óssea

A estimulação elétrica e eletromagnética foi anteriormente descrita também para o tratamento eficaz de crescimento de calo ósseo e na prevenção da perda de osteoblastos, durante a imobilização (Basset, 1993).

O estudo de Nannmark, Buch e Albrektsson (1985), objetivando também a melhora da cicatrização óssea, constatou que o uso da estimulação elétrica (corrente contínua na faixa de 5-20 μ A) aumentou a permeabilidade vascular na microcirculação de *hamsters*.

2.2.5. Efeitos Analgésicos

Correntes elétricas como TENS (*transcutaneous electrical nerve stimulation*) produziram, segundo Resende *et al.* (2005), significativa melhora no quadro de dor provocada pela inflamação local; porém, não se observou melhora no quadro do edema local. Nem a corrente elétrica de alta frequência nem a de baixa frequência resultaram em efeitos positivos anti-inflamatórios; porém, os pesquisadores ressaltaram o seu uso (principalmente, as de baixa frequência) para o controle da dor.

Estudos experimentais realizados por Mello de Paula *et al.* (2006) também ressaltaram a melhora do quadro algico em pacientes submetidas a parto cesariana, após a aplicação de estimulação elétrica (TENS).

Hahm (2007) utilizou corrente elétrica em pontos de acupuntura (eletroacupuntura) na frequência de 2 Hz e observou significativa redução de edema inflamatório pós-torção de tornozelo. As frequências de 2 e 100 Hz mostraram também, importante efeito analgésico local.

2.3. As Correntes Elétricas

A principal diferença entre os tecidos biológicos e os equipamentos eletrônicos relativos à corrente elétrica é que as células utilizam átomos carregados (íons) para o movimento das cargas, enquanto os sistemas elétricos e eletrônicos usam elétrons. As células obedecem às mesmas leis que regem esses sistemas e usam as mesmas unidades de tensão, capacitância, resistência e fluxo de corrente (KITCHEN e BAZIN, 1996).

As correntes elétricas são classificadas em correntes diretas (ou contínuas) (DC ou CC) e correntes alternadas (AC ou CA). Existe, ainda, a classificação de corrente por tipo de pulso, que representa uma corrente modificada, com fluxo de elétrons periodicamente interrompido, enquanto as outras duas possuem um fluxo ininterrupto (STARKEY, 2001).

A corrente contínua, como citado, possui um fluxo de partículas carregadas em um único sentido e tem sido denominada corrente galvânica. É produzida por uma tensão de amplitude fixa aplicada a um condutor que pode ter uma resistência fixa (ROBINSON e MACKLER, 2007).

A corrente contínua induzida em uma solução eletrolítica aquosa, que contém íons carregados positiva e negativamente, está associada ao movimento deles em direções opostas.

Na figura 8, representa-se o movimento dos ânions na direção do eletrodo carregado positivamente (ânodo), e os cátions em direção aos eletrodos carregados negativamente (cátodo). Percebe-se também a formação de gases: ocorrendo uma reação de redução no cátodo, para produzir gás hidrogênio (H_2); e uma reação de

oxidação no ânodo, para produzir gás oxigênio (O_2). Esta reação é conhecida como eletrólise (ROBINSON e MACKLER, 2007).

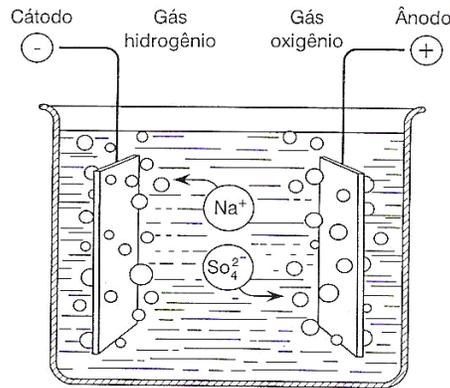


Figura 8: Ilustração do movimento dos íons em direção ao eletrodo e formação de gases (eletrólise) (Robinson e Mackler, 2007).

O uso de corrente direta contínua modificada foi testado por Morris e McGee (2009) quando selecionaram 20 coelhos com lesão induzida nas duas orelhas, e aplicaram a estimulação elétrica direta com amplitude de pulso de 11 mA, com intervalos de 40 ms. Obtiveram resultados satisfatórios em relação à contagem do fator de crescimento endotelial (FCE) e colágeno do tipo IV, comparados à orelha oposta de cada animal, que constou como grupo controle. Sugeriram uma melhora acentuada na angiogênese com o uso deste tipo de corrente.

A corrente pulsada flui uni ou bidirecionalmente e pára por um tempo finito (um pulso único representa um período finito de movimento de partícula carregada que separa um evento elétrico do outro). Se há uma corrente unidirecional induzida no condutor, a corrente produzida é intermitente e somente ocorre em um sentido, chamada de corrente pulsada monofásica. Se a corrente produzida é intermitente e o

movimento da partícula carregada ocorre em ambos os sentidos, a corrente é pulsada bifásica (ROBINSON e MACKLER, 2007 e OKINGWA e ISSEROFF, 2002).

A maioria das correntes pulsadas, como a EEAT, não excedem a intensidade de 20 mA (pico de corrente) por isso, são muito seguras (OKINGWA e ISSEROFF, 2002).

Os efeitos das cargas elétricas aplicadas no corpo dependem da amplitude e da natureza da corrente resultante nos tecidos. Segundo Low e Reed (2001), há efeitos básicos como resultado da aplicação de corrente direta. Seriam eles: mudanças químicas nos tecidos; tecidos excitáveis (músculos e nervos) podendo responder na forma de contração ou alteração na percepção da dor a estímulos de correntes que variam de frequência (desequilibrando os íons em torno da membrana celular) ou, ainda, um aquecimento significativo decorrente de correntes de alta frequência.

Além disso, ainda descrevem-se efeitos como aumento do extravasamento de líquidos, pela liberação de mastócitos (KOWALSKI e KALINER, 1988) e em nível celular como síntese de DNA, cicatrização e favorecimento de consolidação de fraturas (LOW e REED, 2001).

Zhao *et al.* (2003) observaram aumento dos fatores de crescimento celular e angiogênese significativa com a aplicação da estimulação elétrica. Constataram que, após a exposição de uma cultura de células endoteliais ao campo elétrico de 75–100 mV/mm, houve maior migração de células endoteliais, reorientação e prolongamento das mesmas.

Na Figura 9 a micro-fotografia **A** indica cultura de células-controle sem campo elétrico, mostrando uma morfologia típica com orientação aleatória. Na imagem **B**, são as células expostas à estimulação elétrica, mostrando prolongamento e uma significativa orientação perpendicular das mesmas. Na imagem **C**, a utilização de um

inibidor aboliu completamente a orientação perpendicular e o prolongamento das fibras mesmo sob os efeitos da estimulação elétrica.

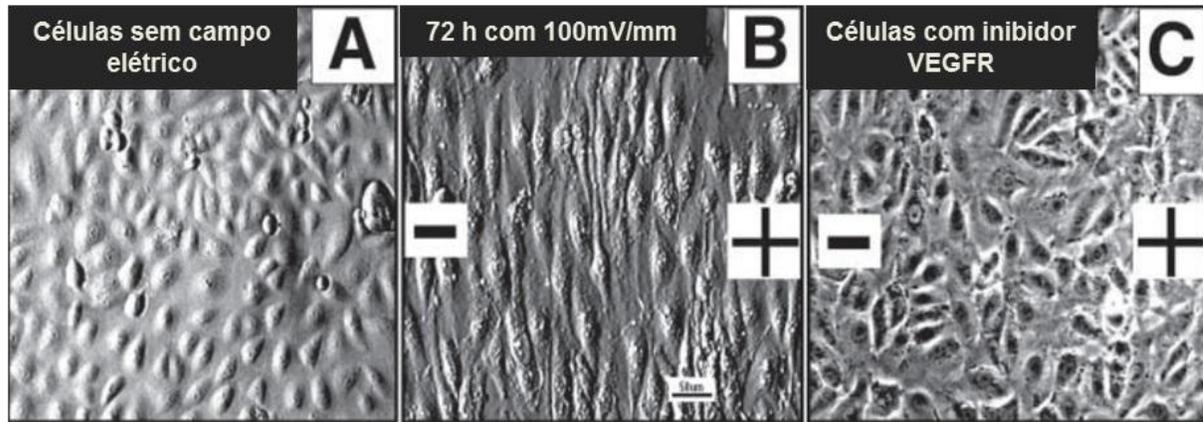


Figura 9: Comportamento celular: (A) sem estimulação elétrica; (B) sob efeito da estimulação elétrica e (C) com a utilização do inibidor do fator de crescimento vascular (ZHAO et al., 2003).

Reger *et al.* (1999) realizaram estudos sobre os efeitos das correntes diretas e alternadas nas úlceras de pressão em porcos. Os achados indicam menor tempo de recuperação nos animais estimulados em comparação com o grupo controle. Outros achados foram: a vascularização do tecido de granulação e a orientação do colágeno também apresentou melhora nas duas correntes; a corrente direta acelerou mais o processo de recuperação do tecido e diminuiu a área da lesão; a corrente alternada produziu melhores resultados na análise do volume da lesão e ambas aumentaram a contração da ferida na fase proliferativa.

2.3.1. Impedância Cutânea

A existência de um fluxo de corrente nos tecidos lesados foi inicialmente descrita por Matteucci em 1830 (OJINGWA e ISSEROFF, 2002).

Em 2003, Robinson e Messerli descreveram as correntes elétricas fisiológicas teciduais alterando, reparando e reorganizando o tecido afetado.

Esta diferença de potencial transcutâneo em humanos é conhecida como “potencial da pele”. Superfícies de pele sem pêlos, como as mãos e os pés, apresentam uma diferença de potencial, sempre negativa, em relação à derme. O extrato córneo também tem cargas negativas em relação à derme, com uma diferença de potencial média de 23 mV (LOW e REED, 2001).

Este fluxo de corrente na pele de humanos foi também observado nos trabalhos de Gardner, Frantz e Schmidt (1999) e Franek, Polak e Kucharzewski (2000).

Segundo Nuccitelli (2003), McCaig *et al* (2005), Zhao, Song e Pu (2006), Zhao (2009) e Reid, Nuccitelli e Zhao (2007), há um comprometimento da recuperação do tecido sem a presença desta corrente elétrica fisiológica no local.

De acordo Okingwa e Isseroff (2002), na pele íntegra, existe uma resistência ao fluxo elétrico pelo extrato córneo e o fluxo de Na⁺ ocorre nas regiões apical e basal da epiderme, garantindo um potencial elétrico trans-epitelial.

Quando ocorre uma lesão no tecido, há a redução da resistência local, pois, o potencial elétrico é modificado direcionando a corrente elétrica para o local de menor resistência. O vetor negativo deste fluxo aponta para o centro da ferida e para as porções inferiores da epiderme, facilitando a passagem da corrente como mostram as figuras 10 e 11 (OKINGWA E ISSEROFF, 2002).

Brown e Gogia (1987) reportaram a mudança no comportamento do sinal positivo e negativo da ferida em coelhos, após o uso da estimulação elétrica. Perceberam que, em princípio, a corrente com pólo negativo funcionou para o reparo do tecido, mas que, à medida em que o tempo passou, não houve mais evolução na melhora e até mesmo

um retardo na cicatrização, sugerindo a mudança de sinal na lesão em virtude do tempo.

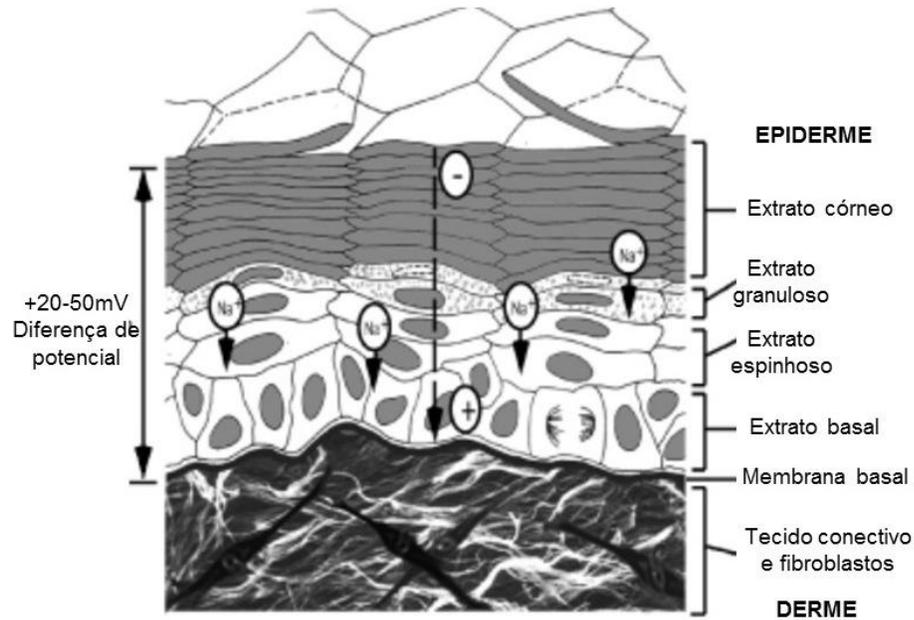


Figura 10: Na pele íntegra há resistência ao fluxo elétrico pelo extrato córneo e o fluxo de Na⁺ (OKINGWA e ISSEROFF, 2002).

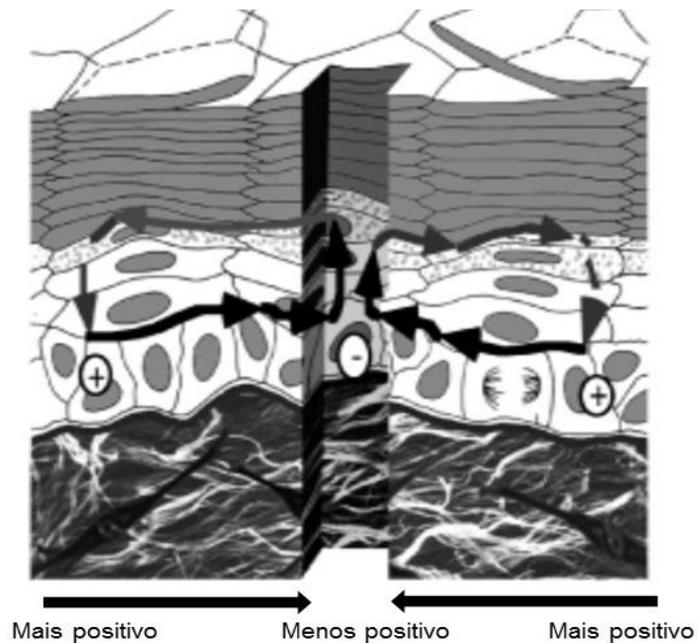


Figura 11: Na pele lesada há a redução da resistência local, pois, o potencial elétrico é modificado (OKINGWA e ISSEROFF, 2002).

McCaig, Colin e Zhao (1997) realizaram estudos *in vitro* e *in vivo* envolvendo o comportamento de células na presença do campo elétrico fisiológico durante as lesões. O movimento celular para estabilização e reconstrução da arquitetura do tecido dependeram da presença deste fluxo de corrente. As células para reconstrução deste tecido provavelmente derivaram das células-tronco epiteliais no centro da ferida aguda epidermal (ITO *et al.*, 2005).

Os casos reportados no estudo de Satter (2008) sobre queimaduras após aplicação de corrente elétrica interferencial, levaram a crer que a passagem de uma corrente elétrica por um tecido com maior resistência, resulta em aumento de temperatura local e, por consequência, pode causar danos termais importantes.

Segundo Bolfe *et al.* (2007), a impedância elétrica nos tecidos biológicos varia de acordo com a frequência da corrente, posição dos eletrodos e, ainda, com o gênero, composição corporal da amostra e hidratação cutânea, sendo que, em seus estudos, a região do tronco apresentou a menor impedância seguida da região de membros inferiores.

2.3.2. Eletrodos

O tipo do eletrodo e o meio de condução podem afetar a eficácia e o conforto da estimulação elétrica. Os eletrodos de borracha e carbono geram mais conforto na estimulação (STARKEY, 2001). O tamanho do eletrodo também é importante, pois determina a densidade de corrente elétrica, já que a área é inversamente proporcional à densidade da corrente. Assim, quanto maior o eletrodo, menos específica é a

estimulação dos tecidos, pois a corrente espalha-se por uma área maior (STARKEY, 2001). O tamanho do eletrodo é determinado pela área do corpo a ser tratada e/ou pelos outros eletrodos utilizados. Vale dizer que, a impedância oferecida pela pele diminui à medida que o eletrodo aumenta de tamanho (STARKEY, 2001).

O aumento de tamanho do eletrodo também, segundo Alon, Kantor e Ho (1994) e Alon (1985) contribuiu para um incremento nos valores de tensão, sem que haja dor excessiva durante a estimulação. Serviria, por exemplo, para se conseguir um estímulo maior para contração muscular; porém, com a possibilidade de afetar tecidos circunvizinhos.

Já Forrester e Petrofsky (2004) afirmam que o tamanho do eletrodo e sua forma não alteram a eficácia da corrente elétrica nem a tolerância do paciente à mesma. Porém, observaram um dado interessante em suas pesquisas: quanto mais próximos entre si estavam os eletrodos, maior o desconforto do paciente, sugerindo que o local de posicionamento dos eletrodos pode alterar a sensibilidade e causar mais ou menos dor. Petrofsky *et al.* (2006) também observaram que o formato do eletrodo não faz diferença quando se trata da impedância do tecido à corrente elétrica.

Ao testar estimuladores com dois canais e dois, três ou quatro eletrodos de superfície em pacientes com lesões, Petrofsky *et al.* (2008) observaram a melhora do fluxo sanguíneo no local da lesão nos três casos, quando comparados ao grupo controle. O estimulador que produziu a melhoria no fluxo sanguíneo para o local da ferida foi o estimulador com saída de quatro eletrodos.

A localização dos eletrodos, segundo Starkey (2001), deve seguir os locais de maior sensibilidade ao fluxo da corrente, conhecidos como pontos motores (áreas abaixo do local a ser tratado, onde os nervos motores e os vasos sanguíneos penetram

na massa muscular). Outros pontos como os de gatilho, localizados em tecidos moles (ligamentos, tendões e fáscia) e pontos de acupuntura, os quais são conectados por canais chamados meridianos, também utilizados como pontos de estimulação.

2.4. Estimulação Elétrica com Pulsos de Alta Tensão

A estimulação elétrica de alta tensão (EEAT) foi largamente difundida na metade dos anos 40 nos Estados Unidos (LOW e REED, 2001 e ROBINSON e MACKLER, 2007). Também chamada de estimulação elétrica pulsada de alta tensão, consiste na aplicação de uma corrente monofásica ao corpo, com polaridade conhecida sob cada conjunto de eletrodos (KLOTH *et al.*, 2005 e STARKEY, 2001).

De acordo com a figura 12, esses estimuladores geram um pulso monofásico de dois picos, com amplitudes de pico máximas de até 500 V e durações de pulso de aproximadamente 50 a 200 μ s (com picos de 5 a 8 μ s e intervalos de 100 μ s) em frequências que variam de 1 até 120 Hz. Deste modo, a corrente é de intensidade muito baixa atingindo, com média de 1,2 a 2,0 mA (ROBINSON e MACKLER, 2007).

Com picos curtos como esses são necessárias tensões altas, daí o nome, para fornecer correntes altas o suficiente que estimulem fibras nervosas (LOW & REED, 2001).

O que o pulso elétrico faz é evocar o potencial de ação, mas para isso requer uma quantidade mínima de carga elétrica. Isto pode ser obtido por uma corrente de baixa intensidade com duração longa, ou por uma corrente maior em um período curto (LOW e REED, 2001).

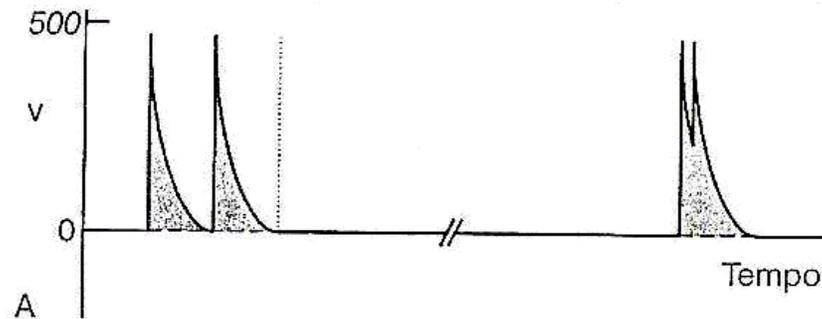


Figura 12: Ilustração da forma de onda monofásica da corrente de alta tensão, com dois picos gêmeos e amplitudes máximas de até 500 V (Robinson e Mackler, 2007).

Segundo Alon (1985), o estímulo elétrico de alta tensão tem a vantagem de melhor penetração e maior discriminação entre respostas motoras e sensitivas em intensidades diferentes e tamanhos de eletrodos distintos.

De acordo com Newton e Karselis (1983), o estímulo elétrico de alta tensão não causa irritação cutânea, efeito este observado após a avaliação do pH da pele na região próxima e abaixo dos eletrodos utilizados, em 40 voluntários.

Segundo Gardill (2005), esta é uma corrente elétrica que pode ser utilizada tanto para tratamento de lesões quanto para auxílio na obtenção de informações neurográficas de distúrbios musculares e nervosos.

2.4.1. Efeitos da eletroestimulação

Taylor *et al.* (1997) descreveram que, após a aplicação da corrente elétrica de alta tensão em *hamsters*, houve acentuada diminuição da permeabilidade da membrana dos microvasos, proporcionando a redução significativa do edema local. Isso

ocorreria, segundo Thornton, Mendel e Fish (1998) e Reed (1998), porque a EEAT influencia o comportamento da membrana endotelial dos pós-capilares onde a maior parte das proteínas e líquidos extravasa para o interstício. Os autores especularam que a EEAT altera a permeabilidade desses microvasos, impedindo células endoteliais de alterar seu formato original, ou seja, de achatadas para arredondadas. Quando modificam sua forma para mais arredondada, normalmente, estão respondendo ao chamado dos mediadores químicos inflamatórios, deixando assim, existir a abertura dos poros entre essas células (“gaps”) e, portanto, permitindo o extravasamento de proteínas e plasma, gerando o edema.

Palanker *et al.* (2008) utilizaram pulsos de alta tensão gerados por um gerador desenvolvido por eles, com tensões de até 500 V e corrente monofásica e bifásica para controlar a vascularização de ovos com duas semanas de incubação. Observaram que com o uso de duração de pulsos variando de nanosegundos a milissegundos e com frequência de 0,1 Hz, conseguiram causar no tecido vascular da membrana do ovo incubado, vasoconstrição temporária de, pelo menos, 25% do diâmetro do vaso (artérias e veias) após 10 s do início da estimulação elétrica. O limiar de vasoconstrição para artérias foi maior (80 V) do que o das veias (60 V) e não dependeu do tamanho dos vasos. O mais interessante é que esse experimento não causou danos nos tecidos circunvizinhos, o que poderia contribuir no tratamento de desvascularização de tumores, aneurismas, máis formações e vasos destruídos por trauma.

Observa-se, na Figura 13, o início do tratamento, quando o vaso ainda conserva seu tamanho original (Figura 13-a), durante o tratamento com a estimulação elétrica, quando o diâmetro do vaso reduz (Figura 13- b) e após 15 min do término do experimento (Figura 13-c), apontando para um possível trombo no local da seta.

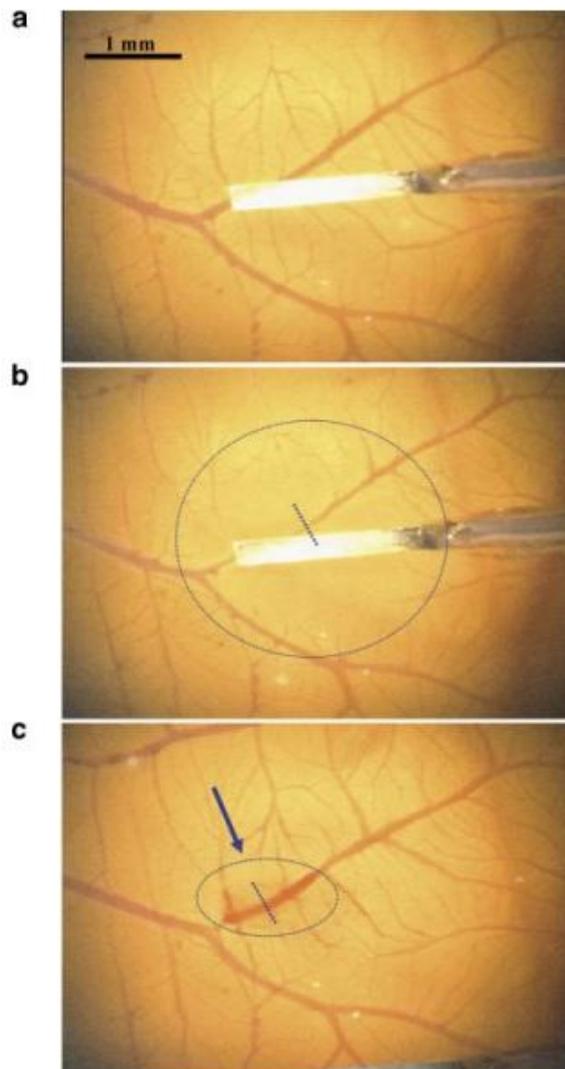


Figura 13: Membrana vascular de ovo de galinha. Na figura 13-a o eletrodo iniciando a estimulação; na figura 13-b, a vasoconstrição obtida por meio da estimulação e na figura 13-c, a seta aponta um trombo no vaso, como resultado da estimulação elétrica (Palanker et al., 2008).

Os pesquisadores ressaltam os efeitos polares da estimulação de alta tensão na redução do edema agudo pós-trauma (FISH, MENDEL e SCHULTZ, 1991; BUTTERFIELD *et al.*, 1997; DOLAN *et al.*, 2003; MAN, MORRISSEY e CYWINSKI, 2007; DOLAN *et al.*, 2005; TAYLOR *et al.*, 1992; REED, 1988; KARNES *et al.*, 1995 e THORNTON, MENDEL E FISH, 1998).

A estimulação catódica, testada por Mendel *et al.* (1993), Dolan *et al.* (2003, 2005), Taylor *et al.* (1992, 1997), Man, Morrissey e Cywinski (2007), Butterfield *et al.* (1997), Bettany *et al.* (1990), Bettany, Fish e Mendel, (1990), Stralka, Jackson e Lewis (1998) e Thornton, Mendel e Fish (1998), apresentou resultados positivos para controle e regressão do quadro edematoso.

O uso da estimulação anódica também foi testado nos estudos de Fish *et al.* (1991) e não obtiveram efeitos satisfatórios no controle e redução do edema. Os autores acreditam que a corrente anódica não tenha provocado diminuição da permeabilidade da membrana vascular (FISH, MENDEL e SCHULTZ, 1991).

Em contrapartida, estudos apresentados por Karnes *et al.* (1995), Kloth *et al.* (1998) e Taylor *et al.* (1997) apresentaram resultados positivos, quando usada a estimulação anódica, no controle do edema.

A utilização do ânodo foi ressaltada nos trabalhos de Karnes *et al.* (1995), que encontraram evidências de controle e redução mais efetivos do edema quando aplicada a EEAT sob o mesmo local de injeção intermitente de histamina. A redução no diâmetro das arteríolas ocorreu após 20 min de estimulação a 120 Hz e uso do ânodo como pólo ativo. Eles sugerem que este resultado contraditório (em relação à maioria dos estudos que prevê a melhora mais acentuada do edema nos casos de uso do pólo catódico) ocorreu pelo fato do cátodo provavelmente não alterar a formação do edema pela constrição vascular das arteríolas.

No caso do estudo de Taylor *et al.* (1997), além da estimulação catódica, apenas a estimulação anódica a 90% do limiar motor obteve um bom resultado em relação ao controle da permeabilidade da membrana vascular para impedir o extravasamento de fluídos, após injeção de histamina (Figura 14).

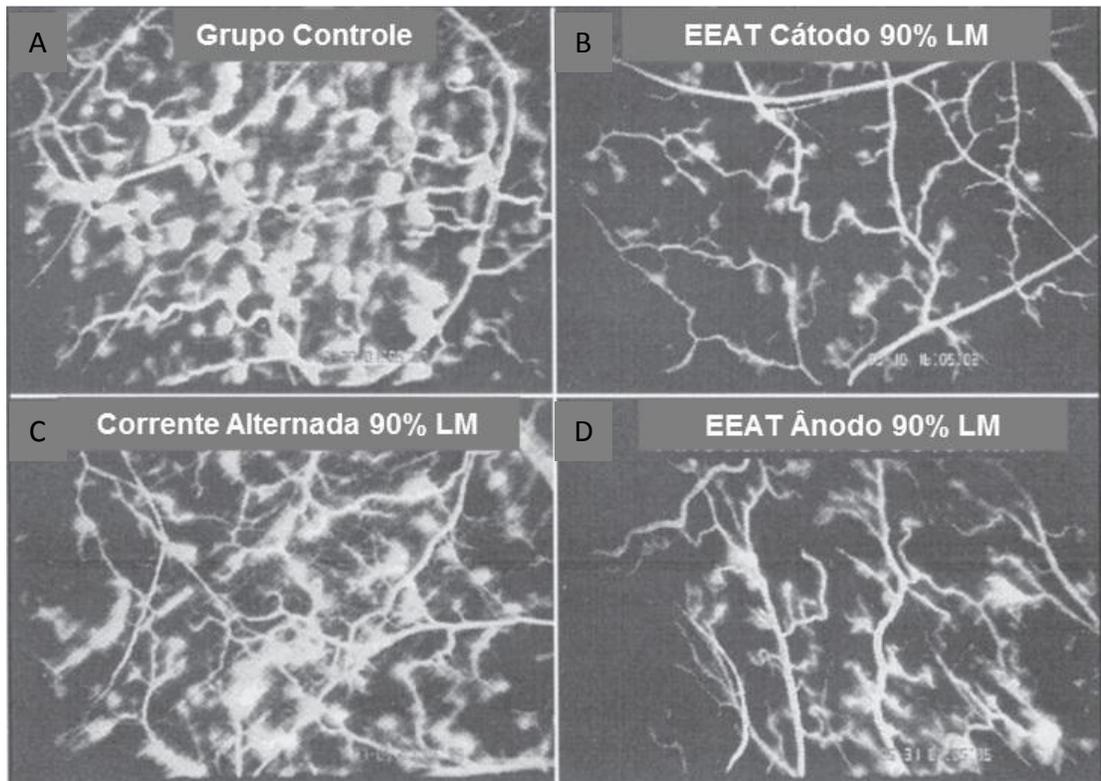


Figura 14: Comparação da permeabilidade da membrana vascular: (A) no grupo controle; (B) com a EEAT, estimulação catódica a 90% do limiar motor (LM); (C) com a corrente alternada a 90% do limiar motor (LM) e (D) com a EEAT, estimulação anódica a 90% do limiar motor (LM), após 5 minutos da injeção de histamina (Taylor et al., 1997).

Esta inibição na formação do edema foi melhor explicada nos trabalhos de Bourguignon e Bourguignon (1987). Em sua pesquisa, utilizaram 20 min de EEAT, estimulação catódica, em células fibroblásticas, observando o incremento na produção de colágeno e na produção de proteínas. Além disso, constataram resposta na despolarização na membrana celular (que aumentou para 15mV), influenciando nas concentrações de cálcio intracelular e evitando vários eventos celulares em prol do extravasamento de líquidos. Isto evitaria a formação do edema, segundo os autores. Os resultados citados foram reforçados em Guyton e Hall (2006), que documentaram a concentração aumentada de Ca^{++} funcionando como um vasodilatador.

A corrente elétrica pode, ainda, segundo Nelson, Hayes e Currier (2003), reduzir o edema através do fenômeno de cataforese sob o pólo negativo. Esse fenômeno constitui-se de um movimento de moléculas coloidais tais como células sangüíneas, albumina, bactérias e outros, sob a influência de uma corrente direta em direção ao cátodo. A albumina é uma proteína coloidal do sangue carregada negativamente; assim, ela é repelida pela polaridade negativa, o que faz com que o fluído intersticial se mova, reduzindo o edema.

Cook *et al.* (1994) monitoraram a captação da albumina pelos capilares linfáticos após o uso da eletroestimulação de alta tensão, por intermédio da análise de amostra sanguínea de ratos e medida de volume para análise do edema. O grupo controle precisou de 4 h adicionais para captar a mesma quantidade de albumina, em comparação com o grupo testado.

O tempo para a intervenção com a estimulação elétrica variou bastante nas pesquisas. Estudos como os de Dolan *et al.* (2003, 2005), Thornton, Mendel e Fish (1998), reforçaram o uso da corrente o mais rapidamente possível após uma agressão, ou seja, na fase aguda do trauma.

Segundo Griffin *et al.* (1990), que pesquisaram o uso de 30 min de estimulação elétrica de alta tensão no edema crônico, não houve diferença significativa entre o grupo tratado com a EEAT e o grupo tratado com compressão pneumática (n=10). Entretanto, quando se compararam os grupos tratados com um grupo controle (placebo-EEAT) (n=10), os resultados de redução de edema crônico, nos voluntários, foram estatisticamente significantes.

Stralka, Jackson e Lewis (1998) observaram a melhora do edema e redução da dor em pacientes com lesões crônicas repetitivas em punho e mãos. Os autores

sugerem que a redução do edema colaborou na diminuição da compressão nervosa no local, tendo, assim, determinado a redução da dor.

Já Thornton, Mendel e Fish (1998) usaram ratos de diferentes espécies mostrando que nem todas respondem da mesma forma ao estímulo elétrico de alta tensão quando o assunto é o edema agudo. Foram selecionados 19 da espécie Zucker-lean, 14 Brown Norway e 11 Sprague-Dawley, apresentando resultados positivos os ratos das espécies Zucker-Lean e Brown Norway.

Dolan *et al.* (2003) compararam o uso da eletroestimulação de alta tensão, utilizando o cátodo, com a imersão do membro inferior lesado de ratos (com edema) em água gelada à 12,8° C (55° F). Foram utilizados 22 ratos Zucker, lesados por meio de protocolo de impactação do membro com uma roda de aço pesando 85,5 g. Os resultados em relação aos membros não-tratados foi significativamente maior, porém, dentre os dois protocolos utilizados (eletroestimulação e imersão), não houve diferença significativa no controle e/ou redução do edema.

Dolan *et al.* (2005) também utilizaram os ratos em seus estudos. Foram 21 ratos distribuídos em 3 grupos e testados quanto aos estímulos elétricos de alta tensão, administração de ibuprofeno e um grupo recebendo os dois tratamentos simultaneamente. Todos os tratamentos foram mais efetivos na redução do edema do que os membros lesados não tratados, porém, nenhum deles foi mais efetivo que o outro.

Nos achados de Bettany *et al.* (1990), observou-se que o volume dos membros não-tratados dos sapos pela EEAT eram significativamente maiores do que os tratados.

Reed (1988), em seu estudo sobre o uso da eletroestimulação de alta tensão, testou 14 *hamsters* que, após receberem dosagem de histamina, eram analisados por

meio da observação de sua permeabilidade microvascular. Observou-se que apresentavam, após a aplicação da corrente elétrica, uma significativa redução da permeabilidade da membrana vascular, significando que a perda de macromoléculas para o interstício diminuiu e, conseqüentemente, o edema.

A utilização da estimulação elétrica de *baixa* tensão também foi testada no tratamento do edema agudo, induzido por trauma, em 26 sapos da espécie *Rana Catesbeiana*. Os animais receberam 4 sessões de 30 min de estimulação elétrica de baixa tensão com 30 min de intervalo entre elas, não havendo resposta satisfatória no controle e redução do edema (KARNES *et al.*, 1992).

Já Walker, Currier e Threlkeld (1988), em seus estudos com o uso da EEAT, analisaram o fluxo sangüíneo nos músculos gastrocnêmios de 38 voluntários. Os parâmetros utilizados foram duração de pulso de 75 μ s e freqüência de 30 Hz, com estimulação catódica. O aumento de fluxo ocorreu somente no grupo que realizou a contração voluntária dos gastrocnêmios (grupo exercício), não obtendo resultados satisfatórios com o uso da estimulação elétrica de alta tensão.

Balogun *et al.* (1996) também não observaram melhora significativa com o uso da EEAT em 11 indivíduos. Neste caso, o estímulo foi dado em dois pontos específicos de acupuntura e analisados em relação à velocidade de fluxo sangüíneo local e aumento de temperatura da pele. O uso de duas freqüências (5 e 120 Hz) não produziu diferenças nas funções hemodinâmicas dos avaliados, provavelmente, segundo os próprios autores, por se tratar de um estímulo em pontos muito específicos (com o uso de eletrodos-agulha) e por serem, os indivíduos, pessoas saudáveis que não apresentavam alterações na circulação local.

Nos achados de Tracy, Currier e Threlkeld (1988), o emprego de dois estimuladores elétricos diferentes, porém, com as mesmas características, gerou um resultado positivo em relação ao aumento do fluxo e pressão sanguínea. O fluxo e pressão sanguínea de 30 voluntários foram mensurados após a aplicação da estimulação elétrica em 1, 10, 20, 30 e 50 Hz a 15% da contração máxima voluntária de quadríceps. Os resultados indicaram um aumento acentuado do fluxo sanguíneo e pressão na frequência de 50 Hz, sendo o de menor resultado a frequência de 20 Hz. A pesquisa ainda apontou a queda da pressão e redução do fluxo sanguíneo ao nível do repouso (após 1 min) quando cessou-se o estímulo elétrico, indicando a influência positiva nos valores hemodinâmicos.

Segundo Merz *et al.* (2010), a quantidade e velocidade de fluxo sanguíneo local após uma lesão determina se ela vai evoluir bem em sua recuperação ou o contrário.

Em ratos, o tratamento com corrente pulsada de alta tensão de polaridade negativa (catódica) induziu a um aumento do fluxo sanguíneo quase que instantâneo, nas frequências de pulso 2, 20, 80 e 120 Hz, e intensificado pelo aumento da amplitude da corrente (NELSON, HAYES e CURRIER, 2003).

O uso da polaridade negativa já havia sido descrito por Dooley e Kasprak (1976), quando concluíram que correntes elétricas negativas bloqueiam a vasoconstrição causada por via simpática (SNA Simpático), estimulando o fluxo local e prevenindo a isquemia tecidual.

Karnes *et al.* (1995) observaram diferenças significativas na utilização dos pólos anódico e catódico da corrente EEAT, sendo que o ânodo apresentou maior capacidade de constrição vascular, reduzindo o diâmetro do vaso após injeção de histamina.

No caso de efeitos da EEAT no linfedema Garcia e Guirro (2005) pesquisaram mulheres pós-mastectomizadas unilateralmente com linfedema tardio aplicando a corrente elétrica durante sete semanas, 20 min em cada sessão. Obtiveram resultados satisfatórios em relação ao volume do membro afetado e à sua perimetria.

Em outro estudo semelhante, porém com pacientes mastectomizadas bilateralmente, Garcia, Guirro e Montebello (2007) também observaram melhora do quadro de linfedema em análises volumétricas e perimétricas. Segundo os autores, isto pode ter ocorrido, principalmente pelo efeito de bomba no fluxo linfático.

Os efeitos analgésicos da EEAT foram bem documentados nos trabalhos de Rodrigues-Bigaton *et al.* (2009) através de um protocolo com o uso do ânodo, frequência de 10 Hz, com tensões acima do limiar motor dos pacientes (100 V).

Butterfield *et al.* (1997) utilizaram a EEAT como recurso para tratamento de dor por fadiga muscular tardia. Em seus estudos, observaram efeitos da estimulação elétrica nos músculos sob fadiga de 28 voluntários (n=14), sendo 17 mulheres e 11 homens comparando-se um grupo tratado com EEAT e outro placebo. A pesquisa consistiu na aplicação de 30 min de estimulação elétrica, com frequência de 125 Hz, logo após 50 min de exercício excêntrico no músculo quadríceps. A frequência de tratamento foi de uma vez por dia durante três dias. Os resultados revelaram que a redução da dor pós-exercício ocorreu nos dois grupos sem diferença estatística entre eles.

No caso de feridas e cicatrização a EEAT foi pesquisada por Lampe (1998), ressaltando a melhora nas lesões, destacando seus efeitos em estudos clínicos, animais e *in vitro*. Isto ocorre, segundo Gagnier *et al.* (1988), porque a corrente elétrica monofásica incita o aumento de oxigênio para os locais da ferida.

Deve-se ressaltar que, nos estudos de Kloth *et al.* (1998), houve utilização das duas polaridades da corrente elétrica, sendo o anódico usado para reepitelização e autólise, e o catódico para promoção da granulação, antibactericida e redutor inflamatório. O mesmo foi feito por Franek, Polak e Kucharzewski (2000) que, nas primeiras duas semanas, utilizaram o pólo negativo e, após este período, passaram a aplicar o pólo positivo em úlceras, obtendo resultados satisfatórios.

A alternância de polaridade também foi realizada por Santos, Nascimento e Andrade (2009), propondo um protocolo de uso do cátodo, como pólo ativo, nos três primeiros dias de tratamento de úlceras venosas (100Hz, 30 min no limiar motor dos pacientes), e a seguir, o ânodo, nos 20 atendimentos seguintes, justificando que o uso inicial do cátodo seria para efeitos bactericidas e o uso posterior do ânodo para efeitos na microcirculação. Ao final da pesquisa os autores não obtiveram resultados significativos na cicatrização.

Sussman (1998) propôs a utilização da polaridade dependendo do estágio em que se encontrava o processo inflamatório; assim, na fase inflamatória usou o cátodo com freqüência de 30 Hz durante 1h, uma vez ao dia, por uma semana. Já na fase de reepitelização usou, durante três dias, o cátodo seguido de três dias do ânodo, e, assim por diante, por uma semana. A freqüência foi de 100-128 Hz, por 1h. No estágio de remodelagem, alternou-se a polaridade diariamente com freqüência de 60-64 Hz por 1h. Segundo o estudo, ocorreu significativa melhora na cicatrização das feridas.

Houghton *et al.* (2010) também obtiveram resultados positivos com o uso da estimulação de alta tensão nas úlceras crônicas de pressão em pacientes com lesões na medula espinhal. Indivíduos com paraplegia e tetraplegia que apresentavam úlceras de 20 cm² de área se submeteram a cuidados nos curativos e à estimulação elétrica de

alta tensão por 3 meses. Observou-se a redução da área das feridas em média de 50%, comparadas ao grupo controle, o qual só seguiu o protocolo de cuidados com curativos.

Já Pires (2005) não obteve resultados satisfatórios com o uso da EEAT em lesões crônicas. Em sua pesquisa, utilizou a alternância de polaridade, começando com o cátodo na fase aguda e, na proliferativa o ânodo. A frequência foi de 30 a 50 Hz, durante 1 h, com amplitude de 150 V. Na análise final as úlceras melhoraram, mas não de forma significativa em relação ao grupo controle.

Os efeitos na musculatura foram postulados por Holcomb, Rubley e Girouard (2007) combinando o uso da EEAT com a NMES. Os autores observaram não haver considerável diferença no recrutamento de fibras para a contração muscular; porém, sugeriram que existe redução na atrofia, melhora de alongamento, dor e edema associados ao pós-operatório. Os pesquisadores estudaram 14 indivíduos saudáveis em condições de extensão isométrica de joelho utilizando eletrodos que realizavam dois protocolos de estimulação elétrica: um deles com o estímulo elétrico de alta tensão – EEAT + NMES (*neuromuscular electrostimulation*) e o outro, apenas com a NMES. Os resultados obtidos neste experimento sugerem que, apesar de não produzir melhora na resposta neuromuscular da contração com o uso das correntes, a prevenção de atrofia e perda de força, bem como a melhora do edema podem ser conseguidas.

Segundo Tonella, Araújo e Silva (2006) a NMES constitui um recurso diferenciado voltado ao tratamento de dor, principalmente pós-operatória, e, dentre suas principais características, possui a forma de onda quadrada, assimétrica e bifásica, não sendo uma corrente polarizada.

Petrofsky (2004) também citou a melhora de alongamento e resistência, com o uso da EEAT, no treinamento de músculos paralizados (pacientes paraplégicos).

Em relação ao efeito bactericida em lesões crônicas, Merrimam *et al.* (2004) obtiveram resultados satisfatórios em uma pesquisa *in vitro* utilizando a EEAT. Os pesquisadores conseguiram a inibição do crescimento de uma bactéria (*Staphylococcus aureus*) em uma ferida infectada. O estudo ainda ressaltou não existir diferença de efeitos entre a estimulação anódica e catódica.

Nas pesquisas de Kuykendall, Hutchinson e Bloedaum (2004), após analisarem os efeitos de 45 min de EEAT em presença da bactéria *Streptococcus A in vitro*, os autores observaram inibição do seu crescimento provocada pelo uso do cátodo. Isto, segundo os pesquisadores, poderia sugerir que a corrente elétrica EEAT previne o desenvolvimento de infecções na ferida.

Os achados de Franek, Polak e Kucharzewski (2000) também sustentaram esta hipótese. Após avaliarem 79 pacientes com úlceras venosas de pressão, com o uso da EEAT, e em outro grupo com drogas tópicas, obtiveram efeitos positivos com a corrente elétrica, na redução de pus, aumento da oxigenação no local da ferida e reepitelização; apesar de que somente após 2 semanas de tratamento. Esses resultados, segundo os autores, ocorrem pelo efeito galvanotático que a corrente provoca, atraindo macrófagos para o pólo anódico e leucócitos para ambos os pólos. Este efeito provocaria uma redução dos substratos para as bactérias, reduzindo a infecção e promovendo a limpeza da ferida.

3. METODOLOGIA

Segundo Vergara (1998), os meios de investigação podem ser: pesquisa de campo, pesquisa de laboratório, pesquisa documental, pesquisa bibliográfica, pesquisa-ação, estudo de caso e outros.

Assim, este trabalho consistiu em uma pesquisa de laboratório, experimental, provocada, utilizando ratos, a qual seguiu a orientação da Lei nº 6638 e as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de animais, CEUA, PUCPR, sob o registro nº: 454, em 06/07/2009.

O experimento foi desenvolvido no Setor de Radiologia do Hospital Veterinário da Universidade Pontifícia Católica do Paraná – Campus São José dos Pinhais (PUC-PR).

3.1. Amostra

A amostra pesquisada foi composta por 20 ratos machos da espécie Wistar albino (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*) fornecidos pelo Biotério da PUCPR, já considerando o percentual de perdas.

Os critérios para inclusão na pesquisa foram: idade média de 3 meses e massa entre 264 e 340 g. Os critérios de exclusão foram: ratos considerados não sadios por

apresentarem prioritariamente a presença de lesões de pele e claudicação em membros inferiores; através de observação clínica, realizada pela pesquisadora.

Segundo Mendel e Fish (1993), experimentos com animais apresentam variáveis de controle bem menores e o número necessário de amostras pequeno, além de envolverem tratamentos menos dispendiosos e com diferenças fisiológicas menores entre amostras.

Os animais foram mantidos em jejum sólido de 12 h para evitar a formação de imagem dos resíduos de fezes.

3.2. Procedimentos

Os animais foram divididos em dois grupos: A ou grupo teste, composto por 10 ratos, que foram tratados com estimulação elétrica; e B, composto por outros 10 ratos que formaram o grupo controle.

Nesta pesquisa, optou-se por realizar a experimentação com divisão de grupos, controle e teste (n=10), pois, segundo Mohr, Akers e Landry (1987), animais que serviam como controle e como pesquisa ao mesmo tempo, e que eram lesados por meio de trauma mecânico em dois locais diferentes (ex: nas duas patas) apresentavam não só aumento do edema no local lesado, como também alterações na reabsorção dos mesmos.

Os animais foram pesados e anestesiados por dissociação de quetamina (80mg/kg) e xilazina (10mg/kg), administrando-se 0,2 ml para cada 100g de massa do

animal, por via intramuscular, no músculo semi-tendinoso posterior da coxa (BIRCHARD e SHERDING, 1998).

Na figura 15 ilustra-se a medicação de quetamina e xilazina, com doses da medicação preparadas nas seringas para cada amostra, de acordo com o peso do animal, bem como a gaiola de confinamento dos animais.



Figura 15: Anestesia – Xilazina e Quetamina

Os animais dos dois grupos foram mantidos sedados durante todo o procedimento (KARNES *et al.*, 1992), evitando a movimentação durante a pesquisa, para que não houvesse alterações no deslocamento do contraste, nem descolamento dos eletrodos de estimulação elétrica.

Em seguida, cada animal foi tricotomizado na região ventral e posicionado em decúbito dorsal, fixando-se os membros inferiores e superiores com esparadrapo em um suporte de acrílico, como ilustrado na figura 16.

O objetivo do estudo foi avaliar, por meio de imagem radiográfica, a quantidade de substância radiopaca reabsorvida em dois grupos de ratos, com a aplicação da estimulação elétrica (grupo A) e sem aplicação da mesma (grupo B); comparando os resultados em quatro intervalos de tempo de 30 min.

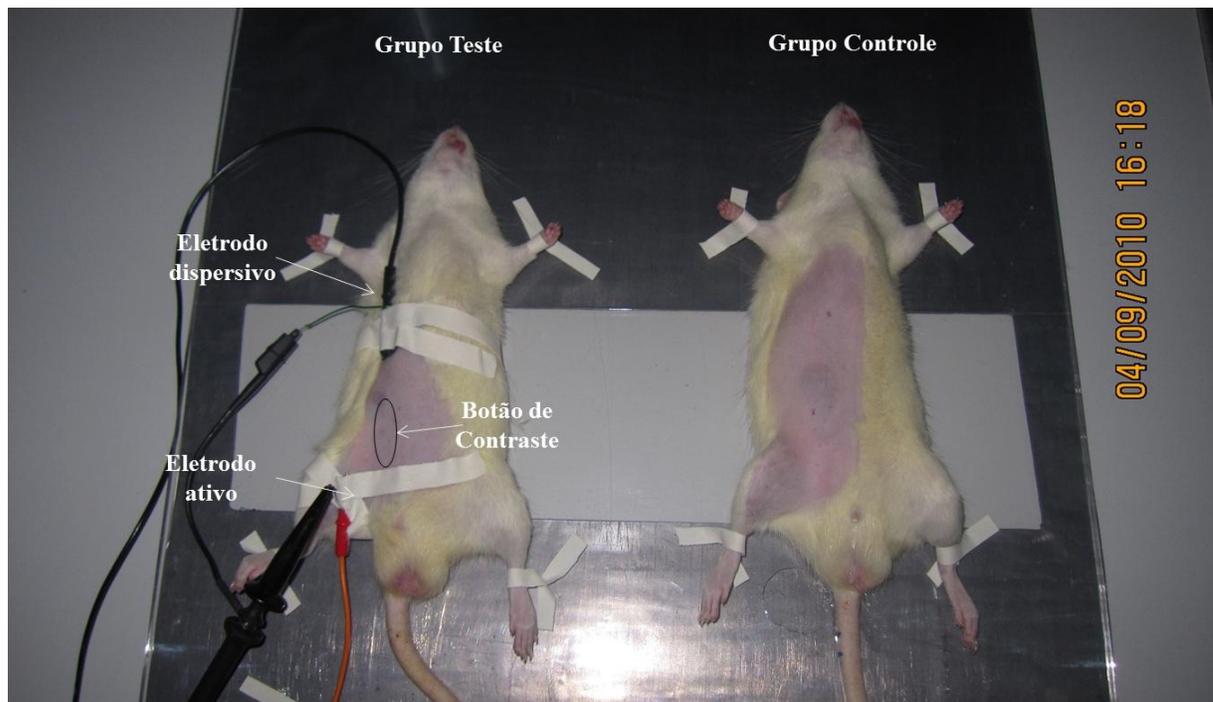


Figura 16: Posicionamento dos eletrodos na amostra do grupo teste e o posicionamento da amostra do grupo controle.

De acordo com o quadro 2, foi determinada para cada animal do grupo A, a tensão estimulatória que produziria uma contração muscular palpável e/ou visível.

A seguir, calculou-se 90% desse valor para ser adotado na pesquisa. Portanto, a tensão aplicada em cada animal do grupo A ficou abaixo do seu limiar motor (REED, 1998).

Quadro 2: Limiar de estimulação elétrica no rato

AMOSTRA Do grupo A	MASSA (g)	TENSÃO MÍNIMA QUE PRODUZ CONTRAÇÃO MUSCULAR (PALPÁVEL E/OU VISÍVEL) (V)	TENSÃO UTILIZADA (10% ABAIXO DO LIMIAR MOTOR) (V)
Rato I – A	264	22,8	20,5
Rato II – A	286	30,0	27,0
Rato III – A	340	18,2	16,3
Rato IV – A	322	18,2	16,3
Rato V – A	316	27,8	25,0
Rato VI – A	356	24,4	21,9
Rato VII – A	306	12,0	10,8
Rato VIII – A	320	22,4	20,1
Rato IX – A	320	23,3	20,9
Rato X – A	320	12,0	10,8

A seguir, aplicou-se 0,9 ml de contraste, uma substância radiopaca hidrossolúvel de nome Omnipaque™, na região abdominal lateral direita, que, segundo estudo prévio foi definido como o melhor local para determinação do resultado. Padronizou-se a técnica através de introdução completa da agulha (13 X 0,45 mm) e injeção lenta subcutânea caudo-cranial, simulando um edema com volume conhecido, como ilustra a figura 17.

**Figura 17: Injeção do Contraste**

Este contraste consiste no princípio ativo ioexol, utilizado em exames radiológicos, não-iônico, monomérico, triiodado e solúvel em água (cada ml de Omnipaque™ contém 647 mg de ioexol).

Segundo informações do fabricante do medicamento (GE Healthcare Co. Ltd) descritas na bula, observou-se que a capacidade de liberação de histamina e a atividade anticoagulante do mesmo são menores do que para os meios de contraste iônicos.

O uso de injeções, segundo Barton *et al.* (2007) demonstrou, durante as 7 h posteriores à aplicação, não aumenta de forma significativa o número de células inflamatórias no local aplicado.

Um estudo prévio, ilustrado na figura 18, auxiliou; (1) na determinação do local mais apropriado para observação das imagens; (2) no tempo de espalhamento do edema (contraste injetado); (3) no intervalo de tempo adequado para a submissão das amostras à radiação; e (4) na quantidade mais indicada de solução de contraste para a observação.

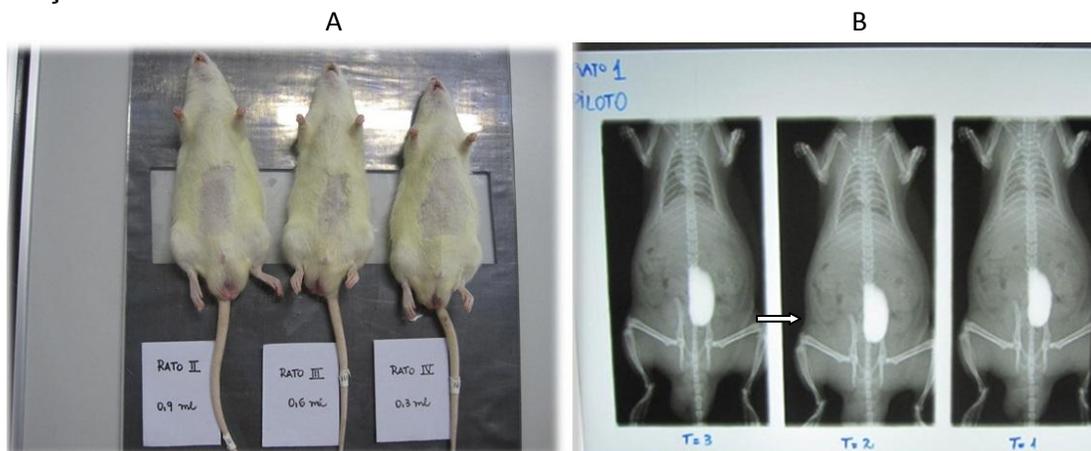


Figura 18: Estudo Piloto: (A) posicionamento dos ratos e (B) ilustra a radiografia tirada após a injeção de contraste (botão apontado com a seta) no abdômen dos mesmos.

Como não houve nenhum tipo de lesão nos animais, que pudesse provocar dor de qualquer natureza, não foi necessária a utilização de analgésico durante a pesquisa (SHARP e LaREGINA, 1998).

As imagens foram obtidas por meio de um aparelho de Raios-X da marca Siemens, cujos parâmetros foram ajustados em: distância foco-filme de 1 m, tensão de tubo em 46 kV e carga elétrica em 4,5 mAs (relação corrente-tempo). Esses parâmetros foram mantidos para todos os animais.

O filme utilizado para revelação foi da marca Kodak com medidas de 35 X 43 cm.

A reveladora de imagens utilizada foi a mesma para todas as amostras.

Esta distância do foco-filme é determinada, segundo Bontrager (2003), pela espessura do abdômen dos animais (Figura 19), para que a radiação penetre até a profundidade do tecido estudado.

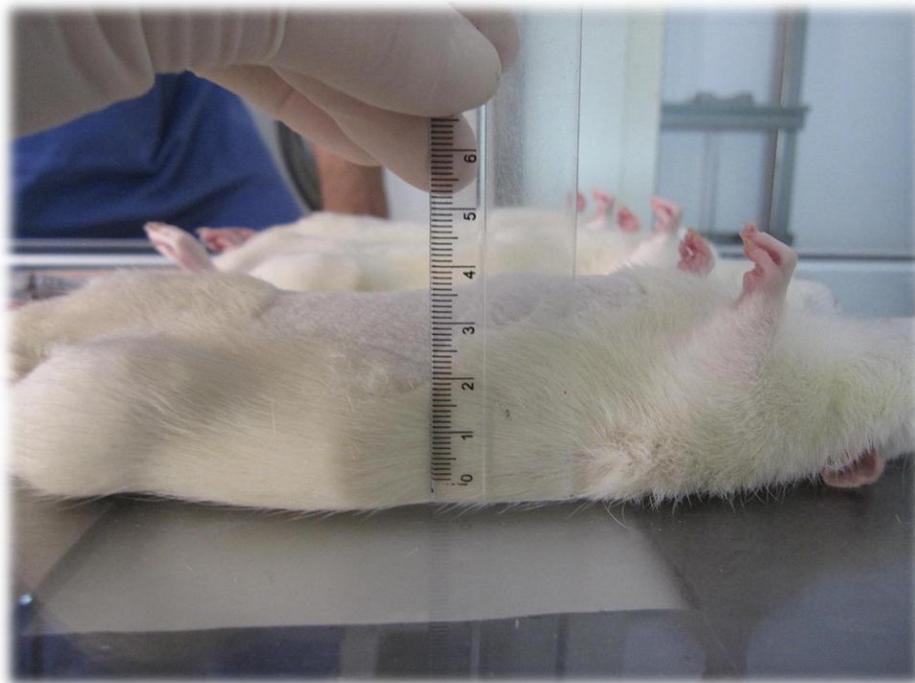


Figura 19: Medida da espessura do abdômen dos ratos

A avaliação dos dois grupos por meio de radiografia foi efetuada a cada 30 min durante 90 min; iniciando com o instante imediatamente após a injeção de contraste (T_0), após 30 (T_{30}), 60 (T_{60}) e 90 min (T_{90}), como ilustra a figura 20.

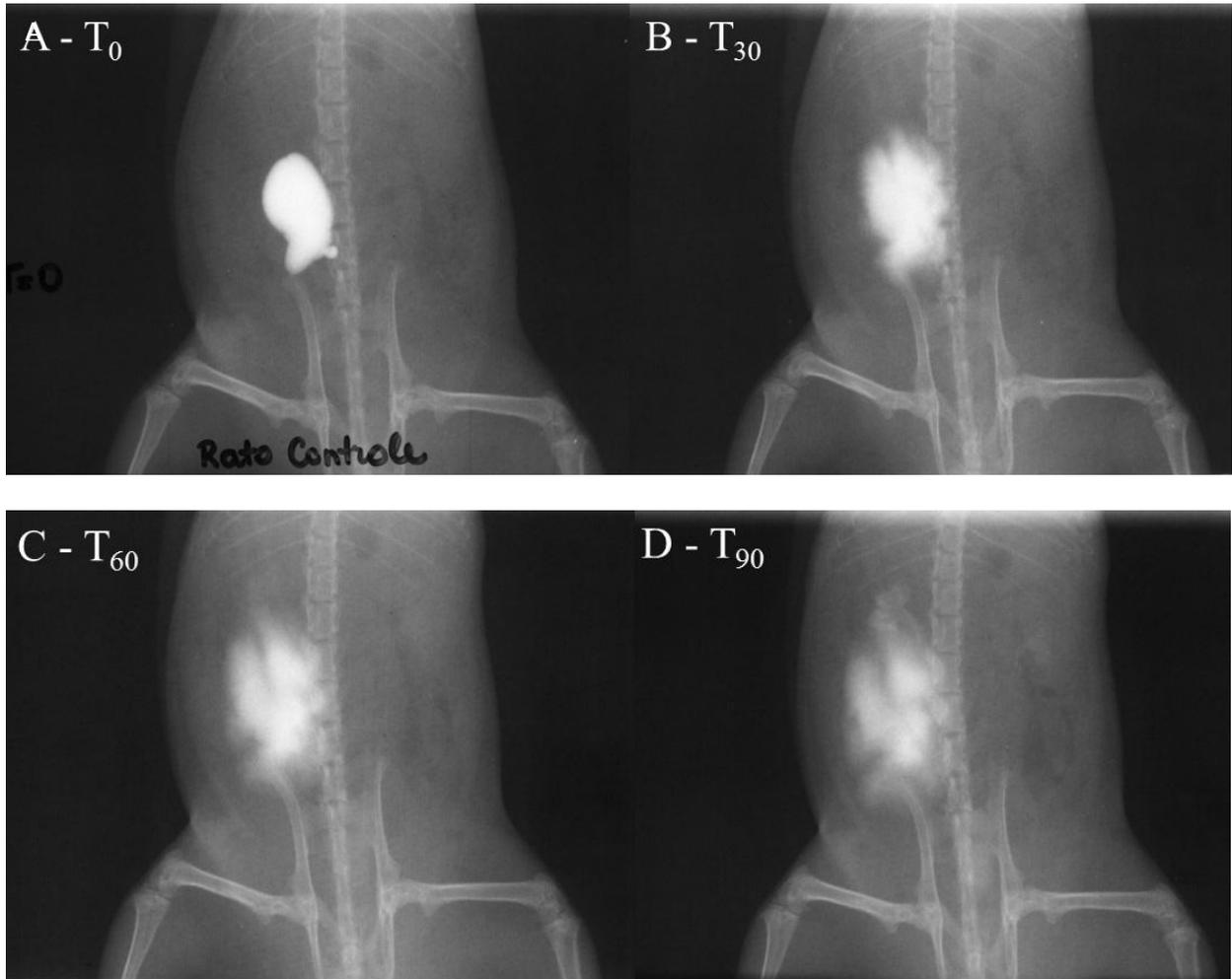


Figura 20: A imagem radiográfica A correspondendo ao tempo 0, imagem B ao tempo 30 min, imagem C ao tempo 60 min e imagem D ao tempo 90 min

Assim, a primeira radiografia foi realizada antes do início da estimulação elétrica e a última 30 min após o término da sessão estimulatória.

O protocolo estimulatório foi realizado em uma única sessão de 1 h de duração (Cosgrove *et al.*, 1992).

A região injetada com contraste do grupo A foi radiografada inicialmente (T_0) e passou a receber, imediatamente, o estímulo elétrico.

Segundo Mendel e Fish (1993), Fish, Mendel e Schultz (1991), Butterfiel *et al.* (1997), Dolan *et al.* (2003), Man, Morrissey e Cywinski (2007), Dolan *et al.* (2005) e Taylor *et al.* (1992), deve-se estimular o tecido a nível sensorial o mais precocemente possível, com objetivo de controle e redução da resposta inflamatória.

Os parâmetros elétricos ajustados para o protocolo estimulatório aplicado foram: (a) frequência de pulso de 120 Hz, recomendada para o tratamento de edema local (CURRIER, 1991 e MENDEL, WYLGALA e FISH, 1992); (b) duração de pulso de 12,8 μ s, com o total de dois pulsos. (c) amplitude 10% abaixo daquela que produziria uma contração muscular perceptível (REED, 1988; MENDEL e FISH, 1993 e KARNES *et al.*, 1992). O período total contendo os dois pulsos (início do primeiro até o final do segundo) alcançou 170 μ s, com a forma de onda exponencial decrescente.

A técnica de aplicação foi monopolar com eletrodos de superfície (PETROFSKY *et al.*, 2006), interposto com gel condutivo (BOLFE E GUIRRO, 2009), com 1 cm de diâmetro para o pólo ativo (cátodo) na região abdominal inferior direita, e outro eletrodo de 2 cm, como pólo dispersivo (pólo anódico) na região abdominal superior direita (ambos próximos ao botão de contraste injetado, mantendo um bom contato em todas as bordas).

Segundo Brown *et al.* (1995), o eletrodo ativo deve ter $\frac{1}{4}$ do tamanho do eletrodo dispersivo.

Para a aplicação da estimulação elétrica, empregou-se o equipamento Neurodyn High Volt® da marca IBRAMED Ltda, Curitiba, Brasil.

Os ensaios de calibração do aparelho de estimulação elétrica foram realizados em outubro/2009 e março/2010, de acordo com o roteiro proposto por Morales (2003), no Laboratório de Engenharia de Reabilitação da PUCPR. A figura 20 ilustra a forma de onda liberada pelo estimulador sobre um resistor de $1k\Omega$.

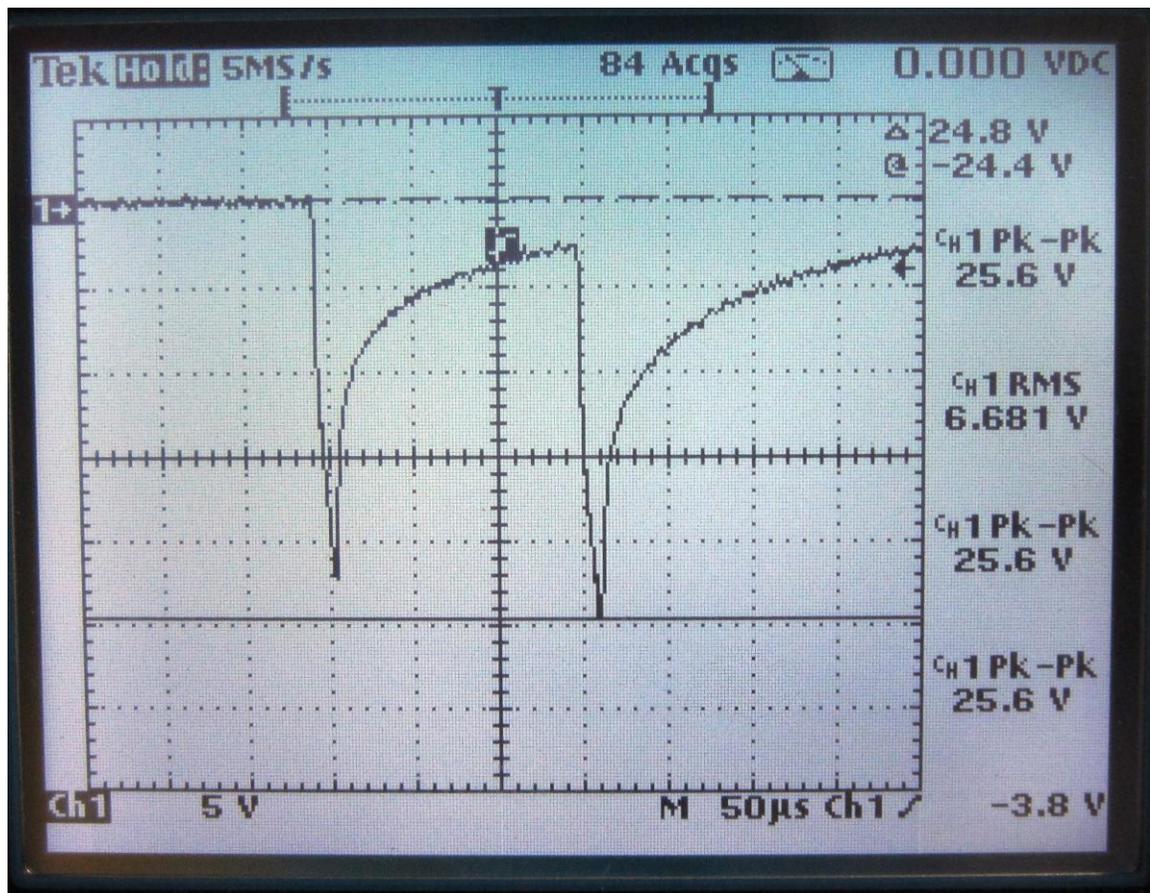


Figura 21: Ilustração da tela do osciloscópio mostrando a forma de onda produzida pelo estimulador no ensaio de calibração

Em virtude da oscilação da tensão do aparelho de estimulação elétrica, crescentemente, foram necessários ajustes da mesma a cada 10 min, monitorados por

um osciloscópio digital da marca Tektronix, modelo THS 710, alimentado com baterias, como ilustra a figura 22.



Figura 22: Montagem do trabalho prático

Logo após 30 min de estimulação catódica, determinados por meio do uso de um cronômetro, foi tirada uma nova radiografia (considerado como T_{30}) e, após isto, continuou-se aplicando a corrente elétrica por mais 30 min e, em seguida, uma terceira radiografia (considerado T_{60}), havendo, ainda, uma tomada de imagem após 30 min, para finalizar a análise, de acordo com o quadro 3.

Quadro 3 - Protocolo de estimulação elétrica versus tempo

	Injeção do contraste	Raio-X T_0	1ª estimulação elétrica	Raio-X T_{30}	2ª estimulação elétrica	Raio-X T_{60}	Raio-X T_{90}
GRUPO A N=10	0,9 ml	1ª radiografia	30 min de duração	2ª radiografia	30 min de duração	3ª radiografia	Observação final - 30 min
GRUPO B N=10	0,9 ml	1ª radiografia	controle	2ª radiografia	controle	3ª radiografia	Observação final - 30 min

O grupo B, controle, não submetido à estimulação elétrica, foi monitorado por meio de radiografia, conforme realizada com o grupo A (teste).

No mesmo dia do tratamento, os animais dos dois grupos sofreram eutanásia por dose letal de thiopental sódico intracardíaco (120mg/kg), método recomendado para roedores e outros pequenos mamíferos, e contido na Resolução 714 do Conselho Federal de Medicina Veterinária de 20 de julho de 2002.

As imagens radiográficas coletadas na pesquisa foram escaneadas, todas em um mesmo dia, pela mesma pessoa, com o uso do aparelho Scanner UMAX Power Lock 2100 XL, ajustado com uma tampa de leitura específica para imagens de Raios-X e programado com uma resolução de 3200 ppp (pontos por pixel). O local para realização desta coleta de dados foi o Laboratório de Engenharia de Reabilitação – PUCPR.

A análise das imagens digitalizadas foi realizada com o auxílio do programa ImageJ. Este programa, de operação semi-automática, foi desenvolvido no *National Institutes of Health* (NIH), Estados Unidos, para análise e processamento de múltiplas imagens, em 3D ou não, incluindo as de Raio-X.

Foram utilizadas ferramentas específicas do programa para delimitação da área de substância radiopaca e intensidade da imagem da mesma, ao longo dos intervalos de tempo estudados (T_0 , T_{30} , T_{60} e T_{90}).

Com o programa *ImageJ* efetuou-se o recorte de cada imagem original de Raios-X e duplicação da mesma, para que se pudesse aumentar o contraste da imagem duplicada (com saturação de 0,4%), criando uma borda para delimitar o espalhamento, sem alterar a imagem original, como mostra a figura 23.

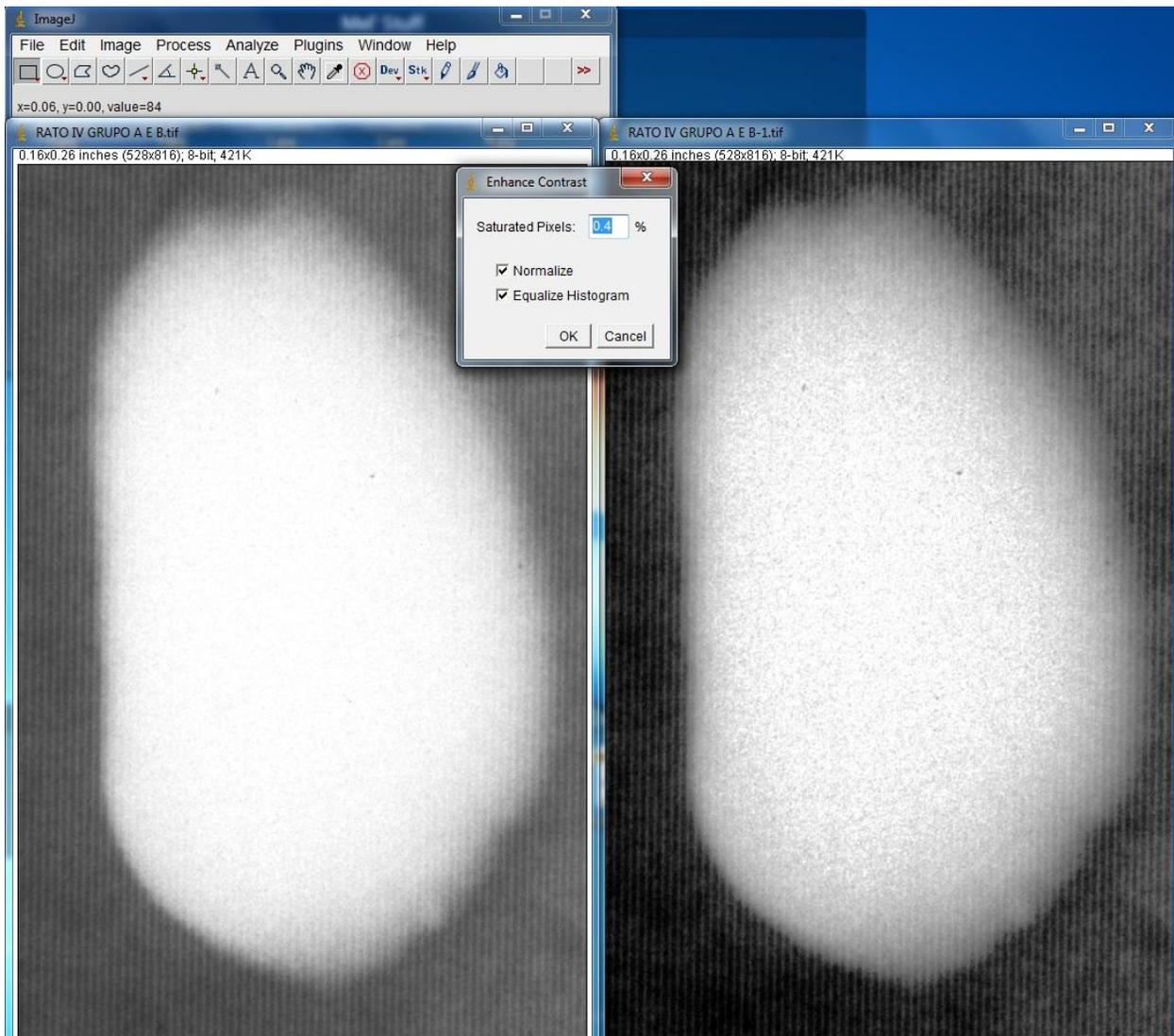


Figura 23: Imagem original à esquerda e imagem duplicada com aumento do contraste, à direita.

A seguir, utilizou-se a função de ajuste de imagem transformando essa duplicação em um desenho com limite definido, contendo uma borda desenhada semi-automaticamente, através da ferramenta do gerenciador de região de interesse, e em seguida, fazendo-se a transposição dessa borda para a imagem original (Figura 24).

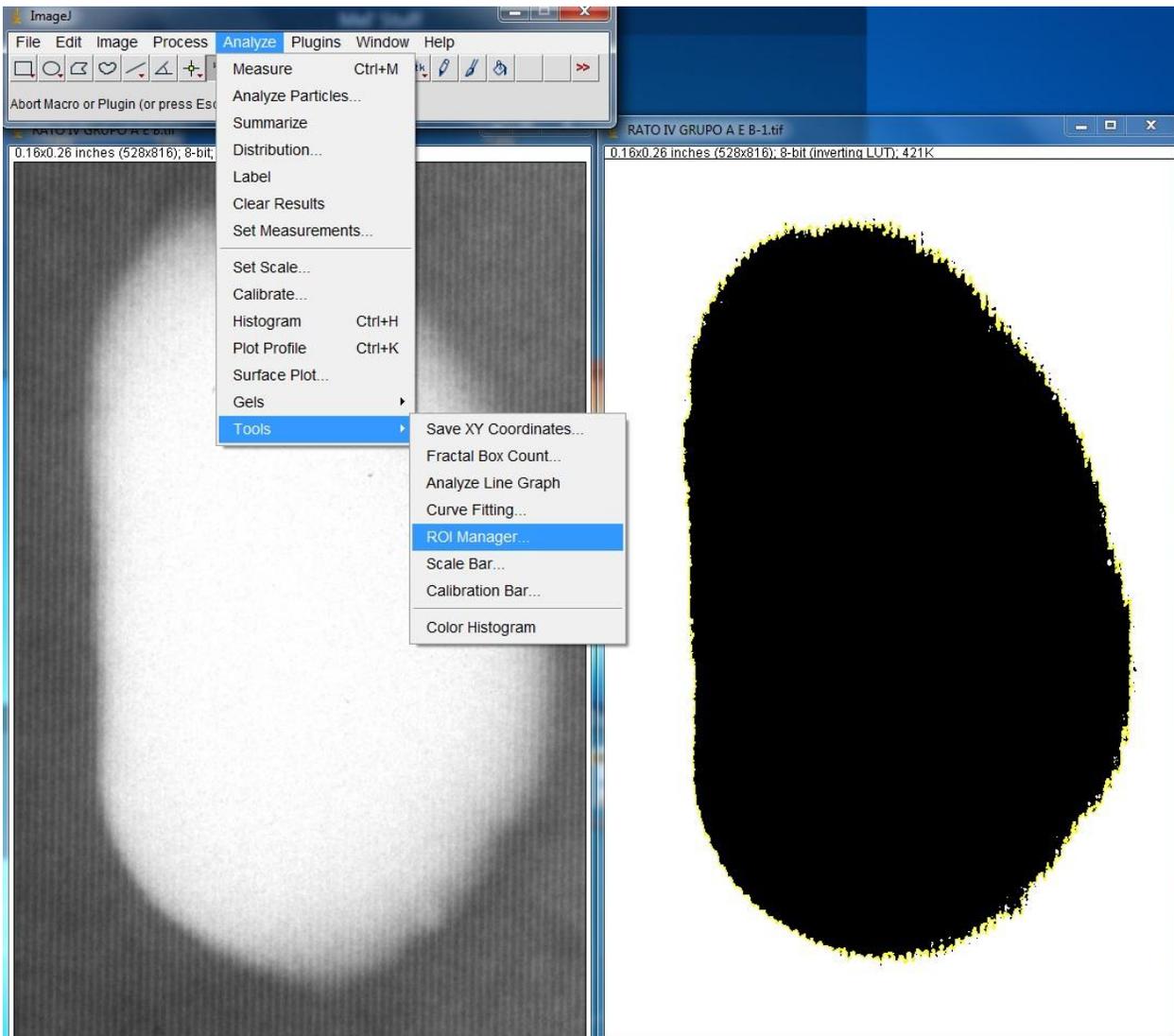


Figura 24: Imagem original à esquerda, e à direita a imagem duplicada com borda desenhada.

O cálculo das variáveis de controle (quantidade de pixels - área, intensidade de pixels total, intensidade de pixels claros *versus* área total) dentro deste limite proposto, foi realizado automaticamente por meio de histograma referente à cada imagem (Figura 25).

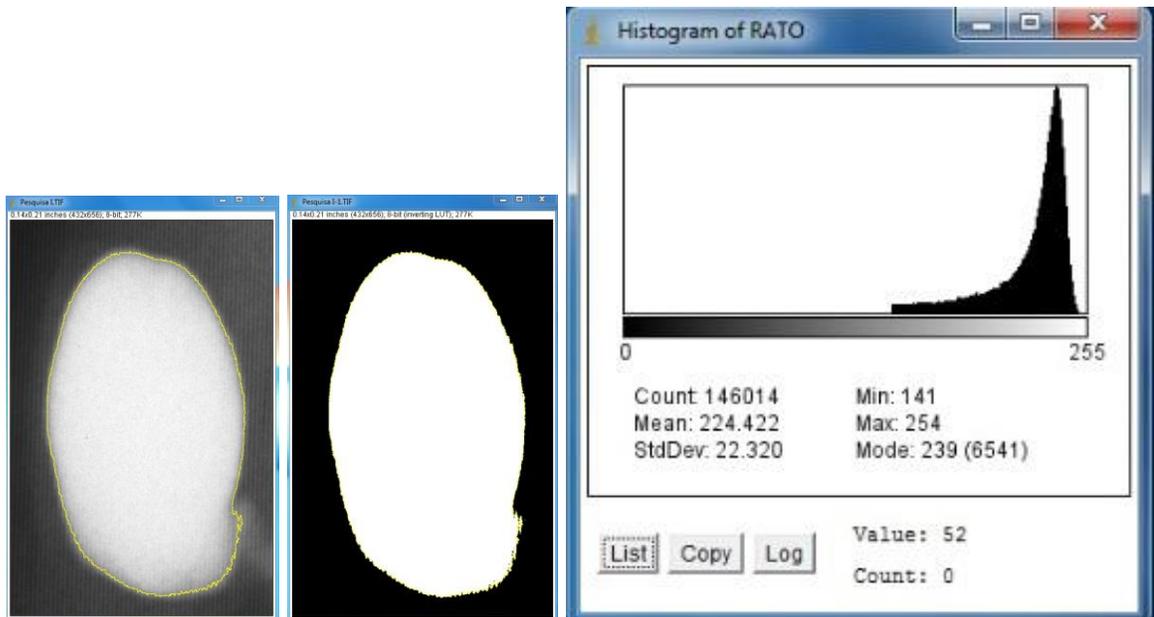


Figura 25: Etapas da análise das imagens radiográficas

Observa-se no histograma (Figura 25), a contagem do número de pixels na imagem correspondente (*count*), a intensidade dos pixels (*mean*) e o desvio padrão (*StdDev*).

O processamento foi realizado nas 80 imagens radiográficas adquiridas durante a pesquisa experimental sempre pelo mesmo avaliador.

A quantidade de pixels foi considerada e contabilizada sempre até a borda da imagem, dada pelo programa, segundo o recorte da mesma.

A intensidade dos pixels seguiu o limite de tons de cinza variando do 0 ao 255, sendo o 0 o valor de cinza mais escuro e o 255 o valor mais claro, segundo a imagem do histograma, de acordo com a Figura 26.

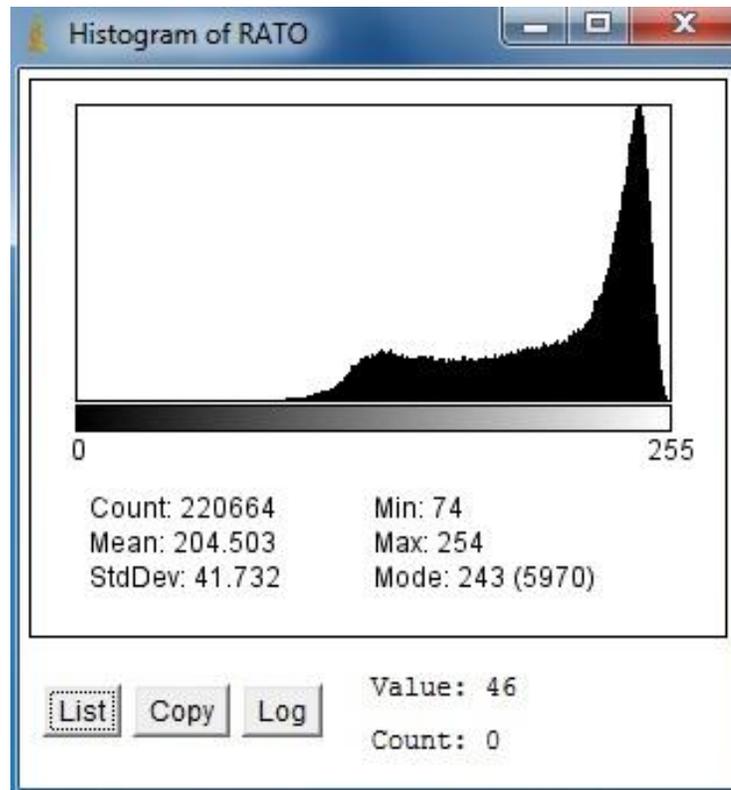


Figura 26: Histograma

A área de pixels claros foi determinada pelo corte feito a 15% do valor máximo do pixel mais claro existente na imagem. Este valor foi comparado ao total da área de pixels delimitada pela borda, definida semiautomaticamente, considerado nesse trabalho como área total de pixels.

No grupo B, controle, duas amostras (rato I e rato II) foram desconsideradas por apresentarem substância radiopaca sobrepondo estruturas da coluna vertebral, o que mascararia a área de interesse, já que o software utilizado para a análise contabilizaria as imagens ósseas como região de edema (Figura 27). Como as estruturas ósseas apresentam absorção semelhante dos Raios-X que o contraste utilizado, mascararia os resultados do estudo, contabilizando imagens ósseas como regiões de edema.

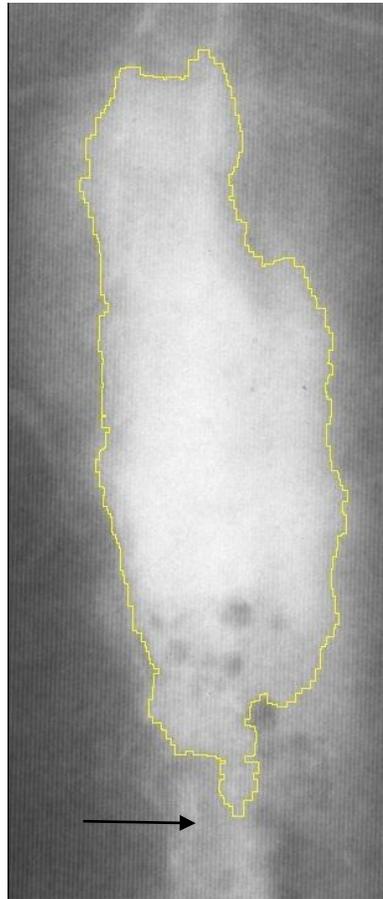


Figura 27: Imagem radiográfica da sobreposição do contraste (borda amarela) e da coluna vertebral do rato (indicada com a seta).

Com o intuito de elevar o grau de confiabilidade da análise, foram realizados testes de repetitividade e reprodutibilidade em 10 das 80 imagens, com as mesmas ferramentas utilizadas nas imagens originais.

As imagens radiográficas também foram analisadas por um segundo avaliador (veterinário, especialista em imagens radiográficas), que qualificou o espalhamento do contraste ao longo dos intervalos de tempo T_0 , T_{30} , T_{60} e T_{90} de cada rato, por meio de um escore crescente de 1 a 5, de acordo com o quadro 4. O avaliador pôde observar nas imagens radiográficas a presença do eletrodo, no grupo teste; portanto, a análise

foi feita com prévio conhecimento do grupo ao qual pertenciam as amostras, porém, tão imparcial quanto possível.

Quadro 4: Escore de análise do aparecimento das estruturas renais

ESCORE (nº)	OCORRÊNCIA
1	nenhuma absorção
2	dispersão do contraste
3	absorção periférica sem excreção renal visível
4	absorção periférica com excreção renal visível
5	absorção completa

3.3. Análise Estatística

Os resultados obtidos no estudo foram expressos por médias, medianas, valores mínimos, valores máximos e desvios padrões (variáveis quantitativas) ou por frequências e percentuais (variáveis qualitativas). Para a comparação dos grupos em relação às variáveis quantitativas, considerou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Em relação às variáveis qualitativas dicotômicas, os grupos foram comparados usando-se o teste exato de Fisher. Para avaliar o efeito do tratamento dentro dos grupos, em relação a variáveis quantitativas, foram aplicados os testes não-paramétricos de Friedman e de Wilcoxon. O teste binomial foi considerado para a comparação dos momentos de avaliação em relação a variáveis qualitativas dicotômicas. Para avaliação da condição de normalidade das variáveis, foi aplicado o teste de Shapiro-Wilks. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os dados

foram organizados em planilha Excel e analisados com o programa computacional Statistica v.8.0.

4. RESULTADOS

Neste capítulo, apresentam-se os resultados da pesquisa experimental, de acordo com as variáveis: número de pixels, intensidade dos pixels, visualização do rim, escore da absorção do meio de contraste e área de pixels brancos *versus* área total.

4.1. Número de Pixels

Inicialmente, em cada momento de avaliação (T_0 , T_{30} , T_{60} e T_{90}) testou-se a hipótese nula de que o número de pixels é igual nos dois grupos *versus* a hipótese alternativa de número de pixels diferentes. Na tabela 1, são apresentadas estatísticas descritivas dessa variável de acordo com os grupos e os valores de p dos testes estatísticos.

Tabela 1: Comparação do número de pixels entre Grupo A e B

Momento	Grupo	n	Número de pixels					Valor de p^*
			Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	
T_0	A	10	234415	226656	148673	322078	47895	0,515
	B	8	244034	236914	211547	289783	24506	
T_{30}	A	10	357241	365569	220673	494466	71782	0,460
	B	8	335707	323143	294025	436836	43330	
T_{60}	A	10	393034	390038	250071	536380	86488	0,237
	B	8	356019	346097	319525	462067	45423	
T_{90}	A	10	419872	428523	263107	546026	97236	0,055
	B	8	345548	340198	333688	363502	12928	

* Teste não-paramétrico de Mann Whitney, $p < 0,05$.

Em seguida, para cada grupo, testou-se a hipótese nula de que o número de pixels é igual para os quatro intervalos de avaliação *versus* a hipótese alternativa de

que pelo menos em um dos momentos o número de pixels é diferente dos demais.

Para ambos os grupos, o resultado do teste indicou que existe diferença significativa entre os momentos de avaliação em relação ao número de pixels. Sendo assim, para os dois grupos, os momentos foram comparados dois a dois. Na tabela 2 são apresentados os valores de p da comparação global dos quatro intervalos e os valores de p das comparações dos momentos dois a dois.

Tabela 2: Comparação de número de pixels versus tempo

Grupo	Valor de p^*						
	0 x 30 x 60 x 90	0 x 30	0 x 60	0 x 90	30 x 60	30 x 90	60 x 90
Grupo A	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,017	<0,001	0,017
Grupo B	0,001	0,001	<0,001	<0,001	0,012	0,026	0,736

* Teste não-paramétrico de Friedman, $p < 0,05$.

A figura 28 ilustra os resultados obtidos.

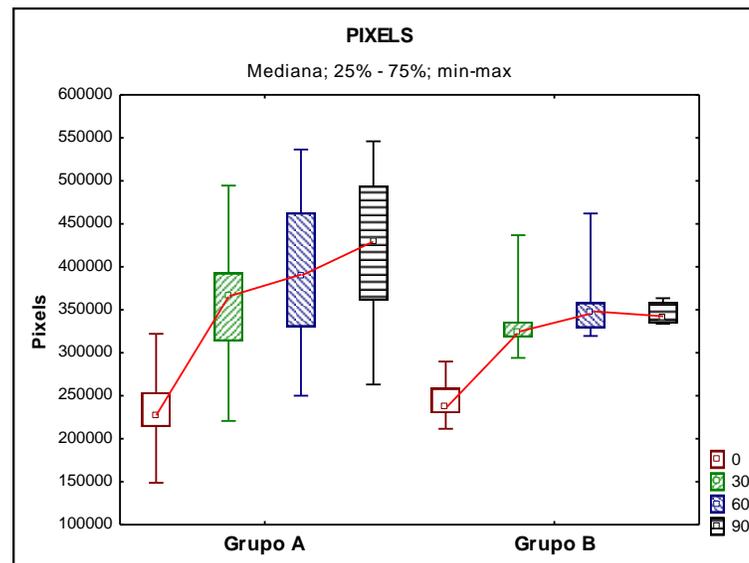


Figura 28: Gráfico de comparação do número de pixels ao longo do tempo

Ainda em relação à variável número de pixels, foi considerada a sua variação

percentual ao longo do tempo (T_0 até T_{90}). Para esta variação, testou-se a hipótese nula de que os resultados são iguais nos dois grupos *versus* a hipótese alternativa de resultados diferentes. Na tabela 3 são apresentados os resultados obtidos.

Tabela 3: Variação percentual T_0 a T_{90}

Grupo	n	Variação percentual no número de pixels de T_0 a T_{90}					Valor de p^*
		Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	
A	10	80,0%	70,0%	42,1%	126,4%	29,2%	
B	8	42,8%	41,3%	16,1%	62,5%	15,1%	0,002

*Teste não-paramétrico de Mann Whitney, $p < 0,05$.

A figura 29 mostra a variação percentual do número de pixels entre o Grupo A, teste, e o Grupo B, controle, em relação ao intervalo $T_0 - T_{90}$.

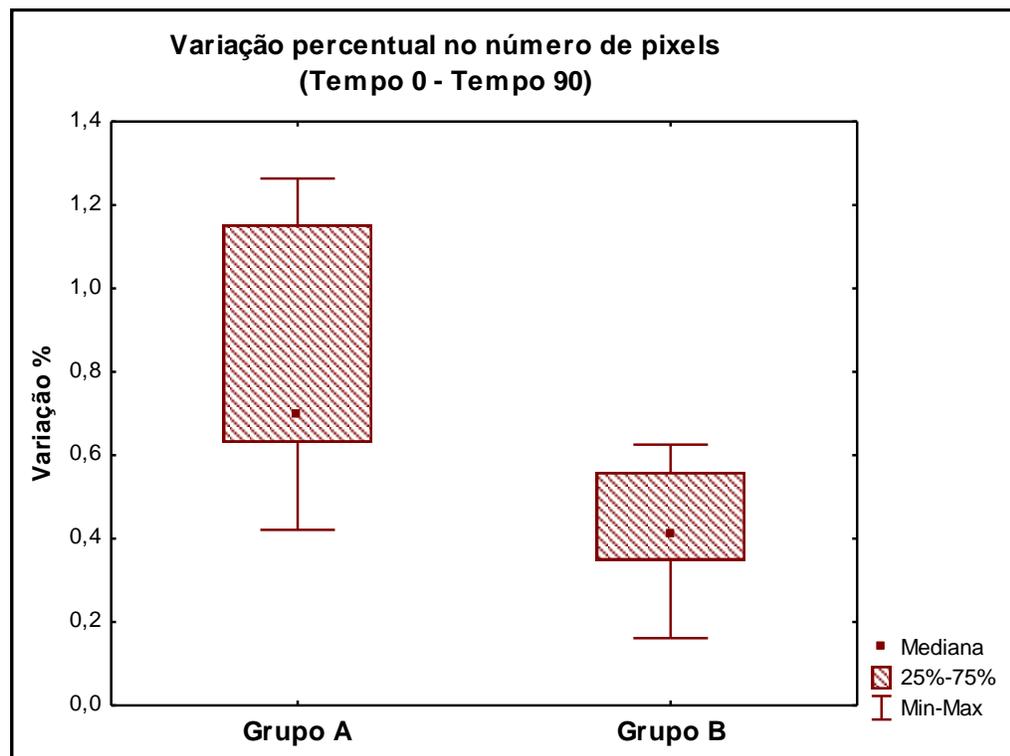


Figura 29: Gráfico de variação percentual no número de pixels entre Grupo A e B

4.2. Intensidade de Pixels

Inicialmente, em cada intervalo de avaliação (T_0 , T_{30} , T_{60} e T_{90}), testou-se a hipótese nula de que a intensidade de pixels é igual nos dois grupos, *versus* a hipótese alternativa de intensidades diferentes. Na tabela 4, são apresentadas estatísticas descritivas dessa variável de acordo com os grupos e os valores de p dos testes estatísticos.

Tabela 4: Comparação da intensidade de pixels entre Grupo A e B

Momento	Grupo	n	Intensidade					Valor de p^*
			Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	
T_0	A	10	207,2	223,5	160,3	239,9	32,0	0,965
	B	8	204,2	202,0	173,7	238,2	31,6	
T_{30}	A	10	189,8	205,9	141,2	222,0	32,0	0,460
	B	8	193,5	189,1	162,2	225,5	29,9	
T_{60}	A	10	177,2	187,7	132,4	219,2	31,2	0,460
	B	8	182,1	177,0	152,6	217,7	29,9	
T_{90}	A	10	164,7	169,5	112,5	205,3	31,6	0,965
	B	8	163,1	151,6	133,0	209,9	31,0	

*Teste não-paramétrico de Mann Whitney, $p < 0,05$.

Em seguida, para cada grupo, testou-se a hipótese nula de que a intensidade de pixels é igual para os quatro momentos de avaliação *versus* a hipótese alternativa de que pelo menos em um dos momentos a intensidade é diferente dos demais.

Para ambos os grupos, o resultado do teste indicou que existe diferença significativa entre os momentos de avaliação em relação à intensidade de pixels. Sendo assim, para os dois grupos, os momentos foram comparados dois a dois. Na tabela 5 são apresentados os valores de p da comparação global dos 4 momentos e os valores de p das comparações dos momentos dois a dois.

Tabela 5: Valores de p na comparação da intensidade de pixels X tempo

Grupo	Valor de p^*						
	0 x 30 x 60 x 90	0 x 30	0 x 60	0 x 90	30 x 60	30 x 90	60 x 90
Grupo A	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Grupo B	0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

*Teste não-paramétrico de Friedman, $p < 0,05$

A figura 30 ilustra os resultados obtidos com intensidade dividida por 1000.

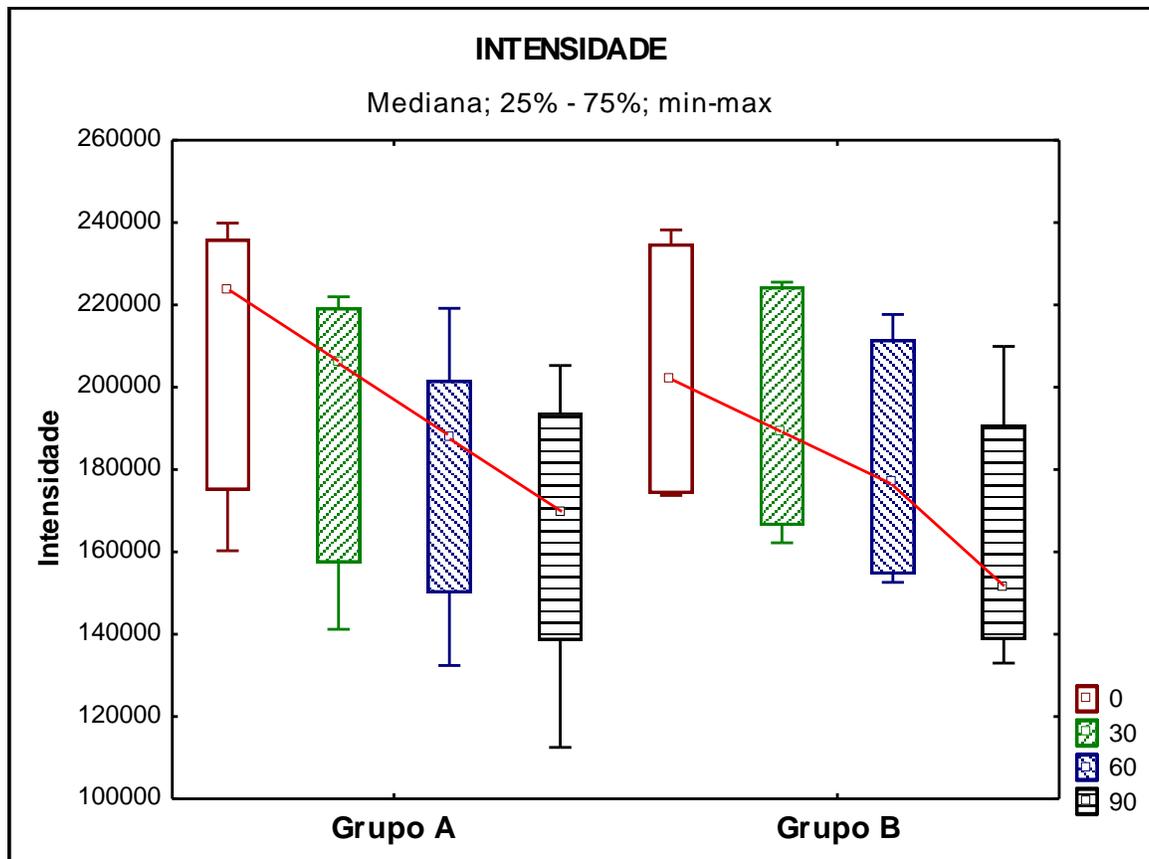


Figura 30: Gráfico de comparação da intensidade de pixels entre os Grupos A e B

Ainda em relação à intensidade, considerou-se a variação percentual ocorrida entre o T_0 e T_{90} . Para esta variação, testou-se a hipótese nula de que os resultados são

iguais nos dois grupos *versus* a hipótese alternativa de resultados diferentes. Na tabela 6, são descritos os resultados obtidos.

Tabela 6: Variação percentual da intensidade de pixels no intervalo de 0 a 90 min

Grupo	n	Variação percentual de T_0 a T_{90}					Valor de p^*
		Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	
A	10	-20,8%	-19,5%	-29,8%	-13,0%	5,9%	
B	8	-20,3%	-21,1%	-28,5%	-10,7%	6,2%	0,897

*Teste não-paramétrico de Mann Whitney, $p < 0,05$.

Na figura 31, observa-se a variação deste percentual entre os dois grupos, teste e controle.

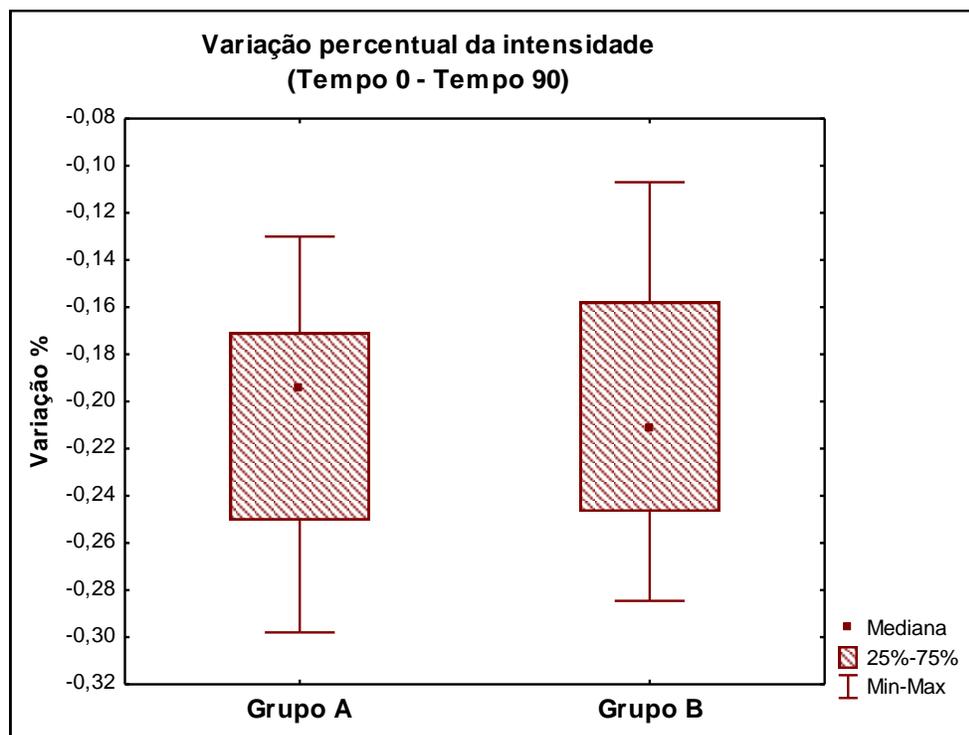


Figura 31: Gráfico da variação percentual da intensidade de pixels entre os Grupos A e B

4.3. Visualização dos Rins e Bexiga

Em uma das amostras, representadas pela figura 32, observa-se a formação da imagem do rim (cálice renal) (A) e abaixo dela a imagem da bexiga urinária (B), indicando reabsorção do contraste por essas estruturas.

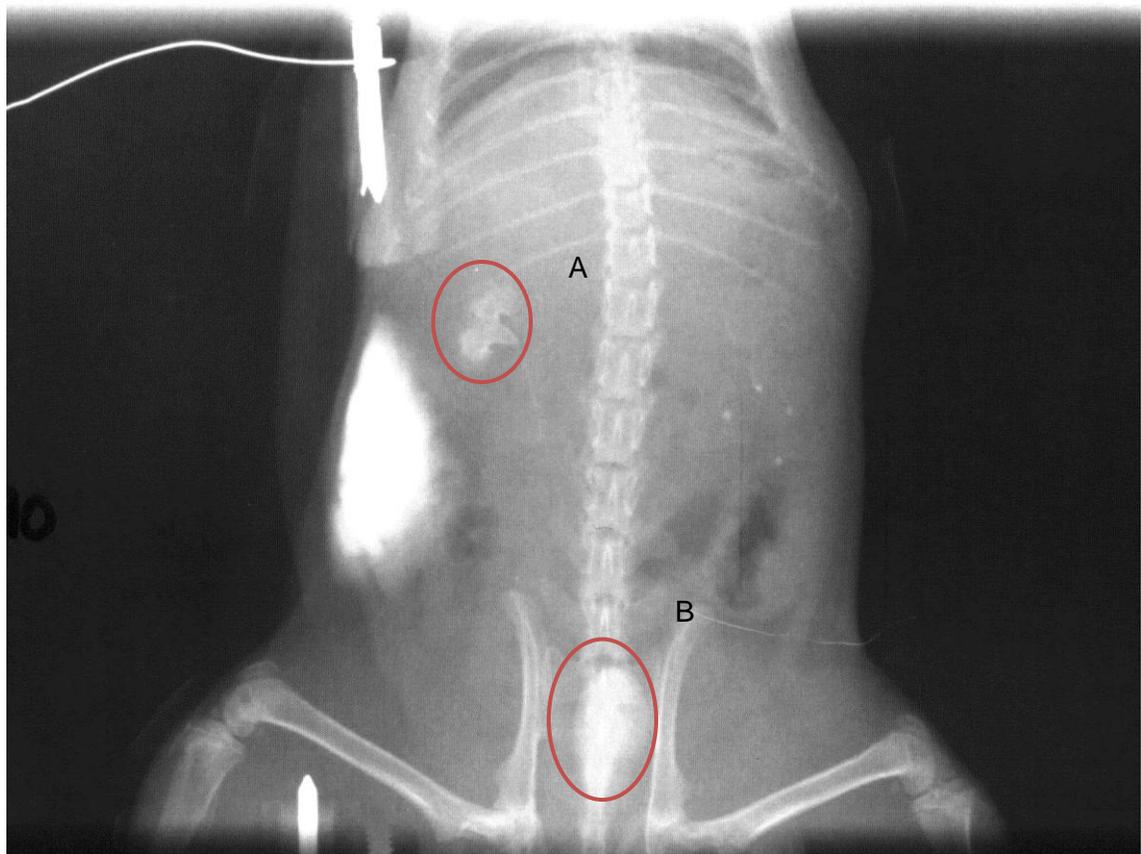


Figura 32: As regiões delimitadas mostram a imagem do cálice renal (A) e a bexiga urinária (B).

Em cada momento de avaliação, testou-se a hipótese nula de que a proporção de casos em que o rim é visualizado é igual nos dois grupos, *versus* a hipótese alternativa de proporções diferentes. Na tabela 7, apresentam-se as frequências e

percentuais de casos em que houve ou não a visualização do rim e os valores de p dos testes estatísticos.

Tabela 7: Comparação da visualização do rim entre os Grupos A e B

Rim	T ₀		T ₃₀		T ₆₀		T ₉₀	
	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B
Não	10	8	10	8	6	5	3	3
	100%	100%	100%	100%	60,00%	62,50%	30,00%	37,50%
Sim					4	3	7	5
					40,00%	37,50%	70,00%	62,50%
Total	10	8	10	8	10	8		
Valor de p^*	1		1		1		1	

*Teste Exato de Fisher, $p < 0,05$

Ainda em relação à essa variável, são apresentadas, para cada grupo, as freqüências de casos de acordo com os resultados dos dois momentos de avaliação: T₀ e T₉₀.

Para cada grupo, testou-se a hipótese nula de que a proporção de casos em que há visualização do rim é igual nos dois momentos, *versus* a hipótese alternativa de proporções diferentes.

Os resultados descritos na tabela 8 indicam que em ambos os grupos houve alteração significativa da proporção de casos com visualização do rim na avaliação de T₀ quando comparada com esta proporção na avaliação de T₉₀.

No grupo A, em 70% dos casos, o rim não era visualizado em T₀, e passou a ser em T₉₀. No grupo B este percentual foi igual a 62,5%.

Tabela 8: Comparação da visualização do rim X tempo**GRUPO A**

T ₀	T ₉₀		
	Não visualizado	Visualizado	Total
Não visualizado	3	7	10
Visualizado			
Total	3	7	10

Valor de p : 0,008 (Teste Binomial, $p < 0,05$)

GRUPO B

T ₀	T ₉₀		
	Não visualizado	Visualizado	Total
Não visualizado	3	5	8
Visualizado			
Total	3	5	8

Valor de p : 0,031 (Teste Binomial, $p < 0,05$)

A figura 33, mostra os resultados obtidos nas comparações entre os grupos.

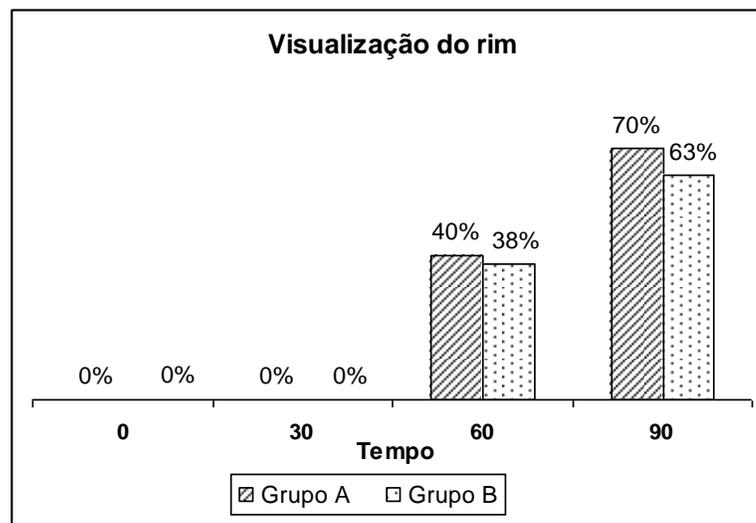


Figura 33: Gráfico de visualização do rim entre os Grupos A e B

4.4. Escore da Absorção do Meio de Contraste

Na tabela 9, observa-se a porcentagem de absorção do contraste, segundo observação e análise de um avaliador especialista em imagem radiográfica, nos grupos A e B, nos intervalos de T_0 , T_{30} , T_{60} e T_{90} .

Tabela 9: Escore da visualização do espalhamento do contraste em função do tempo

Rim	T_0		T_{30}		T_{60}		T_{90}	
	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B
Nenhuma absorção	10 100%	8 100%						
Dispersão do contraste			10 100%	8 100%	3 30,00%	4 50,00%		
Absorção periférica sem excreção visível					4 40,00%	2 25,00%	1 10,00%	4 50,00%
Observação de excreção renal					3 30,00%	2 25,00%	9 90,00%	4 50,00%
Absorção completa								
Total	10	8	10	8	10	8	10	8

Testou-se a hipótese nula de que os resultados do escore são iguais para os dois grupos *versus* a hipótese alternativa de que os resultados são diferentes. Na tabela 10, são apresentados os resultados obtidos.

Para cada um dos grupos, testou-se a hipótese nula de que os resultados na avaliação do T_0 são iguais aos resultados da avaliação de T_{90} *versus* a hipótese alternativa de resultados diferentes. Os valores de p foram 0,005 (grupo A) e 0,012 (grupo B).

Tabela 10: Escore da visualização do espalhamento do contraste entre os Grupos A e B

Tempo	Grupo	n	Mediana	Mínimo	Máximo	Valor de p^*
T ₀	A	10	1	1	1	1
	B	8	1	1	1	
T ₃₀	A	10	2	2	2	1
	B	8	2	2	2	
T ₆₀	A	10	3	2	4	0,573
	B	8	3	2	4	
T ₉₀	A	10	4	3	4	0,173
	B	8	4	3	4	

*Teste não-paramétrico de Mann Whitney, $p < 0,05$.

Os dez casos do grupo A tiveram escore 1 na avaliação em T₀ e, na avaliação em T₉₀, nove (90%) tiveram escore 4; e um obteve escore 3. A diferença nos resultados da avaliação inicial com a avaliação final foi significativa ($p=0,005$).

Os oito casos do grupo B tiveram escore 1 na avaliação em T₀ e, na avaliação em T₉₀, quatro deles (50%) tiveram escore 3 e outros quatro (50%) tiveram escore 4. A diferença nos resultados da avaliação inicial com a avaliação final também foi significativa ($p=0,012$).

4.5. Área de Pixels Claros X Área Total

Inicialmente, obteve-se a evolução da proporção de redução da área de pixels claros em relação à área total do contraste em cada rato, nos grupos A e B (Tabela 11).

Para cada intervalo de avaliação (T₀, T₃₀, T₆₀ e T₉₀), testou-se a hipótese nula de que a proporção de redução da área de pixels claros em relação à área total é igual nos dois grupos *versus* a hipótese alternativa de que a proporção de pixels é diferente.

Tabela 11: Proporção da redução da área de pixels claros X área total, para os quatro instantes de tempo analisados.

GRUPO	RATO	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀
A	I	57,68%	42,52%	34,73%	25,50%
A	II	73,25%	51,96%	45,70%	34,66%
A	III	64,36%	46,21%	31,81%	13,42%
A	IV	73,05%	48,21%	27,59%	19,07%
A	V	79,41%	43,09%	22,70%	9,60%
A	VI	59,20%	39,05%	17,97%	0,04%
A	VII	51,77%	21,08%	4,90%	0,05%
A	VIII	67,60%	32,86%	32,73%	14,51%
A	IX	69,21%	51,66%	32,79%	20,16%
A	X	45,07%	12,85%	4,03%	0,00%
B	III	73,97%	51,83%	31,99%	23,21%
B	IV	70,96%	54,38%	44,03%	28,48%
B	V	76,19%	50,76%	24,28%	0,01%
B	VI	64,93%	38,11%	22,71%	0,05%
B	VII	61,75%	46,65%	29,10%	11,44%
B	VIII	70,31%	49,71%	31,10%	12,31%
B	IX	62,77%	46,66%	28,91%	12,33%
B	X	65,36%	48,95%	27,57%	4,14%

Na tabela 12, são apresentadas estatísticas descritivas desta variável de acordo com os grupos e os valores de p dos testes estatísticos.

Tabela 12: Variação da proporção entre grupo A e B em T₀

Momento	Grupo	n	Intensidade					Valor de p*
			Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	
T ₀	A	10	64,1%	66,0%	45,1%	79,4%	10,6%	0,408
	B	8	68,3%	67,8%	61,8%	76,2%	5,3%	
T ₃₀	A	10	38,9%	42,8%	12,9%	52,0%	13,1%	0,083
	B	8	48,4%	49,3%	38,1%	54,4%	4,9%	
T ₆₀	A	10	25,5%	29,7%	4,0%	45,7%	13,3%	0,897
	B	8	30,0%	29,0%	22,7%	44,0%	6,5%	
T ₉₀	A	10	13,7%	14,0%	0,0%	34,7%	11,7%	0,696
	B	8	11,5%	11,9%	0,0%	28,5%	10,3%	

* Teste não-paramétrico de Friedman, $p < 0,05$

Em seguida, para cada grupo, testou-se a hipótese nula de que a área de pixels claros X área de pixels total é igual para os quatro momentos de avaliação *versus* a hipótese alternativa de que pelo menos em um dos momentos a área é diferente dos demais instantes.

Para ambos os grupos, o resultado do teste indicou que existe diferença significativa entre os momentos de avaliação em relação à área de pixels claros ($p < 0,001$). Sendo assim, os momentos de avaliação foram comparados dois a dois (Tabela 16).

Tabela 16: Comparação da intensidade de pixels X tempo

Grupo	Valor de p^*					
	0 x 30	0 x 60	0 x 90	30 x 60	30 x 90	60 x 90
Grupo A	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
Grupo B	0,012	0,012	0,017	0,017	0,017	0,017

* Teste não-paramétrico de Wilcoxon, $p < 0,05$

A figura 34 ilustra a comparação dos momentos dentro dos grupos A e B.

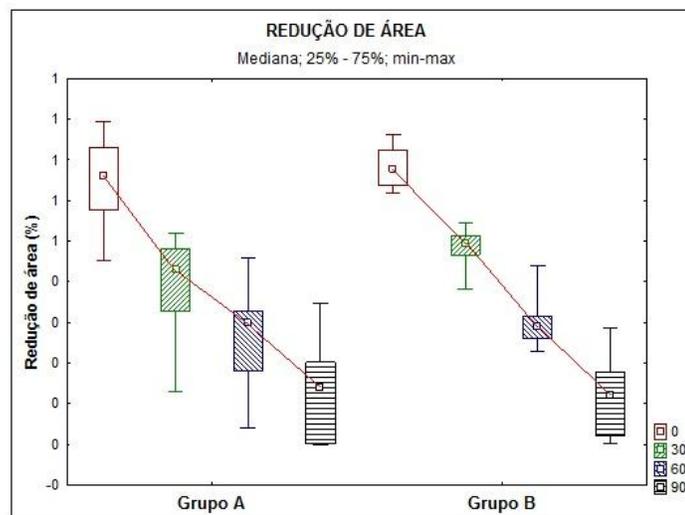


Figura 34: Gráfico de redução da área de pixels claros, na comparação dos quatro intervalos nos grupos A e B.

5. DISCUSSÃO

No presente trabalho, avaliou-se o comportamento do espalhamento e absorção de substância radiopaca em região abdominal subcutânea de ratos, sob efeito da estimulação elétrica, comparando-se um grupo teste (Grupo A) e grupo controle (Grupo B), utilizando imagens de Raios-X para comparação de resultados.

Com relação à variável número de pixels total, avaliaram-se as diferenças quantitativas de pixels entre os grupos A e B e as variações de área dentro de cada grupo em função do tempo, medidos nos instantes T_0 , T_{30} , T_{60} e T_{90} de transcurso do início do protocolo experimental.

Segundo Guyton e Hall (2006), o edema comporta-se inicialmente com aumento de volume local e, posteriormente, espalhamento dos fluídos para reabsorção dos líquidos extravasados pelas redes capilares sanguíneas e linfáticas.

Taylor *et al.* (1997) também utilizou em seus estudos o uso do processamento de imagens através da contagem e intensidade de pixels, nas imagens digitalizadas das regiões com edema.

Assim, o espalhamento do volume injetado de contraste, considerado nesse trabalho como aumento de área e conseqüente aumento no número de pixels, é entendido como positivo. Quanto maior o número de pixels, maior o espalhamento.

Comparando-se a média dos grupos A e B, observa-se que nos instantes T_0 , T_{30} e T_{60} min não houve diferenças significativas estatisticamente no número de pixels entre os grupos (T_0 $p=0,515$; T_{30} $p=0,460$; T_{60} $p=0,237$). Tal resultado também é observado nos trabalhos de Reed (1998) que, após utilizar a EEAT, não constatou alterações hemodinâmicas no tecido induzidas pela corrente.

Nos estudos de Mohr, Akers e Landry (1987), observou-se que a EEAT, quando utilizada no edema já instalado, não tem significância na redução do mesmo.

Cosgrove *et al.* (1992) não obtiveram redução do edema pós lesão em ratos quando aplicada a EEAT durante 1 h. Os autores sugerem que este período de aplicação da EEAT não seja suficiente para aumentar o gradiente oncótico e drenar o líquido contido no interstício. Cook *et al.* (1994) também não obtiveram redução do volume de edema após o uso de 1 h de EEAT comparando-se ao grupo controle, apesar de se referirem à facilitação da captação de proteínas pelos canais linfáticos.

Ao invés de ajudar na recuperação da inflamação, o uso prolongado da EEAT atrapalhou e até retardou esse processo, sugeriram as pesquisas de Brown e Gogia (1987).

Entretanto, quando se analisou o intervalo de tempo de 60 a 90 min na pesquisa realizada (T_{90}), a média de pixels no grupo A e no grupo B são bastante distintas; portanto, verificou-se uma tendência ($p= 0,055$) de resultado estatístico significativo na melhora do edema no Grupo A em relação ao B, existindo, portanto, uma melhor resposta da regressão do edema sob os efeitos da estimulação elétrica.

Este resultado é consistente com as pesquisas de Mendel, Wylwgala e Fish (1992), nas quais observaram redução do edema com o uso da EEAT, apesar do mesmo ainda não estar completamente instalado.

Porém, nos achados de Bettany *et al.* (1990) e Bettany, Fish e Mendel (1990) o uso da EEAT, durante 30 min, produziu resultados satisfatórios no controle e redução do edema.

Estudos de Taylor *et al.* (1997), que aplicaram apenas 5 min de estimulação, também obtiveram bons resultados e, ainda, estudos de Reed (1988), utilizando 30 min de estimulação, retardaram o processo de instalação do edema.

Nas pesquisas de Stralka, Jackson e Lewis (1998), os resultados também foram positivos na redução de edema e dor local com a aplicação da EEAT, porém, em pacientes com edema crônico.

O fenômeno de cataforese, citado por Nelson, Hayes e Currier (2003) poderia justificar o mecanismo de reabsorção observado nos últimos 30 min de monitoramento do grupo A nesta pesquisa.

Porém, se o mecanismo de iontoforese acontece mesmo, como resposta a EEAT, o resultado esperado na dissipação do contraste seria ainda melhor do que o que foi obtido na presente pesquisa, já que o estímulo ocorreu por 1 h.

Neste caso o pH do tecido estimulado estaria alterado, o que vai contra os achados nas pesquisas de Newton e Karselis (1983), que mencionam não existir alteração durante a aplicação da EEAT durante 30 min.

Interessante observar nos experimentos de Thornton, Mendel e Fish (1998) que somente após o segundo ciclo de estimulação elétrica (três ciclos de 30 min de estimulação para 30 min de repouso) houve resposta significativa na redução da inflamação.

Mendel, Wylwgala e Fish (1992), que utilizaram quatro repetições de 30 min de estimulação com 30 min de intervalo também perceberam redução do quadro edematoso.

Dolan *et al.* (2005), realizando 3 h consecutivas de estimulação, também obtiveram resultados de redução do edema agudo em 50% comparando-se ao grupo

controle. Im, Lee e Hoopes (1990) ressaltaram que, para se conseguir os benefícios da EEAT, deve-se iniciar o tratamento tão logo quanto possível.

Já Dolan *et al.* (2003) complementaram que a EEAT deveria ser utilizada durante todo o processo inflamatório agudo.

Em contrapartida, Houghton *et al.* (2010) não conseguiram provar estatisticamente que o tempo de aplicação da EEAT alterou os resultados da pesquisa, apesar de observarem que houve melhora acentuada naqueles pacientes que utilizaram a corrente por um período maior (8 h por dia).

Mohr, Akers e Landry (1987) também não conseguiram dados conclusivos no estudo de ratos com a frequência de três sessões de 20 min nos tempos 24, 48 e 72 h pós lesão.

Im, Lee e Hoopes (1990) observaram que nas amostras que receberam o tratamento com a corrente elétrica uma só vez, houve um resultado pior do que aquelas que receberam duas vezes, em relação à recuperação de feridas.

Quando se compara a variação no número de pixels nos intervalos de tempo dentro de cada grupo, observa-se que o comportamento de espalhamento é significativo no grupo A ($p < 0,001$) em todos os instantes de tempo avaliados. Isto sugere um crescente aumento da área de espalhamento do contraste, mesmo após o cessar da estimulação elétrica no último intervalo (T_{90}), ou seja, nos últimos 30 min.

Poder-se-ia, eventualmente, ter acompanhado por um período de tempo maior a dissipação do contraste nos animais do grupo A, para verificar se o resultado positivo do último intervalo perduraria por mais tempo, indo de encontro à pesquisa de Taylor *et al.* (1992). Segundo os autores, o efeito da corrente elétrica perdurou por 4 a 7,5 h, após o término da estimulação.

Porém, estudos indicam que apesar do aumento de fluxo de sangue arterial durante a estimulação elétrica, menos de 1 min após a sua interrupção, os valores de fluxo reduziram-se para o nível de repouso (TRACY, CURRIER e THRELKELD, 1988).

Já no grupo B, a significância das variações ocorre em todos os momentos analisados ($p < 0,001$) exceto na comparação entre os momentos 60 e 90 min, nos quais ocorreu estabilização do número de pixels ($p = 0,736$), ou seja, houve uma desaceleração na velocidade de espalhamento nesse intervalo.

Assim, a análise dos resultados dentro de cada grupo, comparando globalmente os tempos entre si, indicou um crescimento significativo da área contendo contraste, exceto no momento final do grupo controle.

Isto fica muito evidente ao se inspecionar o gráfico da mediana do número de pixels. Nele, a curva do grupo A tem uma taxa de crescimento maior que a do grupo B; porém, no instante 90 min ocorre a estabilização do grupo B.

Este dado é traduzido pela variação percentual que ocorre em T_0 em relação a T_{90} , onde a média da variação do grupo A fica em 80%, enquanto a do grupo B chega a 42,8%, indicando que o grupo B não alcançou a mesma significância de resultados do grupo A, nos referidos intervalos de tempo.

Ressalta-se que o comportamento, ao longo do tempo, da substância radiopaca injetada no abdômen, particularmente em algumas amostras do grupo A, também desfavoreceu os resultados.

Apesar da demarcação do local mais adequado para a injeção do contraste, que foi conseguido no estudo piloto, não se pôde controlar a extensão do seu espalhamento no tecido.

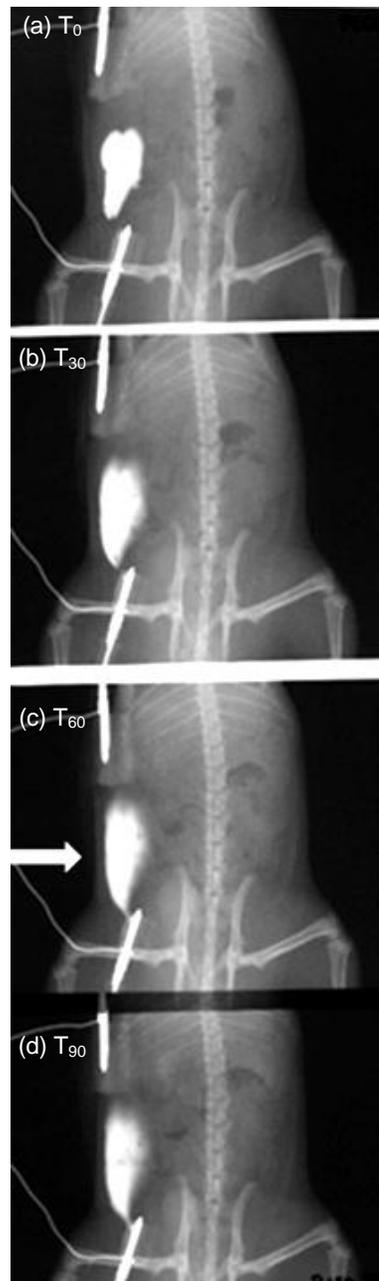


Figura 35: Evolução temporal do contraste após injeção nos tempo 0, 30, 60 e 90 min

O mesmo ocorreu de forma não programada e, em alguns casos, por estar muito próximo da lateral do abdômen do rato, sobrepôs-se, limitando a observação e demarcação dos limites de borda do edema para determinação da área, conforme ilustrado na figura 35(b), (c) e (d).

Como a técnica de avaliação através do aparelho de Raio-X não mede o volume no espaço demarcado, isto pode ter refletido nos resultados da análise de número de pixels (baseado na área).

Em relação à variável intensidade dos pixels, não houve diferenças significativas entre os dois grupos analisados. Resultado significativo ocorreu quando se compararam os intervalos de tempo dentro do mesmo grupo ($p < 0,001$). É interessante observar a forma sistemática como ocorreu o decréscimo da intensidade no gráfico de comparação entre as medianas do grupo A, ressaltando os últimos 30 min (T_{90}), onde não havia mais o estímulo da corrente elétrica.

Quando se comparou a proporção de redução da área de pixels claros em relação à área total, para verificar a reabsorção do conteúdo de contraste, não houve diferença estatisticamente significante nesta variável, entre os grupos A e B (T_0 , $p=0,32$; T_{30} , $p=0,07$; T_{60} , $p=0,39$; T_{90} , $p=0,68$).

Entretanto, ao comparar-se a reabsorção dos pixels claros dentro de cada grupo ao longo do tempo, em relação à área total do contraste, observou-se diferença estatística entre os tempos T_0 e T_{90} (Grupo A, $p < 0,0$; grupo B, $p < 0,0$).

Durante o desenvolvimento dessa pesquisa foi observada a oscilação de tensão no aparelho de eletroestimulação. De fato, o fenômeno de iontoforese, poderia alterar a impedância no tecido do rato (LOW e REED, 2001) e, assim, justificar essa intercorrência.

Porém, em testes posteriores realizados com o aparelho, monitorou-se a tensão de saída utilizando os mesmos parâmetros que na pesquisa.

Durante 1 h, com o auxílio do osciloscópio, mediram-se os picos de tensão da corrente elétrica e observaram-se variações crescentes em todas as medições que

ocorreram em intervalos de 10 min. Portanto, não foi pela alteração da impedância do tecido do rato, reabsorvendo o líquido radiopaco, que a tensão de saída oscilou.

De acordo com o quadro 9, a variação percentual da alteração de intensidade de pixels não atingiu significância estatística ($p=0,897$).

Segundo Reed (1998), Mendel, Wylwala e Fish (1992), Taylor *et al.* (1992), Taylor *et al.* (1997), Karnes *et al.* (1995), a corrente elétrica teria melhores resultados no controle da formação do edema, por meio da contração dos poros da membrana do vaso, do que na redução do mesmo, já que Taylor *et al.* (1997) sugere não existirem evidências concretas da ação da estimulação elétrica de alta tensão nos vasos linfáticos.

Se há consistência nos achados de Reed (1998) e Thornton, Mendel e Fish (1998) quanto à redução na permeabilidade da membrana vascular com a EEAT, isto pode, em algum momento, ter tornado a reabsorção do contraste utilizado nesta pesquisa mais lenta. Como não houve evento inflamatório e nem extravasamento de proteínas, a vasoconstrição provocada pela corrente elétrica, ao ser aplicada no local do contraste, pode ter retardado o processo de reabsorção do mesmo.

Ibey *et al.* (2010) sugere que a exposição ao campo elétrico gera redução da eletroporação nas células da membrana vascular, ou seja, torna a permeabilidade das células endoteliais menor.

Palanker *et al.* (2008) também afirmaram que a corrente pulsada pode gerar uma vasoconstrição temporária no tecido.

Isto vai de encontro aos achados desta pesquisa, pois durante o intervalo de tempo 60-90 min, após a cessação do estímulo da corrente elétrica, aconteceram

resultados mais expressivos na reabsorção do contraste pelo grupo A, levando-se a supor que o término do estímulo elétrico tenha propiciado uma dissipação mais efetiva.

Como pode ser percebido, comparando-se o momento final do Grupo A com o Grupo B, há significância no resultado da variável número de pixels ($p= 0,05$), indicando que, ainda assim, o estímulo elétrico traz vantagens.

Garcia, Guirro e Montebello (2007) também observaram melhora do quadro de reabsorção de linfedema com o uso da estimulação elétrica, provavelmente, segundo os autores, isto pode ter ocorrido, por um efeito bombeador no fluxo linfático.

A metodologia utilizada nesta pesquisa para provocar o edema foi diferente dos métodos empregados por outros pesquisadores consistindo em uma injeção de contraste que mimetizou um edema com volume conhecido, quando a maioria dos autores que trabalharam com o mesmo desenho de pesquisa que esta utilizaram o trauma mecânico (MENDEL, WYLGALA E FISH, 1992, TAYLOR *et al.*, 1992, MOHR, AKERS e LANDRY, 1987, BETTANY *et al.*, 1990, DOLAN *et al.*, 2003, DOLAN *et al.*, 2005) ou ainda, o uso de injeções de histamina provocando o extravasamento inflamatório (REED, 1998, TAYLOR *et al.*, 1997, KARNES *et al.*, 1995).

Este protocolo experimental para simular o edema, porém, pode ter limitado a comparação de resultados com os demais estudos e dificultado a justificativa da absorção do contraste.

Ao reproduzir o edema através da injeção de substância radiopaca, não se levou em conta as etapas ao longo da inflamação que pudessem, de alguma forma, auxiliar a corrente elétrica na sua captação de líquidos para reabsorção como, por exemplo, a presença mais acentuada da proteína albumina durante o evento inflamatório (COOK *et al.*, 1992, NELSON, HAYES e CURRIER, 2003).

Se a curva do gráfico do número de pixels continuasse a subir, hipoteticamente, após ajustes na pesquisa, poder-se-ia propor uma única sessão diária de tratamento para obter resultados benéficos na redução do edema, de acordo com o desenho experimental de Dolan *et al.* (2003), Taylor *et al.* (1992) e Walker, Currier e Threlkeld (1988). Isso porque o tempo prolongado de tratamento clínico torna-o inviável, segundo Taylor *et al.* (1992).

Entretanto, a proposta de tratamento de Stralka, Jackson e Lewis (1998) prevê o tempo de 30 min diários de aplicação da EEAT por, em média, 35 dias, com resultados positivos na redução do edema.

O aquecimento prévio (32° C) do local a ser estimulado, como fizeram Lawson e Petrofsky (2007), poderia ter resultado em efeitos de aumento no fluxo sanguíneo local (mesmo após o término do estímulo elétrico), potencializando os benefícios da estimulação elétrica e aumentando as possibilidades do edema ser reabsorvido mais rapidamente em virtude do incremento circulatório. Poderia inclusive haver, pelo aumento da circulação local, uma redução da impedância (Starkey, 2001, Lawson e Petrofsky, 2007, Petrofsky *et al.*, 2008) e, assim, melhorar o aproveitamento dos benefícios da EEAT na resolução do edema.

Entretanto, Petrofsky *et al.* (2008) e Nelson, Hayes e Currier (2003), em seus achados, ressaltaram que a própria estimulação elétrica de alta tensão tem propriedades de melhorar o fluxo sanguíneo local em feridas, porém, crônicas.

Neste caso, volta-se à questão de que nesta pesquisa não existiu um ferimento, ou seja, não houve redução de circulação local pela presença de células inflamatórias como no caso de uma ferida traumática, ou ainda, redução de oxigênio por conta da ferida crônica (Gagnier *et al.*, 1988).

A EEAT aumentaria o fluxo sanguíneo; porém, com o objetivo de reestabelecer o fluxo normal do local a partir de um decréscimo circulatório causado pelo ambiente inflamado (aguda ou cronicamente), de acordo com Balogun *et al.*, 1996.

A variável qualitativa de observação do rim quando se compararam os dois grupos entre si não mostrou diferenças significativas. Na comparação dentro do grupo A, observou-se que entre o instante T_0 e T_{90} , sete das dez amostras analisadas passaram a apresentar a imagem do cálice renal, após o tratamento. Portanto, na análise interna deste grupo obteve-se relevância nos resultados ($p < 0,008$). Supõe-se que este resultado traduza o deslocamento do contraste em seu trajeto de reabsorção para o rim na trajetória de excreção dos fluídos marcadores.

Nos casos apresentados no grupo B, quando comparados T_0 e T_{90} , cinco dos oito ratos passaram a apresentar a imagem renal gerando uma diferença estatística significativa ($p < 0,031$).

Este resultado é consistente com a análise do segundo avaliador em relação à não relevância na diferença entre o grupo A e o grupo B (T_{90} , $p < 0,173$).

Quando se comparou o grupo A entre si, T_0 para T_{90} , observou-se que em 90% dos casos, o rim passa a ser visualizado após a aplicação do estímulo elétrico ($p < 0,005$).

Já no grupo B, 50% das amostras que não eram visualizadas em relação ao rim no T_0 , passaram a ser depois de 90 min, indicando uma diferença significativa entre o início e fim de período de observação ($p < 0,012$).

Apesar de Nacif *et al.* (2004) ressaltarem a utilidade do uso do exame de Raio-X contrastado para diagnóstico renal e que, segundo Masereeuw e Russel (2010), a filtração glomerular é um eficiente mecanismo de limpeza de drogas no sangue, essa

técnica de visualização dos rins foi um achado além dos objetivos da pesquisa proposta. Isto pode ter ocorrido, segundo Garcia e Guirro (2005) pelo efeito da EEAT no incremento da captação de substâncias pelos vasos linfáticos.

De fato, Cook *et al.* (1994) mencionam o desenvolvimento de anastomoses linfáticas colaterais quando utiliza a EEAT. Garcia, Guirro e Montebello (2007), aplicando a EEAT, também obtiveram melhora em linfedema, sugerindo que a corrente elétrica atua na reabsorção linfática. Neste caso dever-se-ia ter observado diferença estatística entre os grupos A e B. Entretanto, Griffin *et al.* (1990), mesmo utilizando a EEAT com contração muscular, o que auxiliaria no bombeamento do edema de forma mecânica, não obtiveram resultados significativos.

Segundo Reed (1998), os mecanismos de redução do extravasamento de líquidos durante a formação do edema, foram conseguidos utilizando-se limiares de tensão acima de 30 V, o que sugere existir um limiar mínimo de amplitude da corrente.

A média da tensão utilizada para estimulação elétrica no grupo A foi de 18,98 V (Dp= 5,41), e a média de peso dos ratos foi de 315 g, inconsistente com a média de tensão encontrada nos trabalhos de Taylor *et al.* (1997), que aplicaram uma média de tensão de 37 V para média de peso dos ratos de 150 g.

Karnes *et al.* (1995) e Reed (1988) também obtiveram medidas maiores de tensão (28 a 29 V) comparadas ao presente trabalho. Neste caso, utilizar o termo “alta tensão” para descrever esse padrão estimulatório seria um erro; porém, os outros parâmetros testados no ensaio de calibração do aparelho (duração de pulso de até 200µs, forma de onda com picos duplos e frequência de 120 Hz) condizem com a caracterização da corrente monofásica pulsada de alta tensão (*high voltage pulsed current*) como definida por Robinson e Mackler (2007).

A diferença de valores dos parâmetros de corrente aplicados foram a duração de cada pulso que, durante um dos ensaios de calibração, foi mensurado no valor de 12,8 μ s (já pré-modulado no aparelho), sendo que o valor de pulso da EEAT, segundo os autores, varia de 5 a 8 μ s.

Entretanto, nos trabalhos com os valores entre 5 e 8 μ s (HOLCOMB, RUBLEY E GIROUARD, 2008, MENDEL, WYLGALA e FISH, 1992, TAYLOR *et al.*, 1992, MOHR, AKERS e LANDRY, 1987, BETTANY *et al.*, 1990, DOLAN *et al.*, 2003, DOLAN *et al.*, 2005, REED, 1998, TAYLOR *et al.*, 1997, KARNES *et al.*, 1995, COOK *et al.*, 1992, NELSON, HAYES e CURRIER, 2003), foi utilizado um aparelho americano (fabricante Chataanooga Group) que difere dos parâmetros pré-estabelecidos do fabricante nacional do aparelho que foi utilizado nesta pesquisa (Ibramed Ltda).

Nos trabalhos de Rodrigues-Bigaton *et al.* (2009) e Santos, Nascimento e Andrade (2009), que utilizaram o aparelho do mesmo fabricante que no presente trabalho, os valores de tempo de pulso foram, em média, 20 μ s, já pré-estabelecidos pelo fabricante.

Além disso, segundo Walker, Currier e Threlkeld (1998), o uso de diferentes tensões não provoca alteração significativa no fluxo sanguíneo local e, portanto, no edema. Ainda assim, os autores ressaltam que o curto período de duração do pulso atribuído à corrente elétrica de alta tensão (75 μ s) precisa contar com elevadas tensões para produzir alterações na circulação periférica dos animais.

Mendel, Wylwgala e Fish (1992) também apontam que os resultados de suas pesquisas seriam melhores se o pico de estímulo da corrente não fosse tão breve podendo não ter sido suficiente para estimular a mobilização de proteínas e fluído; nesta pesquisa; de solução radiopaca.

A metodologia para coleta dos dados da pesquisa foi realizada por meio de radiografia contrastada, não obedecendo aos métodos convencionais de avaliação de edema como a volumetria ou deslocador de água (BETTANY *et al.*, 1990, FISH, MENDEL e SCHULTZ, 1991, MENDEL, WYLGALA e FISH, 1992, GEBRUERS *et al.*, 2007, BRIJKER *et al.*, 2000, DOLAN *et al.*, 2005, OLIVEIRA *et al.*, 2006) ou outros (TEWARI *et al.*, 2008).

Quanto ao uso da polaridade ativa no local do edema, autores como Kloth (1988), Feedar (1988) e Houghton *et al.* (2010) obtiveram resultados positivos quando alternaram os pólos positivo e negativo no eletrodo ativo, em seus experimentos.

Seguindo o estudo de Brown e Gogia (1987) que usaram a polaridade negativa como pólo ativo, justificaram este fato pela apresentação de sinal negativo do leito da lesão (“potencial de pele”), nos primeiros 3 a 4 dias; portanto, responsiva ao uso do cátodo.

Walker, Currier e Threlkeld (1988) pesquisaram o uso da estimulação catódica no incremento do fluxo sanguíneo muscular e não obtiveram efeitos benéficos.

Dolan *et al.* (2005) utilizaram o cátodo como pólo ativo e obtiveram 50% de redução do edema em relação ao grupo controle. Sugeriram que o mecanismo pelo qual ocorre essa redução é a alteração da permeabilidade da membrana dos microvasos.

Mendel e Fish (1993), Dolan *et al.* (2003), Dolan *et al.* (2005), Dolan *et al.* (2009), Taylor *et al.* (1992), Taylor *et al.* (1997), Man, Morrissey e Cywinski (2007), Butterfield *et al.* (1997), Bettany *et al.* (1990) Bettany, Fish e Mendel (1990) Thornton, Mendel e Fish (1998) e Franek, Polak e Kucharzewski (2000) afirmaram existir

diferença na utilização do cátodo como pólo ativo e, que o efeito de carreamento de íons através da corrente influencia nos resultados.

Fish, Mendel e Schultz (1991) ressaltam os efeitos polares da EEAT pois os resultados com o uso do ânodo como pólo ativo foram categóricos e negativos na redução do edema. Entretanto, apesar de observarem que o efeito sob o pólo da corrente existiu, segundo os pesquisadores, isto seria tão pequeno que seria difícil monitorizá-los, em virtude do ciclo da corrente ser tão reduzido.

Outro fato que se pode considerar, segundo Thornton, Mendel e Fish (1998) foi a resposta tão diferenciada que os ratos de espécies distintas apresentaram na presença da EEAT. As espécies *Brown Norway* e *Zucker-Lean* responderam ao tratamento, porém, esta última, somente após o segundo ciclo de estimulação (30 min de EEAT, 30 min de repouso). Já nos ratos da espécie *Sprague-Dawley*, muito parecidos com os ratos da espécie *Wistar*, estudados nesta pesquisa, não responderam bem ao tratamento de redução do edema. Thornton, Mendel e Fish (1998) sugerem que este rato provavelmente tenha um mecanismo fisiológico diferente dos demais e que podem haver diferenças morfológicas e bioquímicas na resposta das células endoteliais das diferentes espécies de ratos usados nos experimentos em geral.

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho, a hipótese de que haveria diferença de reabsorção do edema entre o grupo A e o grupo B sob efeito da estimulação elétrica foi rejeitada nos intervalos T_0 , T_{30} e T_{60} . Há bons indicativos de que a EEAT exerce influência positiva na melhora do edema, entretanto não resultou em significância estatística.

Observou-se que a quantidade de contraste utilizada (0,9 ml) foi excessiva para o propósito deste estudo. Esta quantidade de substância não foi completamente reabsorvida pelos tecidos do rato durante o tempo proposto no experimento, o que limitou as conclusões.

A metodologia de utilização do Raio-X constituiu uma ferramenta eficaz na observação e análise do comportamento do contraste que simulou um edema. Observou-se a quantidade de contraste reabsorvido em cada um dos tempos dos dois grupos, teste e controle, e na comparação dos tempos T_0 , T_{30} e T_{60} entre os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa na redução do edema.

Entretanto, quando comparados os dois grupos em T_{90} , a diferença entre eles foi significativa.

Concluiu-se que no período de 90 min de tratamento com a estimulação elétrica de alta tensão, houve tendência à redução do edema simulado no abdômen dos ratos do grupo teste quando comparado ao grupo controle; porém, somente nos últimos 30 min de observação.

Na literatura não existe um consenso sobre os melhores parâmetros da estimulação elétrica para aplicação em edema agudo; porém, os parâmetros utilizados

nesta pesquisa foram efetivos para promover a redução do edema nos 30 min finais do tratamento.

Observou-se nesta pesquisa que ao menos a EEAT não retardou o processo de reabsorção no edema, comaparado ao grupo que não recebeu estimulação.

Os resultados inéditos deste estudo podem ter ocorrido pela diferente metodologia aplicada em relação aos demais trabalhos.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Futuras pesquisas devem ser realizadas com objetivo de verificar o mecanismo de atuação da EEAT.

Os comportamentos tão diferentes das células em relação à EEAT devem ser melhor estudados, com base em uma observação bioquímica e morfológica de células que respondam positiva ou negativamente ao estímulo elétrico.

Como no presente estudo a hipótese seria de reabsorção mais rápida do contraste no grupo sob efeito da estimulação elétrica, e a estimulação de alta tensão prevê a constrição vascular, como citado, poderia ser o caso de, futuramente, incrementar o fluxo sanguíneo local por meio do aumento e monitoração da temperatura ambiente, em favor da dissipação mais rápida.

Assim, para trabalhos futuros, sugere-se:

- (1) redução da quantidade de contraste no abdômen do rato, ou a escolha de uma amostra com maior superfície para estudo, possibilitando o acompanhamento da reabsorção total do edema;
- (2) número maior de amostras para efeitos de: (a) visualização do rim e (b) significância estatística, já que o efeito da EEAT no sistema linfático e consequente excreção já está documentado em outros estudos;
- (3) monitoramento do tempo de estimulação elétrica para a obtenção de dados como a densidade da corrente e impedância oferecida pelo tecido ao longo do tempo, o que poderia justificar as diferenças no resultado das amostras;

- (4) Estudos com a utilização da estimulação anódica *versus* catódica, em comparação entre três grupos, teste 1, teste 2 e controle, para obtenção de informações mais precisas sobre a corrente elétrica e avaliação dos efeitos específicos de cada grupo;
- (5) Um número maior de aplicações da estimulação elétrica intercalada com períodos de repouso, para verificar se, ao longo desses períodos, resultados significativos ocorrerão na comparação dos grupos, em virtude da aplicação sequencial da corrente elétrica.

Apesar da redução do edema com a aplicação da EEAT não ter atingido significância estatística nos primeiros intervalos de mensuração, os resultados alcançados justificam a continuidade de trabalhos com este mesmo conceito.

8. REFERÊNCIAS

1. AL MALTY, A. PETROFSKY, J. The effect of electrical stimulation on a normal skin blood flow in active young and older adults. **Medical Science Monitor**, vol. 13, pp. 147-155, 2007.
2. ALON, G. High voltage stimulation. Effects of electrode size on basic excitatory responses. **Physical Therapy**, vol. 65 n. 6, pp. 890-895, 1985.
3. ALON, G. KANTOR, G. HO, H.S. Effects of electrode size on basic excitatory responses and selected stimulus parameters. **Journal of Orthopedic Sports Physical Therapy**, vol. 20, pp. 29-35, 1994.
4. BAKER, L.L. CHAMBERS, R. D. S. K. VILLAR, F. Effects of electrical stimulation on wound healing in patients with diabetic ulcers. **American Diabetes Association**, vol. 20, pp. 405-412, 1997.
5. BALDASSARRE, D. AMATO, M. PALOMBO, C. MORIZZO, C. PUSTINA, L. SIRTORI, C. R. Time course of forearm arterial compliance changes during reactive hyperemia. **American Journal of Physiology - Heart and Circulation Physiology**, vol. 281, pp. 1093-1103, 2001.
6. BALOGUN, J. A. TANG, S. HE, Y. HSIEH, J. M. KATZ, J. S. Effects of high-voltage galvanic stimulation of ST36 and ST37 acupuncture points on peripheral blood flow and skin temperature. **Disability and Rehabilitation**, vol. 18, pp. 523-528, 1996.
7. BARTON, N. J. STEVENS, D. A. HUGHES, J. P. ROSSE, A. G. CHESSELL, I. P. REEVE, A. J. McQUEEN, D. S. Demonstration of a novel technique to quantitatively assess inflammatory mediators and cells in rat knee joints. **Journal of Inflammation**, vol. 4, n. 13, pp. 1-8, 2007.

8. BASSET, C.A.L. Beneficial effects of electromagnetic fields. **Journal of Cellular Biochemistry**, vol. 51, pp. 387-393, 1993.
9. BENNIE, S. D. PETROFSKY, J. NISPEROS, J. Toward the optimal waveform for electrical stimulation of human muscle. **Journal of Applied Physiology**, vol. 88, pp. 13-19, 2002.
10. BERNE, R. M. LEVY, M. N. KOEPPEN, B. M. STANTON B. A. **Fisiologia**. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 2004. 436-438p.
11. BETTANY, J. A. FISH, D. R. MENDEL, F. C. Influence of high voltage pulsed direct current on edema formation following impact injury. **Physical Therapy**, vol. 70, pp. 219-224, 1990.
12. BETTANY, J. A. FISH, D. R. MENDEL, F. C. High voltage pulsed direct current: effect on edema formation after hyperflexion injury. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**., vol. 70, pp. 219-224, 1990.
13. BIRCHARD, S. J. SHERDING, R. G. **Manual saunders: clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1998. 139-142p.
14. BOLFE, V. J. RIBAS, S. I. MONTEBELO, M. I. L. GUIRRO, R. R. J. Comportamento da impedância elétrica dos tecidos biológicos durante estimulação elétrica transcutânea. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, vol. 11, pp. 153-159, 2007.
15. BONTRAGER, K. **Tratado de técnica radiológica e base anatômica**. 5ª Ed. Porto Alegre: Guanabara-Koogan, 2003.

16. BOLFE, V. GUIRRO, R. Resistência elétrica dos gases e líquidos utilizados em eletroterapia no acoplamento eletrodo-pele. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, vol. 13, pp. 499-505, 2009.
17. BOURGUIGNON, G. J. BOURGUIGNON, L. Y. Electric stimulation of protein and DNA synthesis in human fibroblasts. **FASEB Journal**, vol. 1, pp. 398-402, 1987.
18. BOTELHO, A. P. FACIO, F.A. MINAMOTO, V. B. Modelo de lesão no músculo tibial anterior de rato induzida pela estimulação elétrica neuromuscular. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, vol. 9, pp. 313-318, 2005.
19. BRAIN, S.D. THOMAS, G. CROSSMAN, D.C. FULLER, R. CHURCH, M.K. Endothelin-1 induces a histamine-dependent flare in vivo, but does not activate human skin mast cells in vitro. **British Journal of clinical Pharmacology**, vol. 33, pp. 117-120, 1992.
20. BRIJKER, F. HEIJDRRA, Y. F. VAN DEN ELSHOUT, F. J. J. BOSCH, F. H. FOLGERING, H. Th. M. Volumetric measurements of peripheral oedema in clinical conditions. **Clinical Physiology** vol. 20, pp. 56-61, 2000.
21. BROWN, M. GOGIA, P. Effects of high voltage stimulation on cutaneous wound healing in rabbits. **Physical Therapy**, vol. 67, pp. 662-667, 1987.
22. BROWN, M. GOGIA, P. SINACORE, D. MENTON, D. High-voltage galvanic stimulation on wound healing in guinea pigs: longer-term effects. **Physical Medicine and Rehabilitation**, vol. 76, pp. 1134-1137, 1995.
23. BROUGHTON, G. ROHRICH, R. J. Wounds and scars. **Selected Readings in Plastic Surgery**, vol. 10, pp. 1-54, 2005.

24. BUTTERFIELD, D.L. DRAPER, D.O. RICARD, M.D. MYRER W. Durrant E. Schulthies SS. The effects of high-volt pulsed current electrical stimulation on delayed-onset muscle soreness. **Athletic Training**, vol. 32, pp. 15-20, 1997.
25. CALVANO, S. E. XIAO, W. RICHARDS, D. R. FELCIANO, R. M. BAKER, H. V. CHO, R. J. CHEN, R. BROWNSTEIN, B. COBB, J. TSCHOEKE, K. MILLER-GRAZIANO, C. MOLDAWER, L. MINDRINOS, M. DAVIS, R. TOMPKINS, R. LOWRY, S. **Nature Publishing Group**, vol. 437, pp. 1032-1037, 2005.
26. CASLEY-SMITH, J. R. BORIS, M. WEINDORF, S. LASINSKI, B. Treatment for lymphedema of the arm - the casley-smith method. **Cancer Supplement**, vol. 83, pp. 2843-2860, 1998.
27. CHO, M. R. THATTE, H. S. LEE, R. GOLAN, D. Integrin-dependent human macrophage migration induced by oscillatory electrical stimulation. **Annals of Biomedical Engineering**, vol. 28, pp. 234-243, 2000.
28. CINGOLANI, H. E. HOUSSAY, A. B. & cols. **Fisiologia humana de Houssay**. 7^a Ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 388 p; 397 p.
29. COOK, H. MORALES, M. ROSA, E. M. DEAN, J. DONNELLY, M. K. McHUGH, P. OTRADOVEC, A. WRIGHT, K. S. KULA, T. TEPPER, S. H. Effects of electrical stimulation on lymphatic flow and limb volume in the rat. **Physical Therapy**, vol. 74, pp. 1040/49-1046-55, 1994.
30. COSGROVE, K. ALON, G. BELL, S.F. FISCHER, S. R. FOWLER, N. R. JONES, T. L. MYAING, J. C. CROUSE, T. M. SEAMAN, L. J. The electrical effect of two commonly used clinical stimulators on traumatic edema in rats. **Physical Therapy**, vol. 72, pp. 70/227- 76/233, 1992.

31. CUKJATI, D. SIKONJA, M. ROBNIK. REBERSEK, S. KONONENKO, I. MIKLAVCIC, D. Prognostic factors in the prediction of chronic wound healing by electrical stimulation. **Medical & Biological Engineering & Computing**, vol. 39, pp. 542-550, 2001.
32. DAMSTRA, R. BROUWER, E. R. PARTSCH, H. Controlled, comparative study of relation between volume changes and interface pressure under short-stretch bandages in leg lymphedema patients. **Dermatology Surgery**, vol. 34, pp. 773-779, 2008.
33. DEMIR, H. BALAY, H. KIRNAP, M. A comparative study of the effects of electrical stimulation and laser treatment on experimental wound healing in rats. **Journal of Rehabilitation Research & Development**, vol. 41, n. 2, pp. 147-154, 2004.
34. DESPOPOULOS, A. SILBERNAGL, S. **Color atlas of physiology**. 5^a Ed. New York: Thieme, 2003. 96p, 208 p, 302 p.
35. DePALMA, J. A. Wound healing and nutrition. **Home Health Care Management & Practice**, vol. 20, pp. 493-494, 2008.
36. DOLAN, M.G. GRAVES, P. NAKAZAWA, C. DELANO, T. H. A. MENDEL, F.C. Effects of ibuprofen and high-voltage electric stimulation on acute edema formation after blunt trauma to limbs of rats; **Athletic Training**, vol. 40, pp. 111-115, 2005.
37. DOLAN, M.G. MENDEL, F. C. FISH, D. R. MARZO, J. M. WILDING, G. R. Effects of high-voltage pulsed current on recovery following grade I and II lateral ankle sprains. **Journal of Athletic Training – oral presentations**, vol. 44, supplement 3, 2009.
38. DOLAN, M.G. MYCHASKIW, A.M. MATTACOLA, C.G. MENDEL, F.C. Effects of cool-water immersion and high-voltage electric stimulation for 3 continuous hours on acute edema in rats. **Athletic Training**, vol. 38, pp. 325-329, 2003.

39. DOOLEY, D. M. KASPRAK, M. R. Modification of blood flow to the extremities by electrical stimulation of the nervous system (abstract); **Southern Medical Journal**, vol. 69, pp. 1309-1311, 1976.
40. DRUMMOND, PETER D. Inflammatory consequences of cutaneous stimulation. **Experimental Neurology**, vol. 222, pp. 181-183, 2010.
41. EBERLE, T. DOGANCI, B. KRAMER, H. FECHIR, M. WAGNER, I. SOMMER, C. BIRKLEIN, F. Mechanical but not painful electrical stimuli trigger TNF alpha release in human skin. **Experimental Neurology**., vol. 221, pp. 246-250, 2010.
42. EISUKE, O. NAOKATA, I. KOICHI, N. Effects of acute eccentric contractions on rat ankle joint stiffness. **Journal of Sports Science and Medicine**, vol. 6, pp. 543-548, 2007.
43. FINKELSTEIN, S. M. COLLINS, V. R. COHN, J.N. Arterial vascular compliance response to vasodilators by Fourier and Pulse Contour analysis. **Hypertension**, vol. 12, pp. 380-387, 1988.
44. FISH, D.R. MENDEL, F.C. SCHULTZ, A.M. M Linda. Effect of anodal high voltage pulsed current on edema formation in frog hind limbs. **Physical Therapy**, vol. 71, pp. 724-733, 1991.
45. FORRESTER, B. J. PETROFSKY, J. S. Effect of electrode size, shape, and placement during electrical stimulation. **The Journal of Applied Research**, vol. 4, n. 2, pp. 346-354, 2004.
46. FOX, S. I. **Human physiology**. 6a Ed. Boston: McGraw-Hill, 1999. 428p, 456-457p.

47. FRANEK, A. POLAK, A. KUCHARZEWSKI, M. Modern application of high voltage stimulation for enhanced healing of venous crural ulceration. **Medical Engineering Physics**, vol. 22, pp. 647-655, 2000.
48. GABRIEL, M. R. S.; PETIT, J. D.; CARRIL, M.L. de S. **Fisioterapia em traumatologia, ortopedia e reumatologia**. Rio de Janeiro: Revinter, 2001.
49. GAGNIER, K. A. MANIX, N. L. BAKER, L.L. RUBAYL, S. The effects of electrical stimulation on cutaneous supply in paraplegics. Abstract and podium presentation. Annual Conference, APTA. **Physical Therapy**: vol. 68, pp. 832-835, 1988.
50. GAMGEMI, E. N. CARNINO, R. STELLA, M. Videocapillaroscopy in postburn scars: in vivo analysis of the microcirculation. **Journal of the Internacional Society for Burn Injuries – BURNS**, vol. 3242, pp. 1-7, 2010.
51. GARCIA, L. B. GUIRRO, E. C. O. Efeitos da estimulação de alta voltagem no linfedema pós-mastectomia. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, vol. 9, pp. 243-248, 2005.
52. GARCIA, L. B. GUIRRO, E. C. O. MONTEBELLO, M. I. L. Efeitos da estimulação elétrica de alta voltagem no linfedema pós-mastectomia bilateral: estudo de caso. **Fisioterapia e Pesquisa**, vol. 14, pp. 67-71, 2007.
53. GARDILL, K. High voltage stimulation – practical application and clinical examples. **Neurological Laboratory**, vol. 27, n. 2, pp. 61-88, 2005.
54. GARDNER, S. R. FRANTZ, R. A. SCHMIDT, F. L. Effect of electrical stimulation on chronic wound healing: a meta-analysis. **Wound Repair Regeneration**, vol. 7, pp. 495-503, 1999.

55. GEBRUERS, N. TRUIJEN, S. ENGELBORGHS, S. DEYN, P. P. De. Volumetric evaluation of upper extremities in 250 healthy persons. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, vol. 27, pp. 17-22, 2007.
56. GENTZKOW, G. D. Electrical stimulation for dermal wound healing. **Physical Therapy**, vol. 4, pp. 227-235, 1992.
57. GRIFFIN, J. W. NEWSOME, L. S. STRALKA, S. W. WRIGHT, P. E. Reduction of chronic posttraumatic hand edema: a comparison of high voltage pulsed current, intermittent pneumatic compression and placebo treatments. **Physical Therapy**, vol. 70, pp. 17-279/24-286, 1990.
58. GOLDMAN, J. CONLEY, K. RAEHL, A. BONDY, D. PYTOWSKI, B. SWARTZ, M. RUTKOWSKI, J. JAROCK, D. ONGSTAD, E. Regulation of lymphatic capillary regeneration by interstitial flow in skin. **American Journal of Physiology - Heart Circulatory Physiology**, vol. 292, pp. 2176-2183, 2007.
59. GOSAIN A. DIPIETRO, L. A. Agind and wound healing. **World Journal of Surgery**, vol. 28, pp. 321-326, 2004.
60. GOTTRUP, F. Evidence is a challenge in wound management. **The International Journal of Lower Extremity Wounds**, vol. 5, n. 2, pp. 74-75, 2006.
61. GUO, S. DIPIETRO, L. A. Factors affecting wound healing. **Journal of Dental Research**, vol. 89, n. 3, pp. 219-229, 2010.
62. GUYTON, A. C. HALL, J. E. **Textbook of medical physiology**. 11^a Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders Inc., 2006. 182-184 p, 189-190 p, 233p, 239 p.
63. HAHM, T. S. **Journal of Korean Medical Science**, vol. 22, pp. 347-351, 2007.

64. HOLCOMB, W. RUBLEY M D. GIROUARD, T J. Effect of the simultaneous application of NMES and HVPC on knee extension torque. **Journal of Sport Rehabilitation**, vol. 16, pp. 307-318, 2007.
65. HOUGHTON, P. CAMPBELL, K. E. FRASER, C. H. HARRIS, C. KEAST, D. POTTER, P. HAYES, K. Electrical stimulation therapy increases rate of healing of pressure ulcers in community-dwelling people with spinal cord injury. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, vol. 91, pp. 669-678, 2010.
66. HOUGHTON, P. E. KINCAID, C. B. LOVELL, M. CAMPBELL, K. E. KEAST, D. H. WOODBURY, M G. HARRIS, K. A. Effect of electrical stimulation on chronic leg ulcer size and appearance. **Physical Therapy**, vol. 83, pp. 17-28, 2003.
67. IBEY, B. MIXON D. G. PAYNE J. A. BOWMAN, A. SICKENDICK, K. WILMINK, G. ROACH, P. PAKHOMOV, A. Plasma membrane permeabilization by trains of ultrashort electric pulses. **Bioelectrochemistry**, vol. 79, pp. 114-121, 2010.
68. IM, M. J. LEE, W. P. A. HOOPES, J. E. Effect of electrical stimulation on survival of skin flaps in pigs. **Physical Therapy**, vol. 70, pp. 37/51-40/54, 1990.
69. ITO, M. LIU, Y. YANG, Z. NGUYEN, J. LIANG, F. MORRIS, R. J. COTSARELIS, G. Stem cells in the hair follicle bulge contribute to wound repair but not to homeostasis of the epidermis. **Nature Medicine**, vol. 11, pp. 1351-1354, 2005.
70. JENNINGS, J. CHEN, D. FELDMAN, D. Transcriptional response of dermal fibroblasts in direct current electric fields. **Bioelectromagnetics**, vol. 29, pp. 394-405, 2008.
71. KARNES, J. A. MENDEL, F. C. FISH, D. R. Effects of low voltage pulsed current on edema formation in frog hind limbs following impact injury. **Physical Therapy**, vol. 72, pp. 273-33/ 278-38, 1992.

72. KARNES, J. MENDEL, F. FISH, D. BURTON, H. High-voltage pulsed current: its influence on diameters of histamine-dilated arterioles in hamster cheek pouches. **Archive of Physical Medicine and Rehabilitation**, vol. 76, pp. 381-386, 1995.
73. KITCHEN, S. BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton**. 10^a Ed. São Paulo: Manole, 1996. 31p, 111p.
74. KLOTH, L. C. FEEDAR, J. A. Acceleration of wound healing with high voltage, monophasic, pulsed current. **Physical Therapy**, vol. 68, pp. 503-508, 1988.
75. KLOTH, L. C. PT, MS, CWS, FAPTA. Electrical stimulation for wound healing: a review of evidence from in vitro studies, animal experiments, and clinical trials. **Lower Extremity Wounds**, vol. 4, pp. 23-44, 2005.
76. KOWALSKI, M. L. KALINER, M. A. Neurogenic inflammation, vascular permeability, and mast cells. **The Journal of Immunology**, vol. 140, pp. 3905-3911, 1988.
77. KRIETE, A. MAYO, K. L. Atypical pathways of NF- κ B activation and aging. **Experimental Gerontology**, vol. 44, pp. 250-255, 2009.
78. KUYKENDALL, C. HUTCHINSON, T. L. BLOEDAUM, A. P. Effects of high voltage pulsed current on bacterial viability: an in vitro study. **The Wound Healing Society**, 2004.
79. LAMB, J.F. INGRAM, C.G. JOHNSTON, I.A. PITMAN, R.M. **Fundamentos de fisiologia**. Zaragoza: Acribia, 1988. 125p, 127-129p.
80. LAMPE, K. E. Electrotherapy in tissue repair. **Journal of Hand Therapy**, vol 11, n. 2, pp. 131-139, 1998.

81. LAWSON , D. PETROFSKY, J. S. A randomized control study on the effect of biphasic electrical stimulation in a warm room on skin blood flow and healing rates in chronic wounds of patients with and without diabetes. **Medical Science Monitor**, vol. 13, pp. 258-263, 2007.
82. LEFFMANN, D. J. ARNALL, D. A. HOLMGREN P. R. CORNWALL, M. W. Effect of microamperage stimulation on the rate of wound healing in rats: a histological study. **Physical Therapy**, vol. 74, pp. 195-200, 1994.
83. LEVINE, S. P. KETT, R. L. CEDERNA, P. S. BOWERS, L. D. Electrical muscle stimulation for pressure variation at the seating interface. **Jounal of Rehabilitation Research**, vol. 26, pp. 1-8, 1989.
84. LITTLE, R. C. GINSBURG, J. M. The Physiologic basis for clinical edema. **Archives of Internal Medicine**, vol. 144, pp. 1661-1664, 1984.
85. LOW, J. REED, A. **Eletroterapia explicada: princípios e prática**. 3ª Ed. São Paulo: Manole, 2001. 15p, 25-26p, 67p, 76p, 82p, 109-110p.
86. MAJNO, G. SHEA, S. M. LEVENTHAL, M. Endothelial contraction induced by histamine-type mediators: an electron microscopic study. **The Journal of Cell Biology**, vol. 42, pp. 647-672, 1969.
87. MAN, I. O. MORRISSEY, M. CYWINSKI, J. K. Effect of neuromuscular electrical stimulation on ankle swelling in the early period after ankle sprain. **Physical Therapy**, vol. 87, pp. 53-64, 2007.
88. MATHEUS, J. P. C. MILANI, J. G. P. O. GOMIDE, L. B. VOLPON, J. B. SHIMANO, A. C. Análise biomecânica dos efeitos da crioterapia no tratamento da lesão muscular aguda. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 14, pp. 372-375, 2008.

89. MASEREEUW, R. RUSSEL, F. G. M. Therapeutic implications of renal anionic drug transporters. **Pharmacology & Therapeutics**, vol. 126, pp. 200-216, 2010.
90. McCAIG, C. D. ZHAO, M. Physiological electrical fields modify cell behaviour. **BioEssays**, vol. 19, pp.819-828, 1997.
91. McCAIG, C. D. RAJNICEK A. M. SONG, B. *et al.* Controlling cell behavior electrically: current views and future potential. **Physiological Reviews.**, vol. 85, pp. 943-978, 2005.
92. McGEE, M. R. MORRIS, K. A. JASPER, J. J. BOGIE, K. M. Evaluation of electrical stimulation for ischemic wound therapy: a feasibility study using the lapine wound model. **Archives for Dermatological Research.**, vol. 301, pp. 323-327, 2009.
93. McGEOWN, J. G. McHALE, N. G. THORNBURY, K. D. The effect of electrical stimulation of the sympathetic chain on peripheral lymph flow in the anaesthetized sheep. **Journal of Physiology**, vol. 393, pp. 123-133, 1987.
94. MELLO DE PAULA, G. MOLINERO DE PAULA, V. R. DIAS, R. O. MATTEI, K. Estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) no pós-operatório de cesariana. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, vol. 10, pp. 219-224, 2006.
95. MENDEL, F.C. FISH, D.R. New perspectives in edema control via electrical stimulation. **Athletic Training**, vol. 28, pp. 63-74, 1993.
96. MENDEL, F. C. WYLGALA, J. A. FISH, D. R. Influence of high voltage pulsed current on edema formation following impact injury in rats. **Physical Therapy**, vol. 72, pp. 668/55-673/60, 1992.

97. MENDONÇA, F. PASSARINI, JR. ESQUISATTO, A. MENDONÇA, J. FRANCHINI, C. SANTOS, G. Efeitos da aplicação de Aloe vera e microcorrente no reparo de lesões cirúrgicas induzidas em ratos Wistar. **Acta Cirúrgica Brasileira**, vol. 24, n. 2, pp. 150-155, 2009.
98. MERRIMAN, H. L. HEGYI, C. A. ALBRIGHT-OVERTON, C. R. CARLOS JR, J. PUTNAM, R. W. MULCARE, J. A. A comparison of four electrical stimulation types on staphylococcus aureus growth in vitro. **Journal of Rehabilitation Research & Development**, vol. 41, pp. 139-146, 2004.
99. MERZ, K. M. PFAU, M. BLUMENSTOCK, G. TENENHAUS, M. SCHALLER, H. E. RENNEKAMPFF, H. O. Cutaneous microcirculatory assessment of the burn wound is associated with depth of injury and predicts healing time. **Burns**, vol. 36, pp. 477-482, 2010.
100. MILLER, F. N. SIMS, D. E. Contractile elements in the regulation of macromolecular permeability. **Federation Proceedings**, vol. 45, pp. 84-88, 1986.
101. MOHR, T. AKERS, T. K. LANDRY, R. G. Effect of high voltage stimulation on edema reduction in the rat hind limb. **Physical Therapy**, vol. 67, pp. 1703-1707, 1987.
102. MORALES, R. C. **Proposta de ensaios e avaliação de estimuladores elétricos neuromusculares**. Curitiba: CEFET/PR. 2003. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial, Faculdade de Engenharia Elétrica - Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná, Curitiba, 2003.
103. MOSSER, D. M. EDWARDS, J. P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. **Nat. Rev Immunology**, vol. 8, n. 12, pp. 958-969, 2008.

104. MÜLLER, M. DISCH, A C. ZABEL, N. HASS, N P. SCHASER, K D. Initial intramuscular perfusion pressure predicts early skeletal muscle function following isolated tibial fractures. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, vol. 3, n. 14, pp. 1-8, 2008.
105. NACIF, M. S. JAUREGUI, G. F. NETO, A. M. BOECHAT, A. P. MELLO, R. A. F. TOSTES, R. B. CRUZ, F. C. SANTOS, A. A. S. M. D. Análise retrospectiva das urografias excretoras em um serviço de radiologia de um Hospital Geral. **Radiologia Brasileira**, vol. 37, pp. 431-435, 2004.
106. NANNMARK, Ulf. BUCH, F., ALBREKTSSON, T. Vascular reactions during electrical stimulation: vital microscopy of the hamster cheek pouch and rabbit tibia. **Acta Orthopaedica**, vol. 56, pp. 52-56, 1985.
107. NATALE, V. M. BRENNER, I. K. MOLDOVEANU, A. I. VASILIOU, P. SHEK, P. SHEPHARD, R. J. Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. São Paulo, **Medical Journal**, vol. 121, pp. 9-14, 2003.
108. NELSON, R. M. HAYES, K. W. CURRIER, D. P. **Eletroterapia clínica**. 3ª Ed. São Paulo: Manole, 2003. 241-246p, 254-255p, 266-276p.
109. NEWTON, R. A. KARSELIS, T. C. Skin pH following high voltage pulsed galvanic stimulation. **Physical Therapy**, vol. 63, pp. 1593-1596, 1983.
110. NUCCITELLI, R. A role for endogenous electric fields in wound healing. **Current Topics of Developmental Biology**., vol. 58, pp. 1-26, 2003.
111. OLIVEIRA, A. B. C. LARA, C. P. O. LINS, S. S. CUNHA-FILHO, I. T. Comparação entre as medidas inferenciais de edema de membros inferiores utilizando o leg-o-

- meter e o deslocador de água. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, vol. 10, pp. 43-49, 2006.
112. OLIVEIRA, N. M. L., GAVA, A. D. SALVINI, T. F. O efeito da crioterapia e compressão intermitente no músculo lesado de ratos: uma análise morfométrica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, vol. 11, pp. 403-409, 2007.
113. OJINGWA, J. C. ISSEROFF, R. Electrical stimulation of wound healing. **Dermatology Foundation**, vol. 36, pp. 1-12, 2002.
114. PALANKER, D. VANKOV, A. FREYVERT, Y. HUIE, P. Pulsed electrical stimulation for control of vasculature: temporary vasoconstriction and permanent thrombosis. **Bioelectromagnetics**, vol. 29, pp. 100-107, 2008.
115. PETROFSKY, J. Electrical stimulation: neurophysiological basis and application. **Basic and Applied Myology**, vol. 14, pp 205-213, 2004.
116. PETROFSKY, J. SCHWAB, E. L.O, T. CÚNEO, M. GEORGE, J. K, J. AIMALTY, A. L., D. JOHNSON, E. REMIGO, W. Current distribtuin under electrodes in relation to stimulation current and skin blood flow: are modern electrodes really providing the current distribution during stimulation we believe they are? **Journal of Medical Engineering & Technology**, vol. 30, pp. 368-381, 2006.
117. PETROFSKY, J. SCHWAB, E. L.O, T. CÚNEO, M. LAWSON, D. Effects of electrical stimulation on skin blood flow in controls and in around stage III and IV wounds in hairy and non hairy skin. **Medical Science Monitoring**, vol. 11, pp. 309-316, 2006.
118. PETROFSKY, J. SCHWAB, E. L.O, T. CÚNEO, M. LAWSON, D. The termal effect on the blood flow response to electrical stimulation. **Medical Science Monitoring**, vol. 13, pp. 498-504, 2007.

119. PETROFSKY, J. LAWSON, D. PROWSE, M. SUH, H. J. Effects of a 2-, 3- and 4-electrode stimulator design on current dispersion on the surface and into the limb during electrical stimulation in controls and patients with wounds. **Journal of Medical Engineering & Technology**, vol. 32, pp. 485-497, 2008.
120. PIRES, E. **Fisioterapia na cicatrização e recuperação funcional de portadores de úlcera de hipertensão venosa crônica: uso da estimulação elétrica com corrente de alta voltagem**. 2005, 88f. Dissertação de Mestrado em Ciências – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.
121. PROSKE, U. MORGAN, D. L. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. **Journal of Physiology**, vol. 537, pp. 333-3345, 2001.
122. RADEK, K. A. BAER, L. A. ECKHARDT, J. DiPIETRO, L. A. WADE, C. E. Mechanical unloading impairs keratinocyte migration and angiogenesis during cutaneous wound healing. **Journal of Applied Physiology**, vol. 104, pp. 1295-1303, 2008.
123. REED, B. V. Effect of high voltage pulsed electrical stimulation on microvascular permeability to plasma proteins: a possible mechanism in minimizing edema. **Physical Therapy**, vol. 68, pp. 491-495, 1988.
124. REGER, S. I. HYODO, A. NEGAMI, S. KAMBIC, H. E. SAHGAL, V.. Experimental wound healing with electrical stimulation. **Artificial Organs**, vol. 23, pp. 460-462, 1999.
125. REICH, J. D. TARJAN, P P. Electrical stimulation of skin. **International Journal of Dermatology**, vol. 29, pp. 395-400, 2007.

126. REID, B. NUCCITELLI, R. ZHAO, M. Non-invasive measurement of bioelectric currents with a vibrating probe. **Nature Protocols**, vol. 2, pp. 661-669, 2007.
127. REIS, F. A. RIBEIRO, E. A. CARVALHO, P. T.C. BELCHIOR, A. C. G. ARAKAKI, J. C. VASONCELOS, R. A. Análise da confiabilidade do método figura oito e da volumetria para mensuração de edema de tornozelo. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, vol. 10, n. 6, pp. 468-471, 2004.
128. RESENDE, M. A. SABINO, G. G. CÂNDIDO, C. R. M. PEREIRA, L. S. M. FRANCISCHI, J. N. Local transcutaneous electrical stimulation (TENS) effects in experimental inflammatory edema and pain. **European Journal of Pharmacology**, vol. 504, pp. 217-222, 2005.
129. ROBINSON, A. MACKLER, L. S. **Clinical electrophysiology: electrotherapy and electrophysiologic testing**, 3^a Ed., 2007.
130. ROBINSON, K. R. MESSERLI, M. A. Left/right, up/down: the role of endogenous electrical fields as directional signals in development, repair and invasion. **BioEssays**, vol. 25, pp. 759-766, 2003.
131. RODRIGUES- BIGATON D. A., A. F. N. BERNI, K. C. S. PEDRONI, C. R. GONÇALVES, R. N. BÉRZIN, F. Utilização de diferentes estimulações elétricas para o tratamento da dor em mulheres com disfunção temporomandibular. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, vol. 12, pp. 1-5, 2008.
132. SABAN, R. D'ANDREA, M. R. ANDRADE-GORDON, P. DERIAN, C. K. DOZMOROV, I. IHNAT, M. A. HURST, R. E. SIMPSON, C. SABAN, M. R. Regulatory network of inflammation downstream of proteinase-activated receptors. **BMC Physiology**, vol. 7, pp. 1-15, 2007.

133. SANTOS, R. P. NASCIMENTO, C. A. ANDRADE, E. N. Uso da eletroestimulação de alta voltagem na cicatrização de úlceras venosas. **Fisioterapia em Movimento**, vol. 22, pp 615-623, 2009.
134. SATTER, E. K. Third-degrees burns incurred as a result of interferential current therapy. **The American Journal of Dermatopathology**, vol. 30, pp. 281-283, 2008.
135. SCHAUF, C. L. MOFFETT, D.F. MOFFETT, S. B. **Fisiologia humana**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1993. 340p, 575-577 p.
136. SCHAWARTZ, L. GUAIS, A. POOYA, M. ABOLHASSANI, M. Is inflammation a consequence of extracellular hyperosmolarity? **Journal of Inflammation**, vol. 6, n. 21, pp. 1-10, 2009.
137. SCHULTZ, G. S. SIBBALD, G. FALANGA, V. AYELLO, E. DOWSETT, C. HARDING, K. ROMANELLI, M. STACEY, M. TEOT, L. VANSCHIEDT, W. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. **Wound Repair and Regeneration**, vol. 11, pp. 1-28, 2003.
138. SELKURT, E. E. **Fisiologia**. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1986. 202-211p.
139. SERRÃO, F. V. SERRÃO, P. R. M. S. FOERSTER, B. TANNÚS, A. PEDRO, V. M. SALVINI, T. F. Assessment of the quadriceps femoris muscle in women after injury induced by maximal eccentric isokinetic exercise with low angular speed. **Journal of Sports Science and Medicine**, vol. 6, pp. 106-116, 2007.
140. SGARBI, M.W.M. JUNIOR, B.A.S. NETO, J.S.H. Importância da resposta inflamatória sistêmica no prognóstico dos pacientes politraumatizados. **Revista Brasileira de Ortopedia**: São Paulo, vol. 41, n. 2, pp. 1-6, 2006.

141. SHARP, P. E. LaREGINA, M. C. **The laboratory rat**. Washington: CRC Press LLC, 1998. 111-112 p.
142. SHEN, Mei. GAO, J. KI, J. SU, J. Effect of stimulation frequency on angiogenesis and gene expression. In ischemic skeletal muscle of rabbit. **Journal of Pharmacology**, vol. 87, pp 396-401, 2009.
143. SILVA, A. L. P. IMOTO, D. M. CROCI, A. T. Estudo comparativo entre a aplicação de crioterapia, cinesioterapia e ondas curtas no tratamento da osteoartrite de joelho. **Acta Ortopédica Brasileira**, vol. 15. pp 204-209, 2007.
144. SILVA, A. S. ABDALLA, R. J. FISBERG, M. Incidência de lesões musculoesqueléticas em atletas de elite do basquetebol feminino. **Acta Ortopédica Brasileira**, vol. 15, n. 1, pp. 43-46, 2007.
145. SIQUEIRA JUNIOR, J. F. DANTAS, C. J. S. **Inflamação: aspectos biodinâmicos das respostas inflamatória e imunológica**. Rio de Janeiro: Pedro Primeiro, 1996. 22-23p, 34-37p, 46-49p.
146. SOLIS, L. R. HALLIHAN, D. P. UWIERA, R. R. E. THOMPSON, R. B. PEHOWICH, E. D. MUSHAHWAR, B. K. Prevention of pressure-induced deep tissue injury using intermittent electrical stimulation. **J. Appl. Physiol.**, vol. 102, pp. 1992-2001, 2007.
147. STARKEY, C. **Recursos terapêuticos em fisioterapia**. 2ª Ed. São Paulo: Manole, 2001. 13 p, 199-202p, 218p, 223-229 p.
148. STEWIEN, E. T. M. CAMARGO, O. P. A. Ocorrência de entorses e lesões do joelho em jogadores de futebol da cidade de Manaus, Amazonas. **Acta Ortopédica Brasileira**, vol. 13, pp. 141-146, 2005.

149. STRALKA, S. JACKSON, J. LEWIS, R. Treatment of hand and wrist pain: a randomized clinical trial of high voltage pulsed, direct current built into a wrist splint. **AAOHN Journal**, vol. 46, pp. 233-236, 1998.
150. STRATTON, S. A. HECKMANN, R. FRANCIS, R. S. Therapeutic ultrasound: its effects on the integrity of a nonpenetrating wound. **The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy**, vol. 84, pp. 278-281, 1984.
151. SUGIHARA-SEKI, M. FU, B. M. Blood flow and permeability in microvessels. **Fluid Dynamics Research**, vol. 37, pp. 82-132, 2005.
152. SUSSMAN, C. **Electrical stimulation for wound healing**. Aspen Publishers, 1998. Cap. 16.
153. TAYLOR, K. FISH, D.R. MENDEL, F.C. BURTON, H.W. Effect of a single 30-minute treatment of high voltage pulsed current on edema formation in frog hind limbs. **Physical Therapy**, vol. 72, pp. 63/73-78/68, 1992.
154. TAYLOR, K. MENDEL, F. C. FISH, D. R. HARD, R. BURTON, H. W. Effect of high-voltage pulsed current and alternating current on macromolecular leakage in hamster cheek pouch microcirculation. **Physical Therapy**, vol. 77, pp. 1729-1740, 1997.
155. THAWER, H. A. HOUGHTON, P. Effects of electrical stimulation on the histological properties of wounds in diabetic mice. **Wound Repair and Regeneration**, vol. 9, n. 2, pp. 107-115, 2001.
156. TEWARI, N. G. P. G. BOCHNER, M. A. KOLLIAS, J. Comparison of volume displacement versus circumferential arm measurements for lymphedema: implications for the SNAC trial. **Journal Royal Australasian College of Surgeons**, vol. 78, pp. 889-893, 2008.

157. THORNTON, R.M. MENDEL, F.C. FISH, D.R. Effects of electrical stimulation on edema formation in different strains of rats. **Physical Therapy**, vol. 78, pp. 386-393, 1998.
158. TONELLA, R. M. ARAÚJO, S. SILVA, Á. M. O. Estimulação elétrica nervosa transcutânea no alívio da dor pós-operatória relacionada com procedimentos fisioterapêuticos em pacientes submetidos a intervenções cirúrgicas abdominais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, vol. 56, n. 6, pp. 630-642, 2006.
159. TRACY, J. E. CURRIER, D. P. THRELKELD, J. A. Comparison of selected pulse frequencies from two different electrical stimulators on blood flow in healthy subjects. **Physical Therapy**, vol. 68, pp. 1526-1532, 1988.
160. TROWBRIDGE, H. O. EMLING, R. C. **Inflamação: uma revisão do processo**. 4ª Ed. São Paulo: Quintessence, 1996. 13-21p, 27-36p, 119-126p, 137-140p.
161. UNGVARI, Z. OROSZ, Z. LABINSKY, N. RIVERA, A. XIANGMIN, Z. SMITH, K. CSISZAR, A. Increased mitochondrial H₂O₂ production promotes endothelial NF-kappaB activation in aged rat arteries. **American Journal of Physiology**, vol. 293, pp. 37-47, 2007.
162. VANDER, A. J. SHERMAN, J. H. LUCIANO, D. S. **Fisiologia Humana: os mecanismos da função dos órgãos e sistemas**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1981. 611-619p.
163. VERGARA, S. C. **Projetos e relatórios de pesquisa em administração**. Atlas: São Paulo, 1998. 88 p.

164. VERRI JR. W. A. CUNHA, T. M. POOLE, S. FERREIRA, S. H. CUNHA, F. Q. Inibidores de citocinas e controle da dor. **Revista Brasileira de Reumatologia**, vol. 47, pp. 341-353, 2007.
165. WALKER, D. C. CURRIER, D. P. THRELKELD. Effects of high voltage pulsed electrical stimulation on blood flow. **Physical Therapy**, vol. 68, pp. 481-485, 1988.
166. WANG, Y.. GUO, C. ZHONG, H. ZHANG, W. WANG, D. WANG, X. DONG, F. In vivo effects of pain relieving plaster on closed soft tissue injury in rabbit ears. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, vol. 8, pp. 1-7, 2008.
167. WANG, E. ZHAO, M. Regulation of tissue repair and regeneration by electric fields. **Chinese Journal of Traumatology**, vol. 13, pp. 55-61, 2010.
168. YARD, E. E. COMSTOCK, R. D. Injuries sustained by rugby players presenting to United States Emergency Departments, 1978 through 2004. **Journal of Athletic Training**, vol. 41, pp. 325-331, 2006.
169. ZAINUDDIN, Z. NEWTON, M. SACCO, P. NOSAKA, K. Effects of massage on delayed-onset muscle soreness, swelling, and recovery of muscle function. **Journal of Athletic Training**, vol. 40, pp. 174-180, 2005.
170. ZHAN, Y. YUAN, L. OETTGEN, P. Alterations in transcriptional responses associated with vascular aging. **Journal of Inflammation**, vol. 6, pp. 1-5, 2009.
171. ZHAO, M. Electrical fields in wound healing-an overriding signal that directs cell migration. **Semin Cell Dev. Biol.**, vol. 20, pp. 674-682, 2009.
172. ZHAO, M. BAI, H. WANG, E. FORRESTER J. V. McCAIG, C. D. Electrical stimulation directly induces pre-angiogenic responses in vascular endothelial cells

by signaling through VEGF receptors. **Journal of Cell Science**, vol. 117, pp. 397-405, 2003.

173. ZHAO, M. SONG, B. P., *et al.* Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase-gamma and PTEN. **Nature**, vol. 442, pp. 457-460, 2006.

9. ANEXO



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

NÚCLEO DE BIOÉTICA
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

PARECER DE PROTOCOLO DE PESQUISA

Registro do projeto no CEUA: 454

Data do parecer: 06/07/2009

Título do Projeto:

Modelagem do tratamento de edema agudo de ratos aplicando estimulação elétrica

Pesquisador responsável:

Letícia Bermúdez Gomes Alves

Equipe da pesquisa:

Percy Nohama

Instituição:

PUCPR

Categoria do Experimento – C

Espécie de Animal	Sexo	Idade ou peso	Quantidade
<i>Rattus norvegicus</i>	Macho	3 meses, aprox. 300/350g	20

O colegiado do CEUA em reunião no dia 02/07/2009, avaliou o projeto e emite o seguinte parecer: **APROVADO**.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEUA-PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEUA em qualquer tempo.

[Handwritten signature]



Lembramos ao senhor pesquisador que é obrigatório encaminhar o relatório anual parcial e relatório final da pesquisa a este CEUA.

Curitiba, 06 de junho de 2009.

Atenciosamente



Profa. Graçinda Maria D'Almeida e Oliveira
Coordenadora do CEUA
PUC PR

