

# O EFEITO DA APLICAÇÃO DE MICROCORRENTE ELÉTRICA NA RESTAURAÇÃO DE PELE DE RATOS EXPOSTA À AÇÃO DE RADICAIS LIVRES

Kassia Karoline Rosa do Valle<sup>1</sup>; Jean Jacques Bonvent<sup>2</sup>; Cláudio Saburo Shida<sup>3</sup>

Estudante do Curso de Ciências Biológicas; e-mail: k\_kassia@yahoo.com.br<sup>1</sup>

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: bonvent@umc.br<sup>2</sup>

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: shida@umc.br<sup>3</sup>

**Área do Conhecimento:** Biofísica/Ciências

**Palavras-chaves:** Cicatrização; Estimulação elétrica; Colágeno tipo I e tipo III; Lesão química

## INTRODUÇÃO

A estimulação de células vivas, por correntes elétricas de baixa intensidade (*Estimulação Neuromuscular por Microcorrente Elétrica*, MENS da sigla inglesa) afeta diretamente os potenciais de membranas que estão associados ao gradiente de concentração de íons na membrana celular. Verificou-se ainda que a aplicação de microcorrentes possui um efeito biológico similar às mudanças no gradiente de concentração de íons que levam ao aumento da síntese de ATP num primeiro momento, seguido do aumento na síntese de proteínas (CHENG *et al.*, 1982; SANTOS *et al.*, 2004). Na literatura, evidências clínicas mostram que a restauração de tecidos conectivos dérmicos e subdérmicos podem ser aceleradas por intermédio da aplicação externa de uma corrente elétrica de baixa intensidade (NELSON *et al.*, 2003). Outros métodos físicos também são utilizados para acelerar a cicatrização de lesões em diversos tecidos, tais como terapias com ultra-som e lasers de baixa intensidade. A utilização de ultra-som aumenta o fluxo sanguíneo, a permeabilidade de membranas e a ativação de fibroblastos com aumento na produção de colágeno (STARKEY, 2001). Trabalhos com lasers de baixa intensidade mostram que sua aplicação possui função analgésica, anti-edemas e efeitos bioestimuladores que auxiliam a formação de uma cicatrização até a reorganização do tecido (DAMANTE, 2003; KOGAWA *et al.*, 2003). O uso de microcorrentes para acelerar o processo de cicatrização de lesões causadas por agentes químicos já tem sido aplicado, por exemplo, ao tratamento de lesões causadas por TCA (ácido tricloroacético) em ratos (SANTOS *et al.*, 2004). Dentro dessa linha de pesquisa, nosso interesse é estudar o efeito de aplicação de microcorrentes na cicatrização de queimaduras provocadas pelo efeito de substâncias conhecidas como radicais livres (OLSZEWER, 1997). As concentrações de peróxido de hidrogênio acima de 27,5% podem causar sérias injúrias residuais ou temporárias, causam queimaduras na pele e tecido quando colocadas em contato (MATTOS, 2003). Diante dos danos causados pelos radicais livres, é importante que existam maiores estudos sobre os seus efeitos de danificação na camada epitelial. Quando ocorre uma lesão ou uma queimadura é necessário que ocorra o reparo tecidual. O reparo é dividido normalmente em três fases, que são distintas, porém sobrepostas. A primeira fase é a inflamatória, que dura em média de 2 a 3 dias, a segunda é a proliferativa, ou de granulação que geralmente se estende até o 10º dia, e por fim a de maturação, que dependendo da lesão pode durar até mais de um ano (BALBINO *et al.*, 2005). O colágeno, proteínas fibrosas insolúveis de função estrutural, aumenta com uma taxa relativamente constante a partir

do 3º dia de lesão sintetizado pelos fibroblastos, as células mais comuns do tecido conjuntivo. O colágeno é classificado em diferentes grupos, conforme sua seqüência de aminoácidos. Os colágenos tipos I e III estão presentes na pele. Em um tecido normal é cerca de 90% colágeno tipo I e 10% colágeno tipo III, mas quando lesado, o tipo III é predominante na fase de granulação e sofrem remodelagem com o tempo, sendo substituídos ao longo do processo de reparo tecidual pelas fibras do tipo I (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004; SAMPAIO, 2000).

## **OBJETIVOS**

Investigar a influência da estimulação elétrica na restauração de pele de ratos com queimaduras provocadas pela exposição da ação de espécies reativas de oxigênio (peróxido de hidrogênio).

## **METODOLOGIA**

Foram utilizados 8 ratos machos adultos, da linhagem Wistar, de aproximadamente 300 g eles foram primeiramente submetidos à anestesia geral, com uma dose anestésica de Xilazina associado a Cetamina (1 ml/kg para a Cetamina e 0,1 ml/kg para a Xilazina). As lesões foram realizadas na parte dorsal do animal, a partir de um molde plástico circular de diâmetro de cerca de 1 cm envolto por Parafilm<sup>®</sup>; com o auxílio de um pipetador de plástico, cerca de 2 ml de peróxido de hidrogênio (20%) foram colocados dentro do molde. A cada 10 min, esta solução foi trocada, perfazendo um total de 30 min de contato direto com a pele do rato. Foram realizadas duas lesões em cada animal, distante uma da outra cerca de 2 cm, sendo uma considerada como lesão controle e a outra para tratamento com MENS. O tratamento foi iniciado 24 h após a lesão e a aplicação repetida e acompanhada durante 12 dias. Para a aplicação da MENS, foi empregado um gerador de microcorrente, da marca IBRAMED (Brasil).

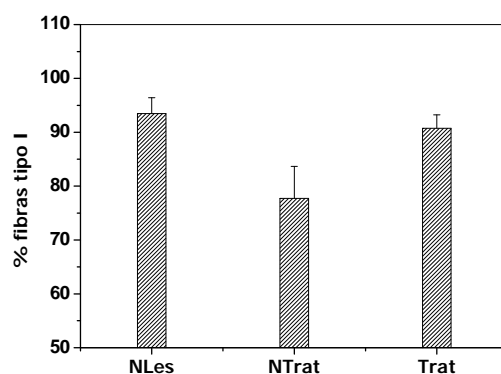
A fim de reproduzir as mesmas condições de umidade e de tensão, ambas regiões lesadas foram umedecidas com um gel condutor e um par de eletrodos (tipo caneta) posicionado sobre essas lesões, com 1 cm de separação um do outro. Ressaltamos que os eletrodos posicionados na lesão controle não foram conectados ao aparelho. A aplicação foi de 15 min por dia; os parâmetros da microcorrente seguidos foram: 300 µA de intensidade, frequência de 100 Hz, e inversão de polaridade a cada 3 (corrente pulsada).

A evolução macroscópica da lesão durante o tratamento foi acompanhada por imagens digitais, capturadas por uma câmera acoplada a um microscópio estereoscópico Olympus SZ40 (com aumento de 15X). Foi calculada a média das áreas das várias lesões espalhadas decorrentes da queimadura química. A determinação das áreas das lesões foi feita utilizando o programa de análise de imagens Image Pro Plus v.4.5.

A fim de quantificar a densidade de colágeno, amostras de pele das regiões lesadas tratadas e não-tratadas, como também de uma região não-lesada, foram conservados em formaldeído (10%) para preparação de lâminas histológicas. As lâminas foram coradas com Picro Sírius Red, que possibilita uma melhor diferenciação do colágeno na microscopia óptica com luz polarizada. De fato, em decorrência da birrefringência das fibras de colágeno, a coloração com Picro Sírius Red permite a observação discriminada das fibras de colágeno tipo I (colágeno maduro) e tipo III (colágeno imaturo), e conseqüentemente a análise do amadurecimento das fibras. A contagem do colágeno foi feita pela análise de imagens capturadas por uma câmera acoplada ao microscópio (LEICA, DMLP), utilizando o Image Pro Plus v.4.5. Para interpretação dos dados experimentais foi feita análise estatística usando o software MINITAB<sup>®</sup>, utilizando-se ANOVA e o teste de Tukey, com nível de significância de  $p = 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dados deste trabalho consistiu em duas principais, a primeira foi a análise macroscópica, onde, com as imagens obtidas durante o tratamento foi possível a verificação da área lesionada da região tratada e da região não tratada, nas imagens obtidas, pode ser observado visualmente que as regiões tratadas apresentam uma menor área com lesão no quarto dia de tratamento em comparação à região não tratada, a média da área lesionada no quarto dia de animais tratados com MENS foi de 1,48 mm<sup>2</sup> enquanto a região sem tratamento obteve uma média de 4,62 mm<sup>2</sup>. Com o auxílio de ferramentas da estatística foi comprovado que essas médias diferem entre si, possuem um valor  $p$  inferior a 0,034, comprovando a eficácia da MENS na análise macroscópica. A segunda, e talvez mais importante, análise foi realizada com lâminas histológicas, onde imagens de colágeno coradas com picro sirius red, devido a birrefringência da fibra foram diferenciadas em colágeno tipo I e tipo III. Com o auxílio do software Image Pro Plus v.4.5 foi possível a quantificação de colágeno tipo I, apresentado na Figura 1. A análise estatística mostra que a aplicação da MENS proporciona um aumento significativo ( $p < 0,001$ ) da densidade de colágeno do tipo I, em relação à lesão não-tratada. Também pode se ressaltar que a densidade de colágeno do tipo I atinge o nível normal 12 dias após lesão.



**Figura 1:** Porcentagem média de colágeno das regiões não lesada, não tratada e tratada

## CONCLUSÃO

A microcorrente elétrica vem se mostrando efetiva para o aceleração do processo cicatricial, devido ao fato de sua aplicação ter um efeito biológico similar às mudanças no gradiente de concentração de íons, ocasionando um aumento de ATP (CHENG *et al.*, 1982). O tratamento com microcorrente se mostrou efetivo na cicatrização da parte superior da derme lesada por peróxido de hidrogênio, corroborando com dados que mostram ser pouco eficiente para camadas mais profundas (NELSON *et al.*, 2003). Os resultados apresentados sugerem a eficiência da MENS no tratamento de lesões provocadas por agentes químicos, em particular, peróxido de hidrogênio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHENG, N., VAN HOOFF, H., BOCK E., HOOGMARTENS, M.J., MULIER, J.C., DE DIJCKER, F.J., SANSEN, W.M., DE LOECKER, W. The effects of electric currents on ATP generation, protein synthesis and membrane transport in rat skin. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, vol. 171, p.264-272, 1982;

JUNQUEIRA, L.C.; Carneiro, J. **Histologia Básica** 10ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p.92-125, 2004.

NELSON, R.M.; Hayes, K.W.; Currier, D.P. **Eletroterapia Clínica** 3ed São Paulo: Manole; p. 01-300, 2003.

OLSZEWER, E. **Radicais livres em medicina** 2ed São Paulo: Fundo editorial BYK; p. 17-30, 1997.

SANTOS, V.N.S.; FERREIRA, L.M.; HORIBE, E.K.; DUARTE, I.S. Electric microcurrent in the restoration of the skin undergone a trichloroacetic acid peeling in rats **Acta Cir. Bras.**, v.19, p. 466-469, 2004.