

Artigo original

Efeitos da microcorrente sobre o tecido conjuntivo de ratos Wistar

Effects of microcurrent on the connective tissue of Wistar rats

Rodrigo Marcel Valentim da Silva, M.Sc.*, Diego Robson de Lima Cruz, Ft.**, Eduardo Gomes de Sousa Neto, Ft.**,
Hennes Gentil de Araújo, Ft.**, Ludmila Lopes Trindade***, Janaína Maria Dantas Pinto, M.Sc.****,
Patrícia Froes Meyer, D.Sc.*****, Maria Goretti Freire de Carvalho, D.Sc.*****, Oscar Ariel Ronzio*****

.....
*Docente do Curso de Fisioterapia da Faculdade Maurício de Nassau, Natal/RN, **Universidade Potiguar (UnP), Natal/RN,
Médica graduada pela Universidade Potiguar (UnP), Natal/RN, *Especialista em Fisioterapia Respiratória pela Escola Paulista de Medicina, Docente da Universidade Potiguar (UnP), Natal/RN, *****Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal/RN, *****Docente da Universidade Potiguar (UnP) e da Faculdade Natalense para Desenvolvimento do Rio Grande do Norte- (FARN) Natal/RN, *****Professora Adjunta do Curso de Medicina da Universidade Potiguar, *****Prof. Titular, Agentes Físicos Aplicados, Universidad Maimónides, Prof. Adjunto Interino, Fisioterapia 1 y 2, Universidad Favaloro, Prof. Adjunto, Agentes de Terapia Física, Universidad del Salvador, Prof. Adjunto, Kinefisiatria Computacional, Universidad Morón

Resumo

A terapia por microcorrente é utilizada no reparo tecidual e atualmente é aplicada no tratamento do envelhecimento cutâneo, em virtude dos seus prováveis efeitos sobre as fibras colágenas e elásticas. O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da microcorrente no tecido conjuntivo. A amostra consistiu de 15 ratos, da raça Wistar, selecionados aleatoriamente com peso entre 200 e 350 g. Foram divididos em 3 grupos de 5 animais, sendo o primeiro um grupo-controle (GC) que não recebeu aplicação, o segundo (GT 10) que recebeu 10 aplicações e o terceiro (GT 20) que recebeu 20 aplicações de microcorrente com os seguintes parâmetros: frequência de 500 Hz, intensidade de 700 μ A e tempo de aplicação de 30 minutos/dia. Na análise histológica, identificou-se um aumento significativo do número de fibras elásticas nos grupos tratados, quando comparado com o grupo controle. Na análise estatística a comparação do grupo controle com GT 10 e GT 20 observou-se que a região mais estimulada pela aplicação da microcorrente foi entre os eletrodos, comparado aos polos positivos e negativos. A aplicação de microcorrente foi eficaz em relação aos parâmetros analisados com um incremento significativo da produção de fibras elásticas.

Palavras-chave: modalidades de fisioterapia, estimulação elétrica, tecido conjuntivo, fibras elásticas.

Abstract

Microcurrent is used to repair tissue and nowadays is used as treatment of aging skin, due to its effect on the collagen and elastic fibers. The objective of this study was to investigate the effects of microcurrent on the connective tissue. The sample consisted of 15 Wistar rats, selected at random weighing between 200 and 350 g. Three groups of 5 animals were divided, the first was a control group (CG) who did not received treatment, the second (GT 10) received 10 sessions of microcurrent and the third (GT 20) received 20 sessions with the following parameters: 500 Hz, 700 μ A intensity and exposure time of 30 minutes/day. Histological analysis identified a significant increase in the number of elastic fibers in the treated groups compared with the control group. Statistical analysis comparing the control group with GT 10 and GT 20 revealed that the area most stimulated by the use of microcurrent was between the electrodes, compared to positive and negative poles. The microcurrent was effective in relation to the analyzed parameters with a significant increase in elastic fibers production.

Key-words: physical therapy modalities, electrical stimulation, tissue, elastic fibers.

Recebido em 30 de julho de 2013; aceito em 9 de julho de 2014.

Endereço para correspondência: Patrícia Froes Meyer, Rua Maxaranguape, 550/2603 Tirol 59020160 Natal RN, E-mail: marcelvalentim@hotmail.com, diegofisio@hotmail.com, jajafisio@hotmail.com

Introdução

Com o processo de envelhecimento, as rugas aparecem de forma progressiva em virtude de uma frouxidão da junção dermo-epidérmica, a qual perde sua ancoragem e sua adesão com as fibras elásticas da derme superficial provocando uma subtensão na rede das fibras de colágeno [1]. Em consequência aumenta-se a rigidez dos tecidos ocorrendo uma maior dificuldade para a difusão dos nutrientes a partir dos capilares para as células, o que ocasiona uma deterioração progressiva da função celular [2]. Em decorrência desse fato, a pele perde elasticidade causando alterações nas fibras colágenas e elásticas, além disso, a atividade do fibroblasto é diminuída, com consequente redução da síntese de colágeno [3,4].

Nos últimos anos, o desenvolvimento de estudos sobre o envelhecimento facial tem estimulado o conhecimento sobre os aspectos clínicos funcionais decorrentes deste processo. A fisioterapia dermato-funcional possui diversas modalidades terapêuticas para estes fins como a microcorrente, utilizadas frequentemente no processo de reparo tecidual, mas que atualmente trata-se de um recurso frequentemente utilizado na prática clínica no tratamento de envelhecimento cutâneo, desde sua utilização domiciliar através de aparelhos portáteis até seu uso em clínicas de estética [5,6].

A microcorrente consiste em uma corrente de baixa amperagem que induz a síntese proteica e que é capaz de acelerar em até 500% a produção do trifosfato de adenosina (ATP), sendo essa molécula a grande responsável pela síntese proteica e regeneração tecidual devido a sua participação em todos os processos energéticos da célula [7,8]. Diversos estudos têm mostrado que o crescimento do número de fibroblastos e o alinhamento das fibras de colágeno foram incrementados com a estimulação de microcorrentes e que a resposta máxima dos fibroblastos foi observada nas proximidades do catodo. Ainda, a excitação elétrica de uma ferida aumenta a concentração de receptores de fator de crescimento que aumenta a formação de colágeno [9-11].

Qualquer que seja a indicação da microcorrente deve-se buscar a capacitância, princípio fundamental no processo de sobrevivência celular. Mas quando se considera um quadro de lesão tecidual, vale salientar que as respostas físicas e biológicas do tecido são diferentes das respostas de uma pele íntegra, sem qualquer tipo de lesão. Baseado neste princípio, verifica-se um grande número de pesquisas voltadas para conhecimento e melhora do tratamento de feridas, ou seja, a utilização das microcorrentes no processo de reparação tecidual [12-15].

A demonstração de indução da proliferação de fibroblastos após o uso da microcorrentes em feridas desencadeou a ideia de uma ação de estimular os fibroblastos em um tecido normal, como acontece em casos de utilização das microcorrentes no processo de rejuvenescimento [3,9,10]. A partir deste fato, este estudo investiga os efeitos da microcorrente no tecido dérmico íntegro em animais que não sofreram

lesão tecidual, observando as possíveis mudanças nas fibras colágenas e elásticas como possíveis formações de neocolágeno ou maior quantidade de fibras elásticas, buscando investigar se a ação da microcorrente é efetiva em tratamentos de rejuvenescimento facial a partir de seus efeitos sobre o tecido conjuntivo [5,13,14].

Material e métodos

Trata-se de um estudo experimental, cujos procedimentos tiveram início após a aprovação pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Potiguar-UnP de acordo com o protocolo de número 298/2009. A amostra foi composta por 15 ratos, da raça *Wistar, Rattus Norvegicus albinus*, selecionados de forma aleatória com peso entre 200 e 350 g. Os animais tiveram origem do Biotério da Universidade Potiguar (UnP) e foram mantidos durante os protocolos experimentais no mesmo ambiente, temperatura média de 28 °C e iluminação controlada, mínimo de ruídos, com mesmo ciclo biológico com fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, confinados em gaiolas individuais forradas com maravalha, onde receberam água e ração comercial “*ad libitum*”, sendo a aplicação da terapia realizada no turno vespertino.

Os 15 ratos foram divididos em 3 grupos de 5 espécimes, no qual o primeiro grupo (GC) foi o grupo-controle, que não recebeu tratamento, o segundo grupo (GT-10) recebeu 10 e o terceiro grupo (GT-20) recebeu 20 aplicações de microcorrente.

Para a realização do experimento, inicialmente, foi realizada anestesia mediante o uso do anestésico dissociativo (Zoletil®50) por via intramuscular (IM) aplicado no quadríceps esquerdo de cada animal. A dosagem do anestésico foi calculada de acordo com o peso do animal, sendo o valor de 15,0/30,0 mg/kg. No primeiro dia, após a anestesia, os animais foram submetidos à tricotomia da região dorsal, marcação e pesagem.

Para a aplicação, foi empregado um gerador de microcorrente, da marca Ibramed (Brasil). Primeiramente, ele passou por uma aferição dos parâmetros de voltagem e amperagem. A pesquisa foi realizada utilizando 2 (dois) eletrodos de silicone carbono com 4 cm² de área, que eram acoplados no dorso dos animais com gel, mantendo uma distância de 5 cm entre os mesmos, e fixados com fita adesiva. Os ratos eram colocados em um contensor de polipropileno, para minimizar o manuseio e o estresse do animal. Para todo o tratamento foi preconizado um tempo de 30 minutos, com frequência de 500 Hz e intensidade de 700 µA, uma vez ao dia, 7 dias na semana, até completar o número total de sessões de cada grupo. Após o período de tratamento, os animais foram sacrificados em uma câmara de gás de dióxido de carbono (CO₂).

Após o fim das aplicações, foram retiradas amostras da superfície da pele (área: 1 cm²) dos animais. Para correta interpretação dos resultados foram coletados os tecidos da área abaixo dos eletrodos com 10 (GT-10-A) e 20 dias (GT-20-A)

e do tecido entre os eletrodos com 10 (GT-10-B) e 20 dias (GT-20-B).

Estes fragmentos teciduais foram colocados em frascos apropriados e devidamente identificados, contendo 20 ml de solução de formol tamponado a 10%. Após a fixação, as amostras foram processadas segundo protocolo de rotina para confecção das lâminas histológicas. Foram utilizadas as colorações Hematoxilina-Eosina HE e Tricrômico de Masson para verificar diferenças no tecido colágeno em relação ao controle e a coloração Verhoff para verificar alterações do tecido elástico. Fotomicrografias foram realizadas com câmera digital acoplada ao microscópio óptico Olympus. Por meio da observação das lâminas coradas com Verhoff foi realizada a contagem das fibras elásticas para comparação e quantificação dos resultados, através da divisão de cada lâmina em 10 campos e posteriormente, realizando o somatório do número de fibras elásticas em cada lâmina, procedimentos esses realizados por três examinadores de maneira cega. Os resultados foram apresentados através dos gráficos e tabelas.

Para a análise dos dados foi utilizado o programa estatístico *Service Statistical Package for the Social Science - SPSS* (versão 17.0). Foi realizado o teste estatístico Kruskal-Wallis com Dunn post-test entre os grupos Controle vs. GT-10-A; Controle vs. GT-10-B; Controle vs. GT-20-A e Controle vs. GT-20-B, adotando-se um nível de significância de $p < 0,05$.

Resultados

Percebeu-se, após o tratamento com a microcorrente, que os grupos que receberam 10 e 20 aplicações apresentavam maior quantidade de fibras elásticas, tanto nas regiões abaixo e entre os eletrodos, o que pode ser observado na Tabela I.

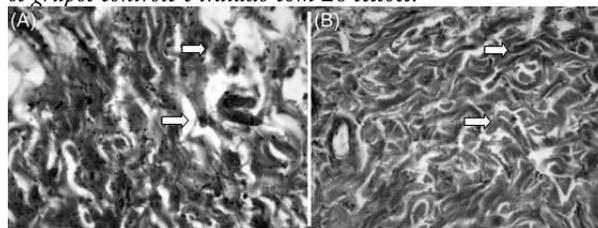
Tabela I - Quantidade de fibras elásticas encontradas nos diferentes grupos na região dos eletrodos ou entre os eletrodos.

	Contro-	10 TTOS		20 TTOS	
	le	GT-10-A	GT-10-B	GT-20-A	GT-20-B
Rato 1	146	104	162	215	390
Rato 2	140	226	229	316	187
Rato 3	138	296	184	345	281
Rato 4	144	333	381	187	146
Rato 5	142	225	308	123	368
Media	142	236,8	252,8	237,2	274,4
DP	3,16	87,54	90,87	92,04	107,58

GT: Grupo Tratado A: Área abaixo dos eletrodos. B: Área entre os eletrodos.

A Tabela II apresenta a análise estatística da quantidade de fibras elásticas observadas nos animais dos grupos controle, tratado com 10 e 20 sessões. O resultado demonstrou que foi significativa a diferença entre o grupo Controle comparada ao GT-20-B (entre os eletrodos). Esse resultado também pode ser verificado na Figura 1.

Figura 1 - Análise histológica da quantidade de fibras elásticas entre os grupos controle e tratado com 20 sessões.



(A) Grupo Controle; (B) Grupo Tratado; 20 dias de aplicação; Fotomicrografia com coloração de Verhoff, aumento de 400 x. As setas indicam as regiões com fibras elásticas.

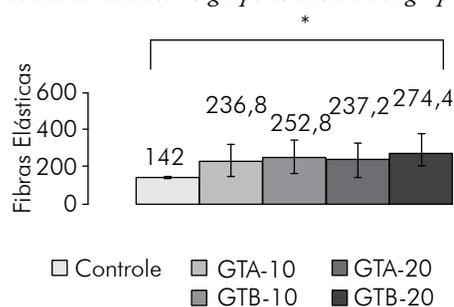
Tabela II - Comparações da quantidade de fibras elásticas observadas nos diferentes grupos na região dos eletrodos ou entre os eletrodos.

Comparação	Diferença	P value	Significativo
Controle vs. GT-10-A	-8.700	0,06	ns
Controle vs. GT-10-B	-10.500	0,05	ns
Controle vs. GT-20-A	-8.600	0,06	ns
Controle vs. GT-20-B	-11.700	0,03	s*

GT: Grupo Tratado A: Área abaixo dos eletrodos. B: Área entre os eletrodos. Utilizou-se teste estatístico Kruskal-Wallis com Dunn post-test. *Diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

A Figura 2 apresenta os valores médios da quantidade de fibras elásticas nos tecidos analisados do grupo controle e dos grupos tratados. Podemos observar que em ambos os grupos tratados houve aumento no número de fibras elásticas, com aumento estatisticamente significativo apenas para o grupo GT-20-B (entre os eletrodos) em relação ao Controle ($P = 0,03$).

Figura 2 - Valores médios da quantidade de fibras elásticas nos tecidos analisados do grupo controle e dos grupos tratados.



*Diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Utilizou-se teste estatístico Kruskal-Wallis com Dunn pos- test.

Discussão

A microcorrente proporciona um estímulo aos fibroblastos, células fixas do tecido conjuntivo que sintetizam as fibras de colágeno, elastina e reticulina [9,16]. Os fibroblastos recebem o impulso e produzem fibras elásticas, o que é con-

firmado neste estudo ao observar um aumento na produção de fibras elásticas na maioria das lâminas examinadas [17].

Foi observado que correntes constantes de 100 μ A a 500 μ A aumentam o transporte ativo de aminoácidos e consequentemente a síntese de proteínas em 30% a 40%. Alguns estudos mostram que com o uso de microcorrentes a 500 μ A há aumento da produção de ATP, que aumenta o transporte de aminoácidos e estes dois fatores contribuem para um aumento da síntese de proteína [18,19].

Podemos observar que a microcorrente demonstrou eficácia na estimulação da pele íntegra. Observou-se um incremento na produção de fibras elásticas, em decorrência da estimulação fibroblástica, corroborando trabalhos referentes à estimulação em tecidos lesionados [17-19]. A ação da microcorrente na neoformação de tecido colágeno não foi percebida nas análises em microscopia óptica utilizadas neste estudo, mas poderiam estar ou não confirmadas através de microscopia eletrônica.

As limitações para o desenvolvimento deste estudo estão relacionadas à carência de instrumentos para melhor análise das fibras colágenas, tais como microscopia eletrônica. Além disso, o número de animais também foi um fator limitante para melhor validade dos resultados. Sugerem-se maiores estudos que confirmem estes achados utilizando uma quantidade de animais maiores, bem como métodos de análise mais detalhados como a análise imuno-histoquímica com anticorpo específico para os diferentes tipos de colágeno e elastina e que possam demonstrar estes resultados no atendimento clínico de pacientes com envelhecimento facial.

Conclusão

No presente estudo, a aplicação de microcorrente na pele íntegra de ratos Wistar, com um número de 20 sessões de aplicação, mostrou-se nos parâmetros analisados, um recurso capaz de incrementar significativamente a produção de fibras elásticas, mas não apresentou qualquer efeito em relação às fibras colágenas.

Referências

1. Kao HK, Li Q, Flynn B, Qiao X, Ruberti JW, Murphy GF, Guo L. Collagen synthesis modulated in wounds treated by pulsed radiofrequency energy. *Plast Reconstr Surg* 2013;131(4):490e-8e.
2. Elsaie ML, Choudhary S, Leiva A, Nouri K. Nonablative radiofrequency for skin rejuvenation. *Dermatol Surg* 2010;36(5):577-89.
3. Liochev SI. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radic Biol Med* 2013;60:1-4.
4. Kleinerman R, Eisen DB, Kilmer SL, Ibrahim OA. The new age of noninvasive facial rejuvenation. *Semin Cutan Med Surg* 2013;32(1):53-8.
5. Zuzzi DC, Ciccone Cde C, Neves LM, Mendonça JS, Joazeiro PP, Esquisatto MA. Evaluation of the effects of electrical stimulation on cartilage repair in adult male rats. *Tissue Cell* 2013;45(4):275-81.
6. Houghton PE. Clinical trials involving biphasic pulsed current, microcurrent, and/or low-intensity direct current. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2014;3(2):166-83.
7. Campos Ciccone C1, Zuzzi DC, Neves LM, Mendonça JS, Joazeiro PP, Esquisatto MA. Effects of microcurrent stimulation on hyaline cartilage repair in immature male rats (*Rattus norvegicus*). *BMC Complement Altern Med* 2013;13:17.
8. Passarini Junior JR, Gaspi FO, Neves LM, Esquisatto MA, Santos GM, Mendonça FA. Application of *Jatropha curcas* L. seed oil (Euphorbiaceae) and microcurrent on the healing of experimental wounds in Wistar rats. *Acta Cir Bras* 2012;27(7):441-7.
9. Meyer PF, Santos-Filho SD, Ronzio AO, Bonelli L, Fonseca AS, Costa IC, et al. Consequences of the magnetic field, sonic and radiofrequency waves and intense pulsed light on the labeling of blood constituents with technetium-99m. *Braz Arch Biol Technol* 2008;50:117-22.
10. Jankowska K, Delewska A, Klimkiewicz R, Kubsik A, Woldańska-Okońska M. The use of transdermal therapeutic systems in physical therapy. *Pol Merkur Lekarski* 2013;35(207):175-8.
11. Freitas RPA, Barcelos APM, Nóbrega BM, Macedo AB, Oliveira AR, Ramos AMO, et al. Laserterapia e microcorrente na cicatrização de queimadura em ratos: terapias associadas ou isoladas? *Fisioter Pesqui* 2013;20(1):24-30.
12. Castro FC, Magre A, Cherpinski R, Zelante PM, Neves LM, Esquisatto MA, et al. Effects of microcurrent application alone or in combination with topical *Hypericum perforatum* L. and *Arnica montana* L. on surgically induced wound healing in Wistar rats. *Homeopathy* 2012;101(3):147-53.
13. Kim JH, Choi H, Suh MJ, Shin JH, Hwang MH, Lee HM. Effect of biphasic electrical current stimulation on IL-1 -stimulated annulus fibrosus cells using in vitro microcurrent generating chamber system. *Spine* 2013;38(22):E1368-76.
14. Mendonça FAS, Passarini Junior JR, Esquisatto MAM, Mendonça JS, Franchini CC, Santos GMT. Effects of the application of aloe vera and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. *Acta Cir Bras* 2009;24(24):150-55.
15. Santos VNS, Ferreira LM, Horibe EK, Duarte IS. Electric microcurrent in the restoration of the skin undergone a trichloroacetic acid peeling in rats. *Acta Cir Bras* 2004;5(19):466-70.
16. Lee JW, Kang JS, Park SJ, Yoon SW, Jeong SK, Heo M. Effects of inter-electrode distance on delayed onset muscle soreness in microcurrent therapy. *J Phys Ther Sci* 2013;25(11):1451-4.
17. Choi H, Cho JS, Park IH, Yoon HG, Lee HM. Effects of microelectrical current on migration of nasal fibroblasts. *Am J Rhinol Allergy* 2011;25(3):157-62.
18. Gaspi FO, Foglio MA, Carvalho JE, Santos GM, Testa M, Passarini Junior JR, et al. Effects of the topical application of hydroalcoholic leaf extract of *Oncidium flexuosum* Sims. (Orchidaceae) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011:1-9.
19. Tsamis A, Krawiec JT, Vorp DA. Elastin and collagen fibre microstructure of the human aorta in ageing and disease: a review. *J R Soc Interface* 2013;10(83):2-22.