

**ÉRIKA PATRÍCIA RAMPZO DA SILVA**

**CORRENTE ELÉTRICA DE ALTA  
VOLTAGEM NA CICATRIZAÇÃO DE  
RUPTURA PARCIAL DO TENDÃO DO  
CALCÂNEO EM RATOS**

**Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em  
Ciências.**

**SÃO PAULO**

**2013**

**ÉRIKA PATRÍCIA RANPAZO DA SILVA**

**CORRENTE ELÉTRICA DE ALTA  
VOLTAGEM NA CICATRIZAÇÃO DE  
RUPTURA PARCIAL DO TENDÃO DO  
CALCÂNEO EM RATOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em  
Ciências.

**ORIENTADOR: Prof. BERNARDO HOCHMAN**

**COORIENTADORES: Prof. CARLOS EDUARDO PINFILDI**

**Prof. RICHARD ELOIN LIEBANO**

**SÃO PAULO**

**2013**

Silva, Érika Patrícia Rampazo da.

**Corrente elétrica de alta voltagem na cicatrização de ruptura parcial do tendão do calcâneo em ratos.**/ Érika Patrícia Rampazo da Silva. – São Paulo, 2013. xxi,81f.

(Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Translacional.

Título em inglês: High voltage electrical current in the healing of partial rupture of achilles tendon in rats

1. Estimulação elétrica 2. Tendão do calcâneo 3. Cicatrização 4. Ruptura  
5. Ratos

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA  
TRANSLACIONAL**

**COORDENADOR: Prof. Dr. MIGUEL SABINO NETO**

## **DEDICATÓRIA**

*Primeiramente, a DEUS e meus anjos guardiões,*

*A quem tudo devo: pelo presente VIDA, repleta de saúde, amor, alegria e oportunidades edificantes, pela família maravilhosa, pela proteção de cada dia, por me conduzirem no caminho do bem, por me fortalecerem na superação de cada obstáculo e por me ensinarem que:*

*“Tudo posso naquele que me fortalece!”*

*Obrigada meu Deus!*

*A minha amada MÃE NEUZA RAMPAZO DA SILVA,*

*Mãe, o que seria de mim sem a Sra.?*

*Simplesmente eu seria nada...*

*Minha eterna admiração pela mãe exemplar, pela  
mulher guerreira, pela professora paciente e pela  
amiga fiel de todas as horas!*

*Minha eterna gratidão por tê-la como mãe e como  
pai, pela Sra. ser, quem a Sra. é, uma mulher digna,  
justa, bondosa, adorada, batalhadora e sempre fiel  
aos seus princípios!*

*Minha eterna gratidão por todo amor que devotas a  
mim, por nunca ter deixado que me faltastes nada,  
por toda atenção as minhas coisas sérias e bobas, por  
confiar em mim, por sempre apoiar minhas escolhas  
e me incentivar nos caminhos que muitas vezes  
parecem impossíveis .... Mas com você por perto não  
tenho medo de nada!*

*Obrigada!*

*Ao meu amado PAI HAMILTON DA SILVA*

*(In memoriam),*

*A quem sempre terei muito orgulho...*

*Nossos laços físicos foram separados aos meus  
pequenos 12 anos, mas neste curto espaço de tempo  
você me ensinou que:*

**TUDO QUE É BOM, DURA O TEMPO SUFICIENTE PARA  
QUE SEJA INESQUECÍVEL!**

*E assim, até hoje vivencio os momentos  
maravilhosos que tivemos juntos, o Sr. foi PAI, foi  
AMIGO, foi GUERREIRO.*

*Me ensinou a amar,  
me ensinou a ajudar os meus amigos indefesos,  
me ensinou a ter disciplina,  
me ensinou a viver!*

*Obrigada!*

*E sei, que ainda cuida de mim, torce por mim e  
um dia, a gente vai se encontrar...*



*Ao meu querido IRMÃO WELLINGTON HAMILTON  
RAMPAZO DA SILVA*

*A quem eu amo demais, a quem eu tenho muita  
admiração pela dedicação intensa que devotas as  
tarefas profissionais, pela rapidez, agilidade e  
inteligência com que aprendes qualquer coisa... e  
ainda sim, você acha um tempo para ajudar sua  
pequena irmã, cede seu quarto e seu computador em  
favor de melhores condições para realização deste  
trabalho!*

*Agradeço a confiança, a preocupação e todo  
carinho com que cuidas de mim ...!*

*Aos meus queridos AMIGOS:*

*Guto Shimohakoishi, Camila Rondon, Chicão,  
Douglas Gil, Elaine Venancio, Fábio Abiarrá,  
Flávia Pedroso, Gracinha Moura, Joel Eufrásio,  
Jon Laski, Julio Fernandes, Luana Dias,  
Maira Seicman, Marco Aurelio, Marina Mello,  
Mirelli Naze, Monique Soriano, Patricia Kopieczyk,  
Patricia Nunes, Ricardo Barreto e Thiago Nunes.*

*Pela amizade, por compreenderem minha ausência,  
pela confiança, pelo carinho, pelos momentos de  
alegria e descontração, pelo apoio e força nos  
momentos difíceis, por fazerem parte da minha vida!*

*Minha gratidão, meu carinho e minha amizade!*

## **AGRADECIMENTOS**

À PROF.<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> **LYDIA MASAKO FERREIRA**, PROFESSORA TITULAR DA DISCIPLINA DE CIRURGIA PLÁSTICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO (UNIFESP) pela sua brilhante atuação como verdadeira líder que com poucas palavras, muito nos ensina e conduz ao crescimento profissional;

AO PROF. DR. **MIGUEL SABINO NETO**, COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL E PROFESSOR ADJUNTO DA DISCIPLINA DE CIRURGIA PLÁSTICA DA UNIFESP, pela oportunidade de participar deste programa de pós- graduação;

AO PROF. **BERNARDO HOCHMAN**, CIRURGIÃO PLÁSTICO, PROFESSOR DA DISCIPLINA DE CIRURGIA PLÁSTICA E ORIENTADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL DA UNIFESP, primeiramente por ter me aceito como sua aluna, por ter acreditado em mim, pelos esforços e pelo tempo dedicado na realização deste trabalho que muito me fez e ainda fará crescer;

AO PROF. **CARLOS EDUARDO PINFILDI**, FISIOTERAPEUTA, ORIENTADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTERDISCIPLINAR EM CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIFESP – CAMPUS BAIXADA SANTISTA E COORIENTADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL DA UNIFESP – CAMPUS SÃO PAULO, pelo exemplo de excelente pesquisador a ser seguido que tenho o privilégio de acompanhar desde a especialização, pela aceitação de orientar este estudo, por acreditar no meu potencial e por me mostrar isso a cada reunião, pelas correções, pelo incentivo, pelos estímulos, por me ensinar, pacientemente, a fazer ciência e, assim, crescer profissionalmente e, claro, pela amizade;

AO PROF. **RICHARD ELOIN LIEBANO**, FISIOTERAPEUTA, COORIENTADOR E PROFESSOR COLABORADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL DA UNIFESP, pelo exemplo de excelente professor que admiro desde a graduação, pela aceitação de orientar este estudo,

pelas correções, pelas críticas, sugestões, pelos esclarecimentos e por toda a atenção devotada aos meus incansáveis questionamentos;

**AOS DEMAIS DOCENTES DA DISCIPLINA DE CIRURGIA PLÁSTICA E DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL DA UNIFESP**, pelas críticas e sugestões que engrandeceram este estudo;

**À PROF.<sup>a</sup> GIANNI MARA SILVA DOS SANTOS**, PROFESSORA DO CURSO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA, DO SETOR DE ESTATÍSTICA APLICADA, DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO (UNIFESP) pela excelente didática, paciência, objetividade e clareza em me ensinar estatística;

**AO FELIPE GRANADO DE SOUZA**, ESTATÍSTICO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO – CAMPUS BAIXADA SANTISTA, pelos ensinamentos em estatística;

**À VIVIANE TIMM WOOD**, FISIOTERAPEUTA, MESTRE PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA PLÁSTICA DA UNIFESP, pelos ensinamentos referentes às atividades no laboratório, por compartilhar seu conhecimento com sabedoria e segurança que sempre me esclareceram e estimularam a seguir, pelo carinho e todo o incentivo no estudo e, acima de tudo, pela nossa amizade;

**À ROBERTA DE ARAÚJO COSTA FOLHA**, FISIOTERAPEUTA, MESTRANDA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL, pelo companheirismo na realização de cada etapa deste estudo, pela parceria na realização do estágio docente, por todo o conhecimento compartilhado e pela amizade;

**À ALINE FERNANDA PEREZ MACHADO**, FISIOTERAPEUTA E MESTRE PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL, pelo auxílio nas atividades de cada etapa deste estudo, pelos ensinamentos, dicas,

sugestões, direcionamento do melhor caminho a seguir e pela nossa amizade;

**À ARAINY SUÉLY ANTUNES, TATIANA RODRIGUES SHELIGA E PAOLA KARYNNE PINHEIRO MONTEIRO, FISIOTERAPEUTAS, MESTRANDAS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL DA UNIFESP, o meu profundo agradecimento pelo auxílio nas atividades do laboratório, pelo companheirismo desde as aulas no curso de Aperfeiçoamento em Pesquisa Científica e pela nossa amizade;**

**À MICHELE AKEMI NISHIOKA E SILVILENA BONATTI, FISIOTERAPEUTAS E MESTRES PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL, pelo auxílio nas avaliações deste estudo, pelas sugestões do passo a passo de cada etapa e pela nossa amizade;**

**AOS DEMAIS COLEGAS PÓS-GRADUANDOS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL DA UNIFESP, pelas sugestões e companheirismo nessa jornada;**

**AO PROF. OSCAR PEITL FILHO, PROFESSOR TITULAR DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (UFSCAR), DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAS, por abrir as portas de seu laboratório, pelas explicações e acessibilidade;**

**AO ALISSON MENDES RODRIGUES, QUÍMICO, DOUTORANDO NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS NA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (UFSCAR), pela hospitalidade, pela atenção e pelo auxílio prestado no Laboratório de Materiais Vítreos (LaMaV) da UFSCar;**

**A INDÚSTRIA BRASILEIRA DE EQUIPAMENTOS MÉDICOS - IBRAMED, POR MEIO DO SR. RAFAEL DAVINI, GERENTE DE MARKETING, por, gentilmente, disponibilizarem o**

equipamento *Neurodyn High Volt* para a realização deste estudo. AO **MAICON STRINGHETTA**, ENGENHEIRO RESPONSÁVEL, pelo esclarecimento de dúvidas e por viabilizar a calibração do equipamento e aos demais funcionários por me receberem com tamanha cordialidade;

À **TEREZA CRISTINA DA SILVA**, BIÓLOGA, DOUTORA EM CIÊNCIAS PELA USP, pelos ensinamentos sobre as análises microscópicas realizadas nesse experimento;

À **MARTA DOS REIS, SANDRA DA SILVA e SILVANA DE ASSIS**, SECRETÁRIAS DA DISCIPLINA DE CIRURGIA PLÁSTICA E DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA TRANSLACIONAL DA UNIFESP, pelo auxílio em cada etapa a ser cumprida;

AO SR. **ANTÔNIO RODRIGUES DOS SANTOS (TONINHO)**, BIOTERISTA DO BIOTÉRIO CENTRAL DA UNIFESP, pelas orientações e pelo cuidado prestado aos animais durante a execução do experimento;

AO PROF. **JOSÉ CARLOS DE AQUINO**, BACHAREL E LICENCIADO EM LETRAS E BACHAREL EM DIREITO PELA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP), pelas correções ortográficas realizadas nessa dissertação;

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

**AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA  
TRANSLACIONAL DA UNIFESP**, por ter viabilizado a bolsa de estudos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).



*“Eu sei,  
Que os sonhos são pra sempre.  
Eu sei,  
Aqui no coração...  
Eu vou ser mais do que eu sou  
Pra cumprir as promessas que eu fiz  
Porque eu sei que é assim  
Que os meus sonhos dependem de mim*

*Eu vou tentar, sempre  
E acreditar que sou capaz  
De levantar uma vez mais.  
Eu vou seguir, sempre  
Saber que ao menos eu tentei  
E vou tentar mais uma vez  
Eu vou seguir...”*

*(Marina Elali)*

*(Compositor: Gloria Estefan)*

# SUMÁRIO

DEDICATÓRIA .....	ii
AGRADECIMENTOS.....	viii
LISTAS .....	xvi
RESUMO .....	xx
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVO .....	6
3. LITERATURA .....	8
4. MÉTODOS .....	22
5. RESULTADOS .....	37
6. DISCUSSÃO .....	41
7. CONCLUSÃO .....	51
8. REFERÊNCIAS.....	53
NORMAS ADOTADAS.....	60
ABSTRACT.....	62
APÊNDICES.....	64
ANEXOS.....	75
FONTES CONSULTADAS .....	80

**LISTAS**

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>ANOVA</b>	<i>ANalysis Of VAriance</i> (análise de variância)
<b>CEAV</b>	Corrente Elétrica de Alta Voltagem
<b>Cedeme</b>	Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais de Medicina e Biologia
<b>CEP</b>	Comitê de Ética em Pesquisa
<b>cm</b>	centímetro
<b>cm<sup>3</sup></b>	centímetro cúbico
<b>Concea</b>	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
<b>EPM</b>	Escola Paulista de Medicina
<i>et al.</i>	<i>et alli</i> (e colaboradores)
<b>f</b>	frequência
<b>GEAl</b>	grupo de estimulação alternada
<b>GEAn</b>	grupo de estimulação anódica
<b>GEC</b>	grupo de estimulação catódica
<b>GS</b>	grupo simulação
<b>g</b>	grama (s)
<b>h</b>	horas
<b>Hz</b>	Hertz
<b>J</b>	Joule

<b>J/cm<sup>2</sup></b>	Joule por centímetro ao quadrado
<b>Laser</b>	<i>light amplification of stimulated emissions of radiation</i> (amplificação da luz por emissão estimulada de radiação)
<b>LLLT</b>	<i>Low Level Laser Therapy</i> (terapia a laser de baixa intensidade)
<b>LMV</b>	limiar motor visível
<b>mA</b>	miliAmpère
<b>min</b>	minuto (s)
<b>mL</b>	mililitro (s)
<b>mm</b>	milímetro (s)
<b>mm<sup>2</sup></b>	milímetro ao quadrado
<b>MHz</b>	megahertz
<b>mJ</b>	milijoule
<b>mW</b>	megawatt
<b>nm</b>	nanômetro (s)
<b>pps</b>	pulsos por segundo
<b>s</b>	segundos
<b>Sbcal/Cobea</b>	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório / Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
<b>sem</b>	semana(s)
<b>T</b>	tempo de duração do pulso

<b>Unifesp</b>	Universidade Federal de São Paulo
<b>US</b>	Ultrassom
<b><math>\mu\text{A}</math></b>	microAmpère
<b><math>\mu\text{A}/\text{cm}^2</math></b>	microAmpère por centímetro ao quadrado
<b><math>\mu\text{m}</math></b>	micrômetro
<b><math>\mu\text{s}</math></b>	microsegundos
<b>V</b>	volt(s)
<b><math>\text{W}/\text{cm}^2</math></b>	Watts por centímetro ao quadrado
<b><math>^\circ</math></b>	graus
<b><math>^\circ\text{C}</math></b>	graus Celsius
<b>%</b>	porcentagem
<b><math>\pm</math></b>	mais ou menos
<b>+</b>	mais
<b><math>\leq</math></b>	menor ou igual
<b><math>\geq</math></b>	maior ou igual
<b>=</b>	igual

**RESUMO**

## RESUMO

**Introdução:** A alta incidência das lesões tendíneas e a dificuldade do reparo tecidual tornam relevante o estudo de agentes eletrofísicos como a corrente elétrica de alta voltagem na cicatrização do tendão. **Objetivo:** Verificar a eficácia da corrente elétrica de alta voltagem na cicatrização de ruptura parcial do tendão do calcâneo em ratos. **Métodos:** Quarenta ratos machos da linhagem Wistar foram distribuídos ao acaso entre quatro grupos de dez animais cada um: simulação, estimulação catódica, estimulação anódica e estimulação alternada (três dias de estimulação catódica seguido por mais três dias de estimulação anódica). O tendão do calcâneo foi submetido a um trauma direto pela queda livre de uma barra metálica. Durante seis dias consecutivos, foram tratados com a corrente elétrica de alta voltagem a uma frequência de 120 pps, 30 minutos diários no limiar sensorial e a polaridade correspondente a cada grupo sendo que no grupo simulação, os eletrodos foram posicionados, porém o equipamento não foi ligado. No sétimo dia após a lesão, os tendões foram retirados e encaminhados para o preparo de lâminas histológicas para análise de birrefringência, picrosírius e quantificação dos vasos sanguíneos. **Resultados:** Não foi observada diferença significativa entre os grupos quanto ao alinhamento do colágeno, quanto ao tipo de colágeno I e III e quanto à quantidade de vasos sanguíneos. **Conclusão:** A aplicação diária da corrente elétrica de alta voltagem durante 6 dias consecutivos não foi eficaz na síntese de colágeno e angiogênese após ruptura parcial do tendão do calcâneo em ratos.



## **1. INTRODUÇÃO**

## 1. INTRODUÇÃO

O tendão é um tecido conjuntivo denso modelado localizado entre estruturas contráteis (músculo) e não contráteis (osso). Tem como função transmitir a força produzida pelo músculo para o osso, tornando possível o movimento articular. É constituído por fibroblastos, fibrócitos e matriz extracelular, na qual estão imersas proteínas fibrosas de colágeno e elastina, proteoglicanas, glicoproteínas e mucopolissacarídeos. O colágeno é o maior componente da matriz extracelular, compreendendo cerca de 86% a 95% do peso úmido do tendão. As fibrilas de colágeno são longas, cristalinas e estão alinhadas, o que confere alta resistência mecânica para forças de tração (FILLIPIN *et al.*, 2005; SALATE *et al.*, 2005; ARRUDA *et al.*, 2007).

As lesões tendíneas são problemas crescentes na medicina esportiva e na prática ortopédica (MOS *et al.*, 2009). Apresentam-se como uma condição inflamatória no paratendão conhecida como paratendinite, ou ainda como um processo degenerativo das fibras de colágeno conhecido como tendinose, além das rupturas parcial ou total. (JEROME, MONCAYO & TERK, 2010). Podem estar associadas a diversos fatores como idade, redução da perfusão vascular, variação anatômica, ocupação, nível e tipo de atividade esportiva. (RILEY *et al.*, 2005). A fisiopatogenia de rupturas tende a ser multifatorial: trauma, doenças sistêmicas, medicações e obesidade (AXIVAL e ANDERSON, 2013).

A cicatrização do tendão após lesão é funcionalmente inferior quando comparada ao seu estado pré-lesão, sendo assim, segue com maior risco de lesões recorrentes. A vascularização pobre é um dos principais fatores para a limitada capacidade de cicatrização (MOS *et al.*, 2009).

A alta incidência dessas lesões e o fato de que o processo de cicatrização pode não ocorrer por completo e por tempo prolongado, justifica a necessidade de estudos para melhorar a cicatrização tendínea e reduzir o tempo de reabilitação e o retorno às atividades funcionais (FARCIC *et al.*, 2013).

Pesquisadores têm estudado agentes eletrofísicos na cicatrização do tendão como: ultrassom (CUNHA, PARIZZOTO e VIDAL, 2001; KOEKE *et al.*, 2005; WOOD *et al.*, 2010; FARCIC *et al.*, 2013), terapia a laser de baixa intensidade (LLLT) (ARRUDA *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2009; WOOD *et al.*, 2010; NEVES *et al.*, 2011) e estimulação elétrica (ARAUJO *et al.*, 2007; CHAN *et al.*, 2007).

O uso de correntes elétricas que desenvolvem ações terapêuticas nos tecidos biológicos ou possibilitam a manutenção de suas funções tem sido extensamente preconizado como recurso fisioterapêutico em nosso país (DAVINI *et al.*, 2005). Há evidências de que as células responsáveis pela atividade osteogênica e fibrogênica podem ser estimuladas com aplicação apropriada de campos elétricos e eletromagnéticos, o que favorece a cicatrização tecidual em animais (OWOEYE *et al.*, 1987).

A corrente elétrica de alta voltagem (CEAV) é uma corrente terapêutica utilizada em alguns países da Europa, assim como nos Estados Unidos (DAVINI *et al.* 2005). As primeiras publicações científicas datam da década de 1980 (MOHR, AKER & LANDRY, 1987; OWOEYE *et al.* 1987).

---

Diversos estudos têm mostrado a importância clínica da CEAV no tratamento de úlceras cutâneas crônicas de pressão, vasculares arteriais e venosas ou déficits neurológicos periféricos, uma vez que acelerou o processo cicatricial representado pela diminuição do tamanho e melhora do aspecto das feridas (KLOTH & FEEDAR, 1988; FEEDAR, KLOTH & GENTZKOW, 1991; GRIFFIN *et al.*, 1991; GOLDMAN *et al.*, 2003; GOLDMAN *et al.*, 2004; HOUGHTON *et al.*, 2003; DAVINI *et al.*, 2005; BURDGE *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2010; HOUGHTON *et al.*, 2010; FRANEK *et al.*, 2012). Os mecanismos pelos quais a CEAV favorece a cicatrização de úlceras crônicas não são bem elucidados, mas a hipótese mais aceita é que haja uma ação bacteriostática como foi observado nos estudos *in vitro* de KINCAID & LAVOIE (1989), SZUMINSKI *et al.* (1994) e MERRIMAN *et al.* (2004), além de aumentar a microcirculação em feridas isquêmicas como observado em GOLDMAN *et al.* (2002) e GOLDMAN *et al.* (2004).

Além disso, a CEAV tem se mostrado eficaz na diminuição da severidade das lesões por esforço repetitivo em punho (diminuição da dor e edema e aumento da amplitude de movimento e força de preensão) (STRALKA, JACKSON & LEWIS, 1998), diminuição do edema crônico pós mastectomia (GARCIA & GUIRRO, 2005) e na diminuição da dor de indivíduos com disfunção temporomandibular (RODRIGUES-BIGATON *et al.*, 2008; ALMEIDA, BERNI & RODRIGUES-BIGATON, 2009; GOMES *et al.*, 2012).

SNYDER *et al.* (2010) realizaram uma revisão sistemática de estudos experimentais referente a CEAV e o edema após trauma direto e observaram sua eficácia na contenção de formação do mesmo. O mecanismo de ação pode estar relacionado à redução da permeabilidade

dos microvasos para proteínas plasmáticas, conforme observado por REED *et al.* (1988) e TAYLOR *et al.* (1997).

Somente OWOEYE *et al.* (1987) estudaram o efeito da CEAV na cicatrização tendínea e observaram que a polaridade positiva aumentou a resistência do tendão do calcâneo à ruptura após tenotomia em ratos. Devido à importância dessa corrente na cicatrização tecidual e à escassez de estudos na cicatrização do tendão, torna-se relevante investigar se a CEAV favorece a cicatrização do tendão do calcâneo após ruptura parcial, bem como o alinhamento, o tipo de colágeno e/ou a angiogênese.

## **2. OBJETIVO**

## **2. Objetivo**

Avaliar o efeito da corrente elétrica de alta voltagem na síntese de colágeno e angiogênese após ruptura parcial do tendão do calcâneo em ratos.

### **3. LITERATURA**



### **3. LITERATURA**

Diante da escassez de estudos científicos de primeira ordem (apenas um artigo), que correlacionassem diretamente a aplicação da corrente elétrica de alta voltagem (CEAV) com o tecido tendíneo, optou-se por também incluir, na literatura, estudos de segunda ordem, ou seja, estudos experimentais que utilizaram a CEAV em tecidos não tendíneos ou estudos experimentais com outros agentes eletrofísicos na cicatrização do tendão.

#### **3.1 ESTUDO DE PRIMEIRA ORDEM: CORRENTE ELÉTRICA DE ALTA VOLTAGEM NA CICATRIZAÇÃO TENDÍNEA**

OWOEYE *et al.* (1987) avaliaram a polaridade anódica e catódica da CEAV na cicatrização de tendões do calcâneo tenotomizados de ratos. Foram utilizados 60 ratos machos Sprague-Dawley (260 a 405 g) nos quais foram realizadas tenotomias seguidas por suturas nos tendões do calcâneo direito. Os animais foram randomizados em 3 grupos de 20 animais cada um: polaridade anódica, polaridade catódica e sem estimulação. Foram utilizados eletrodos de fio de aço inoxidável. O eletrodo ativo foi posicionado sobre a lesão e o eletrodo dispersivo 5 mm no sentido cefálico.

O tratamento foi iniciado um dia após o procedimento cirúrgico e manteve-se por 14 dias consecutivos durante 15 min, frequência (f) de 10 pps, amplitude de 75  $\mu$ A. A avaliação foi realizada pela tensão (carga em gramas) necessária para provocar ruptura do tendão do calcâneo após sutura e tratamento. Os autores observaram que os tendões tratados com a polaridade anódica demonstraram ser mais resistentes ao rompimento quando comparados ao grupo tratado com polaridade catódica ou grupo sem estimulação. Os tendões sem estimulação tornaram-se mais resistentes que os tendões tratados com polaridade catódica.

## **3.2 ESTUDOS DE SEGUNDA ORDEM**

### **3.2.1 Corrente elétrica de alta voltagem em outros tecidos**

MOHR, AKERS & LANDRY (1987) estudaram os efeitos da CEAV na redução do edema no membro pélvico de ratos. Foram utilizados 40 ratos Sprague-Dawley (156 a 240 g), distribuídos em dois grupos de 20 animais cada um (grupo controle e grupo tratado). O trauma foi causado pela queda de uma peso de 50 g, 0,5 cm de diâmetro a uma distância vertical de 50 cm, sobre o dorso do membro pélvico entre a articulação tarsometatársica e o maléolo lateral. Os parâmetros da CEAV utilizados foram: duração de pulso (T) de 65 a 75  $\mu$ s, f = 80 pps, amplitude de 40

volts (V) limiar sensorial, por um tempo de 20 min durante 3 dias consecutivos, sendo avaliados pré-trauma e 24, 48, 72 e 96 h da indução do trauma mecânico. Os autores concluíram que não houve diferença significativa na análise volumétrica pré e pós-tratamento entre os grupos em nenhum dos períodos avaliados.

MOHR, AKERS & WESSMAN (1987) testaram o efeito da CEAV na velocidade do fluxo sanguíneo no membro pélvico do rato. Primeiramente, foram testados 4 tipos de frequência (2, 20, 80 e 120 pps), com polaridade catódica e amplitude de 90 V. Foram utilizados 15 ratos Sprague-Dawley (325 a 500 g). O eletrodo dispersivo foi posicionado na região dorsal e o eletrodo ativo no membro pélvico esquerdo. Todos os animais receberam as frequências de tratamento randomizadas durante três minutos sendo que a troca ocorreu após o fluxo sanguíneo retornar ao nível de controle. Os autores verificaram que todas as frequências aumentaram o fluxo sanguíneo. Logo após foram utilizados 5 ratos Sprague-Dawley (395 a 465 g), que receberam CEAV com  $f = 20$  pps, amplitude a 90 V, durante 3 min para testar a polaridade catódica e anódica. Por último foi testada a amplitude (20 a 200 V) a  $f = 20$  pps e polaridade catódica. Os autores observaram que a polaridade catódica, a polaridade anódica e o aumento da amplitude aumentaram o fluxo sanguíneo.

REED (1988) investigou se a EAV (estimulação de alta voltagem) reduzia a permeabilidade vascular para proteínas plasmáticas na simulação

---

do edema agudo. Quatorze hamsters machos (80-120 g), foram submetidos à técnica de eversão da bochecha esquerda no microscópio de fluorescência e receberam 5 % de fluoresceína isotiocianato (FITC - dextran) intravenoso. Foi quantificado o extravasamento desse marcador para o interstício durante 25 min, a cada 5 min pré e após a indução de histamina aplicada simultaneamente com a EAV com as seguintes amplitudes: 10 V (limiar sensorial), 30 V, 50 V (limiar motor) além do grupo sem estimulação. A histamina aumentou a permeabilidade dos vasos em todos os grupos, no entanto o extravasamento de FITC - dextran foi menor nos grupos que receberam a EAV de 30 ou 50 V ( $f = 120$  pps e polaridade catódica). Reed (1988) hipotetizou que a EAV reduz a permeabilidade microvascular para proteínas plasmáticas e esse pode ser o mecanismo pelo qual ela contém a formação do edema.

MENDEL, WYLEGALA & FISH (1992) investigaram os efeitos da CEAV na contenção de formação do edema induzido por impacto direto em 18 ratos Zucker Lean e 6 Sprague Dawley (300-593 g). O impacto direto foi realizado pela queda de uma barra de aço de 85,5 g a uma altura de 30 cm sobre a região plantar, distal ao maléolo. O tratamento foi iniciado 5 min após a lesão em 4 séries de 30 min com 30 min de repouso, com  $T = 5-8 \mu s$ ,  $f = 120$  pps e a amplitude variou de 20 a 50 V (limiar sensorial / 90% do limiar motor visível). Foram utilizados eletrodos de carbono de borracha sendo que o dispersivo foi colocado sobre a parede abdominal depilada e o ativo (polaridade negativa) foi imerso no béquer com água, no qual o membro pélvico foi imerso enquanto os animais estavam suspensos por um tecido. A volumetria foi realizada pré-lesão,

---

após lesão, a cada tratamento e período de repouso. Os autores observaram que os membros pélvicos tratados apresentaram edema significativamente menor quando comparados aos membros pélvicos não tratados.

TAYLOR *et al.* (1992), também, encontraram diferença na contenção da formação do edema induzido por trauma em 24 sapos utilizando a CEAV, com a polaridade catódica sobre o edema. A volumetria do membro tratado foi efetuada pré e pós-indução do trauma mecânico e durante as primeiras 24 horas pós-lesão (1.5, 3, 4.5, 8, 17, 20 e 24 h). O protocolo utilizado foi  $T = 5 - 8 \mu s$ ,  $f = 120$  pps, e amplitude de 30 a 40 V, durante sessão única de 30 min. Os autores observaram diferença significativa após aplicação imediata e, também, 1.5, 3, 4 e 5 h após tratamento.

KARNES *et al.* (1995) examinaram o efeito da polaridade da CEAV no diâmetro das arteríolas de 17 hamsters Syrian Golden (92-134 g). As arteríolas foram dilatadas com histamina. Cinco animais foram tratados com polaridade negativa, outros cinco com polaridade positiva, quatro com ambas polaridades e três não receberam tratamento.  $T = 5 - 8 \mu s$ ,  $f = 120$  pps e 30 min de tratamento no limiar sensorial, após 3 min de histamina (28 a 29 V). Os autores verificaram que a polaridade anódica diminuiu o diâmetro de arteríolas, diferente da polaridade catódica que não mostrou alteração.

---

TAYLOR *et al.* (1997) verificaram o extravasamento de macromoléculas dos capilares de roedores após aplicação de protocolos de estimulação elétrica. Cinquenta e três hamsters Syrian Golden (100-200 g), submetidos à inflamação induzida por histamina, foram distribuídos em 7 grupos cada um: grupo controle; CEAV catódica (90 %, 50 % e 10 % LMV); CEAV anódica (90 % e 50 % LMV); corrente alternada (2500 Hz; 50 *bursts* por segundo, 90% LMV); O tratamento foi realizado durante 5 min a  $f = 120$  pps e  $T = 5 - 8 \mu s$ . Os animais receberam injeções de Fluoresceína L. Dextrano, sendo que o extravasamento molecular foi determinado por análise computadorizada de imagens de microscopia de fluorescência. Os resultados sugeriram que o extravasamento foi menor no grupo tratado com CEAV catódica a 90% e 50% do LMV e, também, no grupo tratado com CEAV anódica a 90% do LMV. Dessa maneira, os autores concluíram que a CEAV catódica e anódica, exceto a corrente alternada, reduziram a formação de edema, pois o extravasamento macromolecular foi diminuído por meio da inibição da permeabilidade vascular.

DOLAN *et al.* (2005) examinaram o efeito do ibuprofeno, CEAV e simultaneamente ibuprofeno e CEAV na contenção de formação do edema após impacto no membro pélvico de 21 ratos Zucker Lean ( $288 \pm 55$  g) que foram distribuídos em três grupos: ibuprofeno, CEAV (120 pps, 90% LMV; 3 h contínuas de tratamento) e ibuprofeno + CEAV. O modelo de impacto no membro pélvico, a técnica de aplicação da corrente e a medição do volume do membro pélvico foram os mesmo utilizados por MENDEL, WYLEGALA & FISH (1992) como descrito anteriormente. O volume foi

mensurado pré e pós impacto e a cada 30 min durante 4 h. Os autores observaram a contenção de formação do edema em todos os grupos tratados em relação ao grupo controle (membro pélvico contralateral ao membro tratado com CEAV, ambos lesados). Não houve diferença entre os três grupos de intervenção.

TEODORI *et al.* (2011) investigaram a influência da CEAV sobre a morfologia e a função do nervo isquiático regenerado após lesão por esmagamento em ratos. Vinte ratos machos Wistar ( $210,8 \pm 10,79$  g) foram randomizados em 4 grupos de 5 animais cada um. Controle (sem lesão e sem CEAV), desnervado (lesão por esmagamento do nervo isquiático), desnervado + CEAV e simulação (sem lesão com CEAV). O tratamento foi iniciado 24 h após lesão com  $f = 100$  pps,  $T = 20$   $\mu$ s com 100  $\mu$ s de intervalo, polaridade negativa, 30 min, 5 dias por semana, durante 21 dias. O eletrodo ativo de carbono silicone foi posicionado sobre a cicatriz cirúrgica e o eletrodo dispersivo paralelo ao ativo a um cm. O diâmetro axonal foi maior no grupo CEAV que no grupo desnervado. O diâmetro das fibras e a espessura das bainhas de mielina foram maiores no grupo CEAV que no desnervado. A recuperação funcional (Análise da marcha) no 14º dia pós-operatório foi melhor no grupo CEAV. A densidade de área de macrófagos e tecido conjuntivo foi menor no grupo CEAV e não houve diferença quanto ao número de vasos sanguíneos. Sendo assim, os autores concluíram que a CEAV acelerou o reparo neural.

### **3.2.2 Agentes eletrofísicos na cicatrização tendínea**

#### **3.2.2.1 Corrente elétrica na cicatrização tendínea**

CHAN, FUNG & NG (2007) avaliaram a estimulação de microamperagem de baixa voltagem na cicatrização do tendão do calcâneo em ratos. Quatorze ratos Sprague Dawley foram randomizados em grupo controle (simulação do tratamento) e grupo tratamento com sete animais cada um. Após o 6º dia de pós-operatório de tenotomia parcial sem sutura, no grupo tratamento foi utilizada a corrente elétrica assimétrica, quadrada e bifásica com 10 pps, 2,5 V e 100  $\mu\text{A} / \text{cm}^2$ , durante 30 min, 6 x / sem até completar 22 tratamentos. Os autores verificaram que a estimulação de microamperagem de baixa voltagem melhorou a força tênsil do tendão do calcâneo.

#### **3.2.2.2 Laser na cicatrização tendínea**

SALATE *et al.* (2005) investigaram o In Ga-Al-P *laser* 660 nm na angiogênese em ruptura parcial do tendão do calcâneo em ratos. A lesão do tendão do calcâneo foi causada pela queda de uma barra de 186 g a uma altura de 20 cm. Noventa ratos machos Wistar (330 – 370 g) foram



---

distribuídos em 3 grupos de 32 animais cada um: 3, 5 e 7 dias. Dentro de cada um desses grupos, os animais foram distribuídos em 4 grupos de 8 animais cada um: LLLT (terapia a *laser* de baixa intensidade) a 10 mW, LLLT a 40 mW, simulação e grupo controle. Os autores observaram que o grupo LLLT a 40 mW com 3 dias de tratamento aumentou o número de vasos quando comparado aos outros grupos. Cinco dias de tratamento em ambos os grupos de LLLT apresentaram maior número de vasos quando comparados ao grupo simulação e ao grupo controle. Com 7 dias de tratamento, houve uma queda no número de vasos mas ainda assim o grupo LLLT a 40 mW apresentou quantidade de vasos maior que o grupo controle. Logo os autores concluíram que a LLLT promoveu a neovascularização.

OLIVEIRA *et al.* (2009) avaliaram o efeito da LLLT no processo de cicatrização tecidual do tendão do calcâneo submetido a lesão parcial. Sessenta ratos machos da linhagem Wistar (260 – 320 g) foram distribuídos em 5 grupos de 12 animais cada um: controle (os animais não foram submetidos a lesão nem receberam tratamento), simulação (os animais foram submetidos a lesão e receberam a simulação do tratamento), e 3 grupos em que os animais foram submetidos a lesão e receberam tratamento com LLLT (830 nm, GaAsAl, potência de 40 mW, densidade de potência de 1.4 W/cm<sup>2</sup>, fluxo de 4 J/cm<sup>2</sup> e energia total de 0,12 J) 3, 5 e 7 dias respectivamente. A lesão do tendão do calcâneo foi causada pela queda livre perpendicular de uma barra de 186 g a uma altura de 20 cm. O grupo que recebeu cinco dias de tratamento demonstrou alinhamento das fibras de colágeno assim como o grupo controle, sendo assim os autores

concluíram que a LLLT favoreceu a cicatrização tecidual após ruptura parcial do tendão do calcâneo.

NEVES *et al.* (2011) avaliaram o efeito das diferentes potências da LLLT no reparo de ruptura parcial do tendão do calcâneo em ratos. Foram utilizados 50 ratos machos da linhagem Wistar (260-320 g) no qual, após serem submetidos a lesão do tendão do calcâneo por meio do trauma direto de uma barra de 186 g a 20 cm de altura, foram randomizados em 5 grupos de 10 animais cada um: simulação, 40, 60, 80 e 100 mW. O tratamento foi realizado durante 5 dias consecutivos. A terapia a *laser* de baixa intensidade não apresentou diferença no realinhamento das fibras de colágenos entre diferentes potências. Potências, a partir de 60 mW, aumentaram a quantidade de colágeno tipo III. Potência de 80 mW aumentou a quantidade de colágeno tipo I e III.

### **3.2.2.3 Ultrassom na cicatrização tendínea**

KOEKE *et al.* (2005) compararam a eficácia dos tratamentos: aplicação tópica de hidrocortisona, ultrassom e fonoforese no processo de reparo do tendão do calcâneo de ratos após tenotomia sem sutura. Quarenta ratos machos da linhagem Wistar (200 - 250 g) foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos de 8 animais cada um: controle (os animais não

foram submetidos a lesão nem receberam tratamento), simulação do US (Ultrassom), US desligado, porém, o gel continha 10% de hidrocortisona, US pulsado (1 MHz; 0,5 W/cm<sup>2</sup>; 300 s) e fonoforese: US pulsado (1MHz; 0,5 W/cm<sup>2</sup>; 300 s) com 10% de hidrocortisona no gel condutor. Foram realizados 10 tratamentos em 12 dias, pois, após o 5º tratamento consecutivo houve 2 dias de repouso. Os autores verificaram que os grupos tratados com US e fonoforese foram os grupos que apresentaram significância no maior alinhamento das fibras colágenas.

FARCIC *et al.* (2013) avaliaram o efeito dos diferentes tempos de aplicação do US na organização das fibras de colágeno no tendão do calcâneo em ratos após tenotomia. Quarenta ratos machos da linhagem Wistar (300 ± 45 g) foram randomizados em 5 grupos de 8 animais cada um: controle (sem tenotomia e tratamento), tenotomia (tenotomia sem US), US1 (tenotomia + US com 1 min/área do transdutor = 2 min de tratamento), US2 (tenotomia + US com 2 min/área do transdutor = 4 min de tratamento), US3 (tenotomia + US com 3 min/área do transdutor = 6min de tratamento). Foram realizados 10 tratamentos com US pulsado (1 MHz; 0,5 W/cm<sup>2</sup>) com 1 dia de repouso após o 5º dia consecutivo. Os autores observaram que o grupo submetido a 3 min de tratamento por área foi o mais favorecido quanto ao alinhamento das fibras de colágeno.

#### **3.2.2.4 Comparação da aplicação associada de diferentes agentes eletrofísicos na cicatrização tendínea**

ARAÚJO *et al.* (2007) verificaram a diferença entre as aplicações de ultrassom, estimulação elétrica e LLLT na cicatrização de tendões do calcâneo tenotomizados e suturados. Vinte e oito ratos fêmeas da linhagem Wistar (250-300 g) foram randomizados entre 4 grupos: controle, US (Pulsado, 1 MHz, 1 W/cm<sup>2</sup>, 100 Hz, 50%, 60 s), estimulação elétrica (corrente bifásica, pulsada, retangular e simétrica; 2 mA, 100 µs, 50 Hz, 10min) e LLLT (4 J/cm<sup>2</sup>, 90 s). Após a sutura, os membros pélvicos foram imobilizados por 3 meses. O imobilizador foi retirado somente para a realização do tratamento que iniciou no mesmo dia após procedimento cirúrgico, cinco vezes por semana durante cinco semanas. Amostras foram coletadas no 14º, 23º e 34º dias após a lesão, respectivamente, 9, 16 e 24 tratamentos. A quantidade de capilares foi maior no 14º dia no grupo tratado com a corrente elétrica. Quanto aos fibroblastos, esses foram maiores também no grupo tratado com a corrente elétrica, porém no 23º dia pós-lesão. Sendo assim, com os parâmetros adotados, os autores concluíram que o agente eletrofísico que mais favoreceu o processo cicatricial foi a corrente elétrica.

WOOD *et al.* (2010) investigaram se o uso isolado ou combinado de US e LLLT favoreciam a cicatrização do tendão do calcâneo em ratos após impacto direto com uma barra de 186 g a 20 cm de altura. Cinquenta ratos machos da linhagem Wistar (260-320 g) foram randomizados em 5 grupos de 10 animais cada um: controle (não receberam tratamento), US, LLLT,

US + LLLT e LLLT + US. Parâmetros utilizados no US (3 MHz, 20%, 100 Hz, 1W/cm<sup>2</sup>) e na LLLT (830 mW, 1.4 W/cm<sup>2</sup>). O tratamento foi realizado durante 5 dias consecutivos. Os autores observaram que o alinhamento do colágeno foi maior no grupo tratado com US e a porcentagem de colágeno tipo I foi significativamente maior nos grupos US, LLLT e LLLT + US quando comparados com o grupo controle.

## **4. MÉTODOS**

## 4. MÉTODOS

### 4.1 DESENHO DE PESQUISA

O presente estudo é primário, intervencional, experimental, prospectivo, analítico, controlado, aleatorizado, cego e foi realizado em centro único. Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp) – EPM (Escola Paulista de Medicina) - CEP 1613/10 (Apêndice 1).

### 4.2 AMOSTRA

Foram utilizados 40 ratos da linhagem Wistar EPM-1, (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia*, *Mammalia*), machos, adultos, entre 8 e 9 semanas de idade, e massa corpórea entre 250 e 320 g, oriundos do Biotério Central do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais para Medicina e Biologia (CEDEME) da Unifesp. As medidas descritivas como

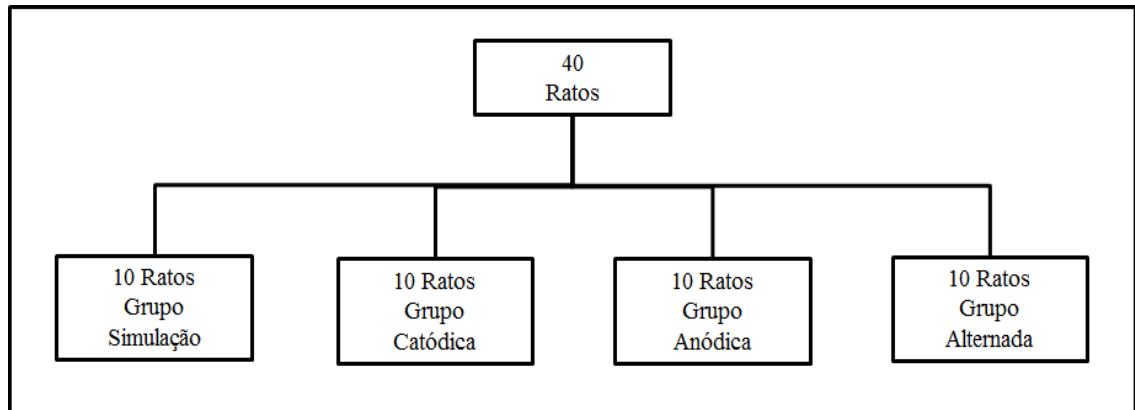
média, desvio-padrão, valores mínimo e máximo da massa corporal estão representadas no apêndice 2.

Os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia pela Disciplina de Cirurgia Plástica da Unifesp (Titular Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lydia Masako Ferreira), em que os animais se aclimataram ao ambiente por 15 dias antes do início do experimento, foram mantidos individualmente em gaiolas de polipropileno com tampa metálica própria para dispor o recipiente com água e ração balanceada *ad libitum*, permaneceram em ambiente com temperatura controlada a 22 °C e ciclo claro/escuro de 12 h conforme preconizado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea) e Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Sbcal/Cobea) Lei 11794/2008.

### **4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

Os 40 animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos de 10 animais cada um, por meio de um sorteio com a numeração de 1 a 40 e sorteio computadorizado pelo *site* [www.randomization.com](http://www.randomization.com) (Figura 1). Após os animais serem submetidos ao procedimento de lesão, foi realizado um sorteio com a numeração de 1 a 40 para que eles fossem identificados e direcionados aos seus respectivos grupos predeterminados pela randomização realizada pelo *site*.





**Figura 1. Distribuição dos animais em relação aos grupos**

Os 40 ratos foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos de 10 animais cada um (Grupo simulação, grupo estimulação catódica, grupo estimulação anódica e grupo estimulação alternada)

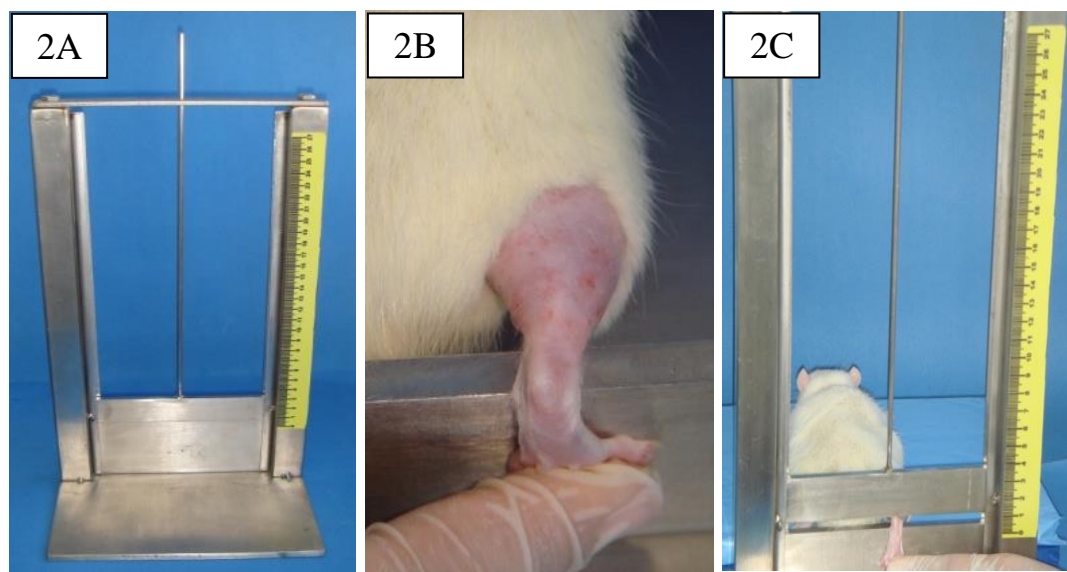
#### 4.4 PROCEDIMENTO DA LESÃO

Os animais foram anestesiados, inicialmente, com 0,2 cm<sup>3</sup> de cloridrato de ketamina (Dopalen<sup>®</sup>) (Anexo 1), associado a 0,1 cm<sup>3</sup> de cloridrato de xilazina (Anasedan<sup>®</sup>) (Anexo 2), por via intraperitoneal. Para aplicação do anestésico, o animal foi retirado da gaiola e contido manualmente pela região dorsal. A aplicação foi feita utilizando seringa de 1 cm<sup>3</sup> e agulha hipodérmica de 45 por 13 mm.

Após a indução anestésica, os animais foram posicionados em decúbito ventral sobre um bloco de poliestireno (Isopor<sup>®</sup>) plastificado (30 x 20 x 2 cm), para a realização da epilação manual do pelo ao redor do tendão do calcâneo do membro pélvico direito e região dorsal, em área de 6 cm látero-lateral por 4 cm cefalocaudal, adotado como limite cranial a

margem superior das escápulas. Após a epilação, o membro pélvico direito foi posicionado no equipamento lesionador (Figura 2A).

Foi realizada dorsiflexão do tornozelo do animal até o momento em que o seu dorso entrou em contato com a base do lesionador e formou ângulo de 90° (Figura 2B). Após 2 s, uma barra metálica de 186 g foi solta perpendicularmente, a uma altura de 20 cm sobre o tendão do animal (Figura 2C). A energia potencial de queda sobre o tendão foi de 364,9 mJ (SALATE *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2009; WOOD *et al.*, 2010; NEVES *et al.*, 2011).



**Figura 2. Modelo de lesão do tendão do calcâneo em ratos**

2A – Equipamento lesionador do tendão do calcâneo. 2B – Posicionamento do membro pélvico do rato na base do lesionador pré-lesão. 2C – Barra metálica do lesionador sobre o tendão do calcâneo do rato pós-lesão.

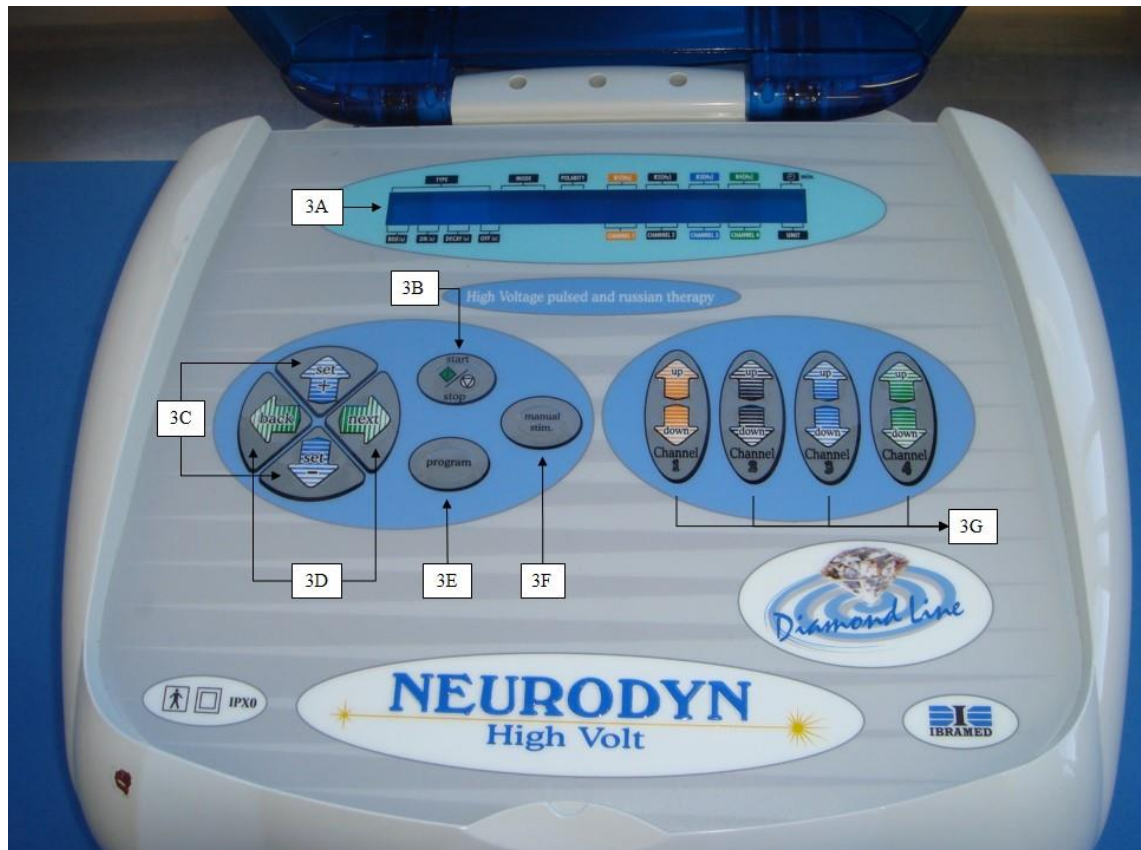
Após esse procedimento, foi realizado um sorteio com a numeração de 1 a 40 para que os animais fossem identificados e direcionados aos seus

respectivos grupos (simulação, estimulação catódica, estimulação anódica ou estimulação alternada) predeterminados pela randomização realizada pelo *site* como descrito anteriormente e posicionados sobre a bancada para receberem a simulação ou aplicação da CEAV.

#### **4.5 EQUIPAMENTO**

Para o presente estudo foi utilizado o equipamento *Neurodyn High Volt*® (corrente elétrica pulsada, monofásica, pico duplo e alta voltagem) da Indústria Brasileira de Equipamentos Médicos - Ibramed® (Amparo, Brasil) (Figura 3).

O equipamento *Neurodyn High Volt*® foi aferido e calibrado previamente ao início do estudo (Apêndice 4).



**Figura 3. Equipamento de corrente elétrica de alta voltagem**

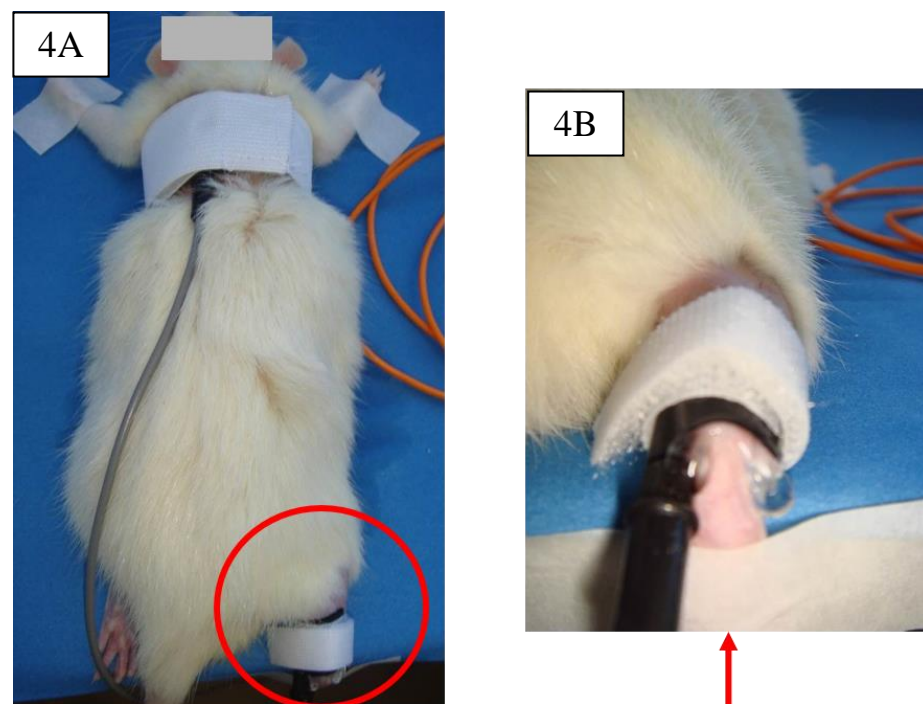
3A – Visor de cristal líquido alfanumérico; 3B – Tecla de controle *start / stop*; 3C – Tecla de controle *set+ / set-*; 3D – Tecla de controle *back / next*; 3E – Tecla de controle *program*; 3F – Tecla de controle *manual stimulation*; 3G – Controle de intensidade de corrente do canal 1, 2, 3 e 4.

#### 4.6 APLICAÇÃO DA CORRENTE ELÉTRICA DE ALTA VOLTAGEM

Após o procedimento de lesão e randomização, os animais foram posicionados em decúbito ventral sobre um bloco de poliestireno (Isopor®) plastificado (30 x 20 x 2 cm) para o posicionamento dos eletrodos de borracha de silicone que possuíam suas superfícies cobertas pelo próprio

gel (polímero carboxivinílico) condutor do estímulo elétrico (Carbogel®, São Paulo, Brasil).

O eletrodo dispersivo cujo tamanho foi de 3,0 x 5,0 cm foi colocado sobre o dorso do animal a partir da margem superior das escápulas e mantido por uma faixa elástica de 19,0 x 3,5 cm com tecidos aderentes (Velcro®) nas extremidades (Figura 4A). O membro pélvico direito foi mantido em dorsiflexão no bloco de poliestireno (Isopor®) plastificado (30 x 20 x 2 cm) com fita crepe e o eletrodo ativo de 1,5 x 1,5 cm foi colocado sobre o tendão do calcâneo e fixado por tecidos aderentes (Velcro®) de 4 x 1,5 cm (Figura 4B).



**Figura 4. Aplicação da corrente elétrica de alta voltagem.** 4A –Visão superior do posicionamento do eletrodo dispersivo na região dorsal e eletrodo ativo sobre o tendão do calcâneo no momento da aplicação da corrente. 4B –Visão ampliada do posicionamento do eletrodo ativo sobre o tendão do calcâneo no momento da aplicação da corrente.

No grupo simulação (GS): os eletrodos foram posicionados e mantidos por 30 min com o equipamento desligado durante 6 dias consecutivos.

Para os grupos de aplicação da CEAV, os parâmetros utilizados foram:  $T = 2$  pulsos gêmeos de  $5 \mu\text{s}$  cada um com intervalo de  $100 \mu\text{s}$  entre eles,  $f = 120$  pps, 30 min e a amplitude foi ajustada no limiar sensorial, sendo aumentada até 90% do limiar motor visível (LMV). As medidas descritivas como média, desvio-padrão, valores mínimo e máximo da variável amplitude estão representadas no apêndice 5. A aplicação da CEAV foi realizada durante seis dias consecutivos. A polaridade do eletrodo ativo, foi o único parâmetro específico para cada grupo. No grupo estimulação catódica (GCa) foi selecionada a polaridade negativa. No grupo estimulação anódica (GAN) foi selecionada a polaridade positiva e no grupo estimulação alternada (GAI) foi selecionada a polaridade negativa nos três primeiros dias e polaridade positiva nos três dias subsequentes. A ordem de aplicação das polaridades referente ao grupo estimulação alternada foi escolhida após realização do plano piloto (Apêndice 3).

#### **4.7 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E ANÁLISE DE DADOS**

No 7º dia após a lesão, os animais foram submetidos à anestesia geral e seus tendões do calcâneo direito foram retirados por dissecação desde a inserção calcânea até à junção musculotendínea. Após a retirada do tendão, os ratos foram submetidos à morte assistida indolor por hiperdosagem

---

anestésica seguida de secção dos vasos cervicais. Imediatamente, os tendões foram lavados em solução salina a 0,9 %, fixados em uma superfície de cortiça com um alfinete na junção osteotendínea e outro alfinete na junção musculotendínea. Em seguida, foram imersos em um tubo coletor com formol tamponado a 10 % por duas horas. Após esse período, cada tendão foi retirado da cortiça e envolto em um papel de filtro qualitativo com dimensão 3,0 x 2,0 cm e colocados dentro de uma caixa (cassete), que foi mantida submersa em formol tamponado a 10 % e encaminhados ao laboratório da Disciplina de Anatomia Patológica do Departamento de Morfologia da Unifesp para confecção das lâminas histológicas. O material coletado foi processado histologicamente conforme protocolo do Laboratório de Patologia da Unifesp e emblocado em parafina.

Os tendões inclusos nos blocos de parafina foram cortados longitudinalmente em cortes semisseriados, sete micrometros ( $\mu\text{m}$ ) para as lâminas de birrefringência, três  $\mu\text{m}$  para as lâminas de picrosírius e cinco  $\mu\text{m}$  para as lâminas coradas pela técnica histoquímica de hematoxilina e eosina, por meio de um micrótomo semi-eletrônico.

Cada lâmina histológica foi montada com uma série de três cortes consecutivos de cada tendão e cada grupo de animais foi representado por dez lâminas histológicas para cada tipo de análise, montadas com seus respectivos tendões.

Os cortes foram montados em lâminas histológicas sem cobertura por lamínulas e / ou coloração. Após serem montadas, todas as lâminas foram desparafinizadas e hidratadas novamente.

As lâminas de birrefringência foram mantidas dessa maneira.

Por sua vez, as lâminas com coloração de Picrosírius *red*, após a hidratação, foram colocadas em ácido pícrico saturado por 15 min, sendo

---

lavadas em água corrente e recebendo um banho de água destilada. Na sequência desse processo, foram imersas em solução de picrossirius por um período de uma hora. Novamente hidratadas, as lâminas passaram por quatro banhos de álcool e quatro banhos de xilol. Após esse processo foram colocadas as lamínulas em meio de montagem interlan.

As lâminas com cortes de 5  $\mu\text{m}$  encaminhadas para coloração histoquímica de hematoxilina e eosina foram previamente desparafinizadas com xilol em 3 banhos de 5 min e hidratadas com concentrações decrescentes de álcool 100 %, 95 %, 80 %, 70 % e água.

Para a coloração, as lâminas permaneceram 20 min imersas em Hematoxilina de Harry's; em seguida, foram lavadas em água corrente por uma vez. Após, foram lavadas 5 s com diferenciador para hematoxilina, novamente em água corrente por duas vezes em solução amoniacal por um minuto e em água corrente por uma vez.

Em seguida, as lâminas foram mergulhadas em eosina Y 1 % em álcool 95 % por 5 a 7 min. Foi realizada bateria de montagem: duas vezes em álcool 95 %, 3 vezes em álcool 100 % e 3 vezes em xilol. A montagem foi efetuada em meio permanente (Ervmount- Erviegas).

#### **4.7.1 Medidas de birrefringência**

Para análise, as lâminas histológicas foram tomadas ao acaso, classificadas por código, de modo a não ser identificada, no momento das medidas de birrefringência, a qual animal correspondia.



A análise das fibras de colágeno foi realizada utilizando uma de suas propriedades anisotrópicas ópticas: a birrefringência de forma ou textural, por microscopia de polarização.

Para a efetivação da análise de birrefringência total, as lâminas histológicas de cada grupo foram imersas por 30 min em água destilada (VIDAL *et al.*, 1987). Após o período de imersão, as lâminas foram cobertas por lamínulas, contendo água destilada nas interfaces. As medidas dos retardos ópticos (OR) em H<sub>2</sub>O representam a soma das birrefringências intrínseca e textural dos feixes de colágeno.

As medidas dos retardos ópticos foram obtidas pela microscopia de luz polarizada no microscópio Leica, com uma objetiva Pol 10x/0,22, condensador 0,9, compensador de Sénarmont  $y/4$ , luz monocromática = 546 nm, obtidas por meio de um filtro de interferência Leica; no Laboratório de Materiais Vítreos do Departamento de Engenharia de materiais da Universidade Federal de São Carlos UFSCar (Apêndice 6A).

Para a realização das medidas, o eixo longo do tendão foi mantido a aproximadamente, 45° em relação aos polarizadores do microscópio.

Foram obtidos dois valores da região central do tendão e foi calculada a média desses valores de acordo com cada grupo. Os valores obtidos em graus foram multiplicados por 3,03 para se obter o resultado em nanômetros (nm) (CUNHA *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2009; FARCIC *et al.*, 2013).

#### **4.7.2 Medidas de picrosírius**

Para análise, as lâminas histológicas foram tomadas ao acaso, classificadas por código, de modo a não ser identificada, no momento das medidas de picrosirius, a qual animal correspondia.

O tecido corado em picrosirius foi analisado em microscopia de luz polarizada (microscópio Nikon E-800<sup>®</sup>) quanto à presença de fibras colágenas tipo III (finas), polarização em verde, e tipo I (espessas), polarização em amarelo, vermelho alaranjado e vermelho (CAMARGO *et al.*, 2006). (Apêndice 6B)

A obtenção das imagens foi realizada pela câmera CoolSNAP-Procf (*Media Cybernetics Inc*<sup>®</sup>) acoplada ao microscópio. As medidas foram feitas em aumento de 100 vezes (objetiva de 10x), com auxílio do sistema computadorizado de imagens Image Pro-Plus<sup>®</sup> versão 4.5 (*Media Cybernetics Inc*<sup>®</sup>).

As áreas correspondentes a cada polarização foram somadas por lâmina e calculada a porcentagem de cada tipo de polarização em relação à área total analisada. Os resultados foram expressos em porcentagem média dos dois diferentes tipos de fibras colágenas.

#### **4.7.3 Morfometria para quantificação dos vasos sanguíneos**

Para análise, as lâminas histológicas foram tomadas ao acaso, classificadas por código, de modo a não ser identificada, no momento da quantificação dos vasos, a qual animal correspondia.

Nas lâminas coradas em hematoxilina e eosina foi realizada a quantificação dos vasos sanguíneos. A análise foi realizada na região central do tendão. As imagens analisadas foram obtidas em aumento de 100x (objetiva de 10x), pela câmera CoolSNAP-Procf (*Media Cybernetics Inc*<sup>®</sup>) acoplada a microscópio Nikon Eclipse-E800. Após a obtenção das imagens, o número de vasos da região central do tendão foram quantificados com auxílio do sistema computadorizado de imagens Image-ProPlus, versão 4.5 (*Media Cybernetics Inc*<sup>®</sup>). Em seguida, os vasos somados por lâmina foram divididos pela área central do tendão e obtido o número de vasos por mm<sup>2</sup> e, assim, foi calculado o número médio de vasos/mm<sup>2</sup> por grupo. Os resultados foram expressos em média e desvio-padrão (Apêndice 6C).

#### **4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados obtidos foram armazenados em um banco de dados no programa Microsoft Excel<sup>®</sup>, versão 2010 (Microsoft<sup>®</sup>) e a análise estatística dos resultados foi realizada por intermédio do programa R, versão 2.15.3.

Os dados quantitativos foram resumidos em médias, desvios-padrão, valores mínimos e máximos.

Para verificar se os dados apresentavam distribuição normal foi utilizado o teste *Shapiro-Wilk*.

Para avaliar o efeito dos grupos sobre as variáveis-resposta em estudo, empregou-se o teste de análise de variância com um fator fixo (ANOVA – *one way*). Foi adotado nível de 5% ( $p \leq 0,05$ ) para rejeição da hipótese de nulidade.

## **5. RESULTADOS**

## 5. RESULTADOS

O teste *Shapiro-Wilk* demonstrou que os dados apresentavam distribuição normal portanto, utilizou-se o teste de análise de variância com um fator fixo (ANOVA – *one way*).

Os dados obtidos pela análise de birrefringência (média dos valores de retardo óptico em nanômetros (nm), desvios-padrão, valores mínimo e máximo e nível descritivo) referente ao alinhamento do colágeno demonstram que quanto maior for o valor numérico do retardo óptico, melhor é o resultado do tratamento (Tabela 1). A distribuição dos valores dos grupos está representada no apêndice 7A. Não foi possível evidenciar diferença entre os grupos quanto ao alinhamento do colágeno ( $p \geq 0,05$ ).

**Tabela 1. Análise descritiva e inferencial referente à avaliação de birrefringência**

Grupos	Média $\pm$ DP	Mínimo	Máximo	Nível descritivo
Simulação	68,02 $\pm$ 18,09	46,97	101,51	p = 0,974
Estimulação Catódica	63,33 $\pm$ 32,02	19,70	121,20	
Estimulação Anódica	66,81 $\pm$ 30,11	33,33	116,66	
Estimulação Alternada	68,18 $\pm$ 23,47	22,72	103,02	

DP = desvio-padrão

Os dados obtidos pela análise de picrossirius (média dos valores de porcentagem do colágeno tipo I, desvios-padrão, valores mínimo e máximo e nível descritivo), referente ao colágeno tipo I (espesso), demonstram que quanto maior for a porcentagem desse colágeno, melhor é o resultado do tratamento (Tabela 2). A distribuição dos valores dos grupos estão representadas no apêndice 7B. Não foi possível evidenciar diferença entre os grupos quanto à porcentagem de colágeno do tipo I ( $p \geq 0,05$ ).

**Tabela 2. Análise descritiva e inferencial referente à avaliação de picrossirius para colágeno tipo I**

Grupos	Média $\pm$ DP	Mínimo	Máximo	Nível descritivo
Simulação	14,45 $\pm$ 7,14	5,17	27,42	p = 0,571
Estimulação Catódica	15,32 $\pm$ 7,76	7,03	30,04	
Estimulação Anódica	19,24 $\pm$ 10,46	3,85	35,55	
Estimulação Alternada	19,43 $\pm$ 12,89	5,81	51,22	

DP = desvio-padrão

Os dados obtidos pela análise de picrossirius (média dos valores de porcentagem do colágeno tipo III, desvios-padrão, valores mínimo e máximo e nível descritivo), referente ao colágeno tipo III (fino), demonstram que quanto menor for a porcentagem desse colágeno, melhor é o resultado do tratamento. (Tabela 3). A distribuição dos valores dos grupos estão representadas no apêndice 7C. Não foi observado diferença entre os grupos quanto à porcentagem de colágeno tipo III ( $p \geq 0,05$ ).

**Tabela 3. Análise descritiva e inferencial referente à avaliação de picrosirius para colágeno tipo III**

Grupos	Média ± DP	Mínimo	Máximo	Nível descritivo
Simulação	85,55 ± 7,14	72,58	94,83	p = 0,571
Estimulação Catódica	84,68 ± 7,76	69,96	92,97	
Estimulação Anódica	80,76 ± 10,46	64,45	96,15	
Estimulação Alternada	80,57 ± 12,89	48,78	94,19	

DP = desvio-padrão

Os dados obtidos na quantificação dos vasos sanguíneos (média dos valores da quantidade dos vasos sanguíneos por área (mm<sup>2</sup>), desvios-padrão, valores mínimo e máximo e nível descritivo) demonstram que quanto maior a quantidade de vasos, melhor o resultado do tratamento. (Tabela 4). A distribuição dos valores dos grupos estão representadas no apêndice 7D. Não foi possível evidenciar diferença entre os grupos quanto à quantidade de vasos sanguíneos ( $p \geq 0,05$ ).

**Tabela 4. Análise descritiva e inferencial referente à quantidade de vasos sanguíneos**

Grupos	Média ± DP	Mínimo	Máximo	Nível descritivo
Simulação	38,17 ± 6,53	24,84	45,47	p = 0,448
Estimulação Catódica	32,26 ± 9,95	12,87	49,58	
Estimulação Anódica	38,98 ± 13,59	25,9	70,31	
Estimulação Alternada	39,74 ± 13,69	20,33	62,38	

DP = desvio-padrão



## **6. DISCUSSÃO**

## 6. DISCUSSÃO

Lesões tendíneas produzem considerável morbidade e limitações que podem durar meses (SHARMA & MAFFULLI, 2005). Sendo assim, torna-se relevante estudar agentes eletrofísicos que possam acelerar a cicatrização do tendão a fim de recuperar sua função sem déficits.

O presente estudo foi o primeiro, de nosso conhecimento, a verificar a aplicabilidade da corrente elétrica de alta voltagem (CEAV) na cicatrização de ruptura parcial do tendão do calcâneo em ratos por meio das análises de alinhamento do colágeno, porcentagem de colágeno do tipo I e do tipo III além da contagem dos vasos sanguíneos.

Foram utilizados 40 ratos da linhagem Wistar, pois são animais em que é relativamente simples induzir a lesão e aplicar o tratamento (FILLIPIN *et al.*, 2005), além da vantagem de realizar avaliações histológicas do tecido (JOENSEN *et al.*, 2011).

Há diversos modelos experimentais de lesões no tendão dos animais: tenotomia parcial ou total seguida ou não por suturas (CUNHA *et al.*, 2001; FILLIPIN *et al.*, 2005; KOEKE *et al.*, 2005; FARCIC *et al.*, 2013), esforço repetitivo em esteiras (SOSLOWSKY *et al.* 2000; CHO *et al.*, 2011) e lesões induzidas por colagenase e carregenina (LAKE, ANSORGE & SOSLOWSKY, 2008). Porém, optou-se pela lesão por trauma direto, uma vez que tem sido utilizada em estudos anteriores e tem mostrado reações

inflamatórias (FISH *et al.*, 1991; THORNTON, MENDEL & FISH, 1998; DOLAN *et al.*, 2005; SALATE *et al.*, 2005; FILLIPIN *et al.*, 2005), significativo aumento da espessura do tendão (JOENSEN *et al.*, 2011) e até mesmo alterações quanto ao alinhamento e o tipo de colágeno (OLIVEIRA *et al.*, 2009; WOOD *et al.*, 2010; NEVES *et al.*, 2011). Além disso, esse modelo de lesão é mais simples e com baixo custo para ser utilizado do que modelos em que a lesão ocorra pelo esforço repetitivo de corridas em esteiras específicas para animais (SOSLOWSKY *et al.* 2000) e também há menor risco de infecção como pode ocorrer nas tenotomias.

Desta forma o método de lesão por trauma direto apresentou-se reproduzível dentre as lesões parciais observadas na literatura, promovendo uma lesão por cisalhamento das fibras, sem necessidade de suturas. Este método foi descrito por SALATE *et al.* (2005), em um estudo piloto, a fim de padronizar o equipamento de lesão. Foi observado, por avaliação de ultrassonografia que os tendões do calcâneo submetidos ao mecanismo de lesão já anteriormente descrito, apresentaram ruptura parcial com variação menor que 10% entre os animais.

A maioria dos estudos verificaram a ação da CEAV na contenção de formação do edema (MOHR, AKERS e LANDRY, 1987; BETTANY, FISH & MENDEL, 1990; FISH *et al.*, 1991; COSGROVE *et al.*, 1992; TAYLOR *et al.*, 1992; MENDEL, WYLEGALA & FISH, 1992; THORNTON, MENDEL & FISH, 1998; DOLAN, MYCHASKIW & MENDEL, 2003; DOLAN *et al.*, 2003; DOLAN *et al.*, 2005) ou sua capacidade de favorecer o processo cicatricial de úlceras crônicas (KLOTH & FEEDAR, 1988; FEEDAR, KLOTH & GENTZKOW, 1991, GRIFFIN *et al.*, 1991; GOLDMAN *et al.*, 2003; GOLDMAN *et al.*, 2004; HOUGHTON *et al.*, 2003; DAVINI *et al.*, 2005; BURDGE *et al.*, 2009;

---

SILVA *et al.*, 2010; HOUGHTON *et al.*, 2010; FRANEK *et al.*, 2012). No entanto, até o momento, somente OWOEYE *et al.* (1987) realizaram um estudo experimental em ratos e observaram que a polaridade catódica da CEAV aumentou a resistência do tendão do calcâneo para a uma nova ruptura após tenotomia e sutura.

Como houve aumento da resistência do tendão para ruptura, sugere-se que a CEAV tenha favorecido o alinhamento ou aumentado a porcentagem de colágeno tipo I, fatores essenciais para que o tendão exerça sua função de resistir às forças de tração. Nos achados do presente estudo, a CEAV não favoreceu nem o alinhamento do colágeno nem o aumento do colágeno tipo I; no entanto, vale ressaltar que a metodologia dos estudos foi diferente, a começar pelo tipo de eletrodo utilizado. Optou-se por utilizar eletrodos de carbono silicone, semelhante à prática clínica, diferente de OWOEYE *et al.* (1987), que optaram por eletrodos implantados, além de realizar tenotomia, enquanto no presente estudo foi realizada a lesão por trauma direto no tendão do calcâneo. Foi escolhida a frequência de 120 pps enquanto OWOEYE *et al.* (1987) utilizaram a frequência de 10 pps. Logo, parâmetros como a alta frequência da corrente elétrica ou 6 dias de tratamento podem justificar a ausência de sua resposta, no entanto mais estudos são necessários para investigação de seus efeitos no tecido tendíneo.

Para HOLCOMB *et al.* (1997), quanto maior a frequência, maior o número de pulsos por segundo e maior a quantidade de estímulos para o tecido a ponto de exigir o máximo de contrações e força. No entanto, por mais que tenha sido utilizada uma frequência alta, a intensidade foi no limiar sensorial, uma vez que, diante de um trauma agudo, a mobilização desse tecido não é desejável nos estágios iniciais da cicatrização.

---

OWOEYE *et al.* (1987) aplicaram a CEAV por 15 min durante 14 dias consecutivos, enquanto no presente estudo, optou-se por 30 min durante 6 dias consecutivos, visto que o objetivo foi de verificar se a CEAV era capaz de acelerar o processo cicatricial por favorecer o alinhamento ou alterar a porcentagem de colágeno tipo I ou III, ou, ainda, favorecer a formação de vasos sanguíneos nos estágios iniciais da cicatrização.

O tempo e a frequência de exposição ao tratamento são fatores importantes no processo de cicatrização. Na literatura, foram encontrados estudos que obtiveram resultados satisfatórios com o uso de corrente elétrica para a cicatrização do tendão, no entanto, as avaliações foram realizadas a partir do 14º dia após a lesão. (OWOEYE *et al.*, 1987; CHAN, FUNG & NG, 2007; ARAUJO *et al.*, 2007) Sendo assim, não foram encontrados estudos que avaliassem a corrente elétrica na mesma fase do presente estudo, no 7º dia após a lesão. Tal fato demonstra que 6 dias de tratamento não foram suficientes para que a CEAV acelerasse a cicatrização tendínea. No entanto, há estudos que utilizaram a LLLT em tendões submetidos a ruptura parcial do tendão do calcâneo em ratos pelo mesmo modelo de lesão utilizado no presente estudo e foi observado aumento do alinhamento do colágeno, (OLIVEIRA *et al.*, 2009; WOOD *et al.*, 2010; NEVES *et al.*, 2011) da porcentagem do colágeno tipo I (WOOD *et al.*, 2010; NEVES *et al.*, 2011) após 5 dias de tratamento e aumento do número de vasos sanguíneos após 3 e 5 dias de tratamento (SALATE *et al.*, 2005).

Os parâmetros selecionados no presente estudo ( $f = 120$  pps, intensidade no limiar sensorial - 90% do limiar motor visível, 30 min diários durante 6 dias consecutivos) são semelhantes aos parâmetros utilizados em outros estudos que têm mostrado eficácia na contenção de

---

formação do edema após trauma agudo (BETTANY, FISH & MENDEL, 1990; TAYLOR *et al.*, 1992; MENDEL *et al.*, 1992; THORNTON, MENDEL & FISH, 1998; DOLAN, MYCHASKIW & MENDEL, 2003; DOLAN *et al.*, 2003; DOLAN *et al.*, 2005), e, assim, investigou-se se, além do efeito circulatório, a CEAV poderia favorecer o alinhamento ou, a porcentagem de colágeno tipo I e III ou ainda, exercer algum efeito angiogênico.

Além dos parâmetros já descritos, o tratamento com a CEAV pode ser com polaridade negativa ou positiva para o eletrodo ativo (DAESCHLEIN *et al.*, 2007). Nesse eletrodo, ocorre a maior densidade da corrente. Logo, o eletrodo dispersivo deve ser maior que o ativo para que a densidade da corrente seja menor e a polaridade seja oposta à selecionada no eletrodo ativo para completar o circuito. A corrente fluirá em uma direção predeterminada do eletrodo negativo para o positivo (HOLCOMB 1997). Por isso, o eletrodo ativo deve ser menor que o eletrodo dispersivo, como utilizado em nosso estudo.

Optou-se por estudar os dois tipos de polaridade, inclusive o tratamento com alternância da polaridade, pois pouco se sabe sobre os efeitos polares dessa corrente. SNYDER *et al.* (2010) realizaram uma revisão sistemática com 11 estudos experimentais que correlacionaram os efeitos da CEAV no controle do edema causado por trauma direto no membro pélvico. Nessa revisão foi observado o consenso de que a polaridade negativa é mais eficaz na contenção do edema exceto no estudo de MOHR, AKERS, LANDRY (1987), FISH *et al.* (1991) e COSGROVE *et al.* (1992) que utilizaram a polaridade positiva. O mecanismo de ação na contenção da formação do edema pode estar relacionado à redução da permeabilidade dos microvasos para proteínas plasmáticas como observado

por REED *et al.* (1988) no qual o tratamento foi realizado com polaridade negativa e TAYLOR *et al.* (1997) que encontraram resultados satisfatórios com ambas as polaridades. A polaridade negativa (GRIFFIN *et al.*, 1991; HOUGHTON *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2010) e o tratamento com alternância de polaridade (KLOTH & FEEDAR, 1988; HOUGHTON *et al.*, 2010; FRANEK *et al.*, 2012) tem mostrado resultados satisfatórios na cicatrização de úlceras crônicas. No presente estudo não foi encontrada diferença com qualquer polaridade utilizada. Sendo assim, torna-se importante que mais estudos sejam realizados para investigar os possíveis efeitos polares dessa corrente.

Outros autores têm estudado diferentes tipos de corrente elétrica na cicatrização do tendão. ARAUJO *et al.* (2007) observaram, em seu estudo, que a estimulação elétrica bifásica, retangular, simétrica e pulsada foi o agente eletrofísico que mais favoreceu a cicatrização de tendões do calcâneo tenotomizados, suturados e submetidos à imobilização por 3 semanas em ratos, por meio do aumento do número de capilares no 14º dia após a lesão e aumento do número de fibroblastos no 23º dia quando comparados com terapia a laser de baixa intensidade e o ultrassom. Os achados do presente estudo não corroboram os achados de ARAUJO *et al.* (2007) em relação à quantidade de capilares nem em relação aos fibroblastos, pois, embora não tenha sido avaliado, indiretamente não foi observada resposta na síntese de colágeno pela avaliação do tipo de colágeno I e III nem com os achados de CHAN, FUNG & NG (2007) que constataram que 22 tratamentos com a estimulação microamperagem de baixa voltagem aumentou a força tensil do tendão do calcâneo de ratos submetidos à tenotomia.

O colágeno é o principal componente da matriz extracelular. Seu alinhamento e o tipo de colágeno presente no tendão são fundamentais para que esse tecido tenha força tensil o suficiente para resistir às forças de tração (RILEY *et al* 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2009; WOOD *et al.*, 2010). Segundo VIDAL (2003), a birrefringência é o melhor método para avaliar a agregação e o alinhamento dessas fibras.

Alguns autores têm avaliado o grau de agregação e alinhamento das fibras de colágeno pelo método da birrefringência em estudos voltados para a cicatrização do tendão do calcâneo em ratos e têm encontrado resultados significantes após tratamento com ultrassom pulsado como CUNHA *et al.* (2001) e FARCIC *et al.* (2013) pós tenotomia sem sutura, KOEKE *et al.* (2005) pós tenotomia e sutura e WOOD *et al.* (2010) e NEVES *et al.* (2011) após trauma direto. Outros estudos têm observado a melhora do alinhamento do colágeno também pelo método de birrefringência após trauma agudo do tendão do calcâneo de ratos após aplicação de LLLT (ARRUDA *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2009; WOOD *et al.*, 2010; NEVES *et al.*, 2011).

Os resultados do presente estudo demonstraram maior porcentagem de colágeno tipo III do que colágeno tipo I em todos os grupos assim como os estudos de MAFFULI *et al.* (2000); WOOD *et al.* (2010) e NEVES *et al.* (2011). Tal fato pode ser explicado uma vez que a análise foi realizada durante os estágios iniciais do processo de cicatrização em que o aumento do colágeno tipo III ocorre na lesão para, posteriormente, ser substituído pelo tipo I. (MAFFULI *et al.*, 2000).

WOOD *et al.* (2010) e NEVES *et al.* (2011) encontraram que o uso da LLLT e ultrassom e a LLLT, respectivamente, favoreceram o aumento



---

da porcentagem de colágeno tipo I em tendões do calcâneo submetidos ao trauma direto após 5 dias consecutivos, avaliados pelo método de picosirius. Nos achados do presente estudo, não foi possível observar que a CEAV seja favorável no alinhamento das fibras de colágeno ou ao aumento da porcentagem de colágeno tipo I após trauma direto no tendão do calcâneo em ratos como os estudos citados, no entanto vale considerar que são outros agentes eletrofísicos, portanto possuem outros mecanismos de ação. Devido à escassez de estudos referentes a CEAV na cicatrização tendínea, torna-se relevante a necessidade de estudos com outras janelas terapêuticas.

Dada à importância da formação de vasos sanguíneos para a restauração do suprimento de oxigênio e nutrientes que favorecem o processo de cicatrização, optou-se por realizar a contagem dos vasos sanguíneos. Diante dos achados de TEODORI *et al.* (2011) e dos achados deste estudo, a CEAV não promoveu a angiogênese no tecido neural e no tecido tendíneo, respectivamente, mas influenciou na velocidade do fluxo sanguíneo de acordo com MOHR, AKERS e WESSMAN (1987) e aumentou a microcirculação em feridas cutâneas de acordo com SZUMINSKI *et al.* (1994). No entanto, ARAUJO *et al.* (2007), observaram aumento do número de capilares no 14º dia após tenotomia, sutura e estimulação elétrica bifásica, retangular, simétrica e pulsada do tendão do calcâneo em ratos.

Mesmo que este estudo não tenha se mostrado eficaz na cicatrização do tendão com os parâmetros analisados, é importante ressaltar que foi o segundo estudo, de acordo com a literatura pesquisada, que correlacionou a CEAV na cicatrização tendínea e torna-se relevante que mais estudos com diferentes parâmetros, maior frequência de aplicação da corrente, ou, ainda,

considerar outros períodos de avaliação como 3, 14 ou 21 dias após lesão ou até mesmo com outro modelo de lesão como tenotomia seguido ou não por sutura sejam realizados. Considera-se importante também que nos próximos estudos seja utilizado um grupo controle padrão, que pode nos auxiliar em relação a evolução do processo de cicatrização da lesão.

Além disso, outro fatores importantes no processo de cicatrização podem ser avaliados como: mastócitos, macrófagos, fibroblastos, parâmetros mecânicos como carga necessária para ruptura ou força tênsil, além de diâmetro dos vasos e fluxo sanguíneo.

## **7. CONCLUSÃO**

## **7. CONCLUSÃO**

A aplicação diária da corrente elétrica de alta voltagem durante 6 dias consecutivos não foi eficaz na síntese de colágeno e angiogênese após ruptura parcial do tendão do calcâneo em ratos.

## **8. REFERÊNCIAS**

## 8. REFERÊNCIAS

- Almeida AF, Berni KC, Rodrigues-Bigaton D. Effect of treatment with HVES on pain and electromyography activity in patients with TMD. *Electromyogr Clin Neurophysiol*. 2009;49(5):245-54.
- Araujo RC, Franciulli PM, Assis RO, Souza RR, Mochizuki L. Effects of laser, ultrasound and electrical stimulation on the repair of achilles tendon injuries in rats: a comparative study. *Braz J Morphol Sci*. 2007;24(3):187-91.
- Arruda ERB, Rodrigues NC, Tarciro C, Parizotto NA. Influência de diferentes comprimentos de onda da laserterapia de baixa intensidade na regeneração tendínea do rato após tenotomia. *Rev Bras Fisioter*. 2007;11(4):283-8.
- Axibal DP & Anderson JG. Multiple tendon ruptures of unknown etiology. *Foot Ankle Specialist*. 2013;6(5):380-3.
- Bettany JA, Fish DR, Mendel FC. Influence of high voltage pulsed direct current on edema formation following impact injury. *Phys Ther*. 1990; 70: 219-24.
- Burdge JJ, Hartman MS, Wright ML. A study of hvpc as an adjunctive therapy in limb salvage for chronic diabetic wounds of the lower extremity. *Ostomy Wound Manage*. 2009;55(8):30-8.
- Camargo PAM, Antonio ACL, Matias JEF, Rispoli DZ, Przysieszny PE, Fonseca VR. Efeito da mitomicina C tópica na cicatrização de prega vocal em modelo suíno. *Rev Bras Otorrinolaringol*. 2006;72(5):601-4.
- Chan HKF, Fung DTC, Ng GYF. Effects of low-voltage microamperage stimulation on tendon healing in rats. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2007;37(7):399-403.
- Cho NS, Hwang JH, Lee YT, Chae SW. Tendinosis-like histologic and molecular changes of the Achilles tendon to repetitive stress: a pilot study in rats. *Clin Orthop Relat Res*. 2011;469(11):3172-80.

- Cosgrove KA, Alon G, Bell SF, Fischer SR, Fowler NR, Jones TL, Myalng JC, Crouse TM, Seaman LJ. The electrical effect of two commonly used clinical stimulators on traumatic edema in rats. *Phys Ther.* 1992;72(3):227-33.
- Cunha A, Parizotto NA, Vidal BC. The effect of therapeutic ultrasound on repair of the achilles tendon (tendon calcaneus) of the rat. *Ultrasound Med Biol.* 2001;27(12):1691-6.
- Daeschlein G, Assadian O, Kloth LC, Meinel C, Ney F, Kramer A. Antibacterial activity of positive and negative polarity low-voltage pulsed current (LVPC) on six typical Gram-positive and Gram-negative bacterial pathogens of chronic wounds. *Wound Rep Reg.* 2007;15(3):399-403.
- Davini R, Nunes CV, Guirro ECO, Guirro RRJ. Estimulação elétrica de alta voltagem: uma opção de tratamento. *Rev Bras Fisioter.* 2005;9(3):249-56.
- Dolan MG, Mychaskiw AM, Mattacola CG, Mendel FC. Effects of cool-water immersion and high-voltage electric stimulation for 3 continuous hours on acute edema in rats. *J Athl Train.* 2003;38(4):325-9.
- Dolan MG, Mychaskiw AM, Mendel FC. Cool-water immersion and high-voltage electric stimulation curb edema formation in rats. *J Athl Train.* 2003;38(3):225-30.
- Dolan MG, Graves P, Nakazawa C, Delano T, Hutson A, Mendel FC. Effects of ibuprofen and high-voltage electric stimulation on acute edema formation after blunt trauma to limbs of rats. *J Athl Train.* 2005;40(2):111-5.
- Farcic TS, Baldan CS, Carla G, Cattapan CG, Parizotto NA, João SMA, Casarotto RA. Treatment time of ultrasound therapy interferes with the organization of collagen fibers in rat tendons. *Braz J Phys Ther.* 2013;17(3):263-71.
- Feedar JA, Kloth LC, Gentzkow GD. Chronic dermal ulcer healing enhanced with monophasic pulsed electrical stimulation. *Phys Ther.* 1991;71(9):639-49.
- Fillipin LI, Mauriz JL, Vedovelli K, Moreira AJ, Zettler CG, Lech O, Marroni NP, Gallego JG. Low-level laser therapy (LLLT) prevents oxidative stress and reduces fibrosis in rat traumatized achilles tendon. *Lasers Surg Med.* 2005;37(4):293-300.

- Fish DR, Mendel FC, Schultz AM, Oottstein-Yerke LM. Effect of anodal high voltage pulsed current on edema formation in frog hind limbs. *Phys Ther.* 1991;71(10):724-30.
- Franek A, Kostur R, Polak A, Taradaj J, Szlachta Z, Blaszcak E, Dolibog P, Dolibog P, Koczy B, Kucio C. Using high-voltage electrical stimulation in the treatment of recalcitrant pressure ulcers: results of a randomized, controlled clinical study. *Ostomy Wound Manage.* 2012;58(3):30-44.
- Garcia LB, Guirro ECO. Efeitos da estimulação de alta voltagem no linfedema pós-mastectomia. *Ver Bras Fisioter.* 2005;9(2):243-8.
- Griffin JW, Tooms RE, Mendiuns RA, Clift JK, Zwaag RV, El-Zeky F. Efficacy of high voltage pulsed current for healing of pressure ulcers in patients with spinal cord injury. *Phys Ther.* 1991;71(6):433-42.
- Goldman RJ, Brewley BI, Golden MA. Electrotherapy reoxygenates inframalleolar ischemic wounds on diabetic patients: A case series. *Adv Skin Wound Care.* 2002;15(3):112-20.
- Goldman R, Brewley BI, Zhou L; Golden M. Electrotherapy reverses inframalleolar ischemia: a retrospective, observational study. *Adv Skin Wound Care* 2003; 16(2):79-89.
- Goldman R; Rosen M; Brewley B; Golden M. Electrotherapy promotes healing and microcirculation of infrapopliteal ischemic wounds: a prospective pilot study. *Adv Skin Wound Care.* 2004;17(6):284-94.
- Gomes NCMC, Berni-Schwarzenbeck KCS, Packer AC, Rodrigues-Bigaton D. Efeito da estimulação elétrica de alta voltagem catódica sobre a dor em mulheres com DTM. *Rev Bras Fisioter.* 2012;16(1):10-5.
- Holcomb WR. A practical guide to electrical therapy. *J Sport Rehabil.* 1997;6(3):272-82.
- Houghton PE, Kincaid CB, Lovell M, Campbell KE, Keast DH, Gail-Woodbury M. Effect of electrical stimulation on chronic leg ulcer size and appearance. *Phys Ther.* 2003;83:17-28.
- Houghton PE, Campbell KE, Fraser CH, Harris C, lectrical stimulation therapy increases rate of healing of pressure ulcers in community-dwelling people with spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil.* 2010;91(5):669-78.
- Jerome CP, Moncayo V & Terk MR. MRI of the achilles tendon: a comprehensive review of the anatomy, biomechanics and imaging of overuse tendinopathies. *Acta Radiol.* 2010;4:438-54.



- Joensen J, Gjerdet NR, Hummelsund S, Iversen V, Martins RABL, Bjordal JM. An experimental study of low-level laser therapy in rat achilles tendon injury. *Lasers Med Sci.* 2011;27(1):103-11.
- Karnes JL, Mendel FC, Fish DR, Burton HW. High-voltage pulsed current: its influence on diameters of histamine-dilated arterioles in hamster cheek pouches. *Arch Phys Med Rehabil.* 1995;76(4):381-6.
- Kincaid CB & Lavoie KH. Inhibition of bacterial growth in vitro following stimulation with high voltage, monophasic, pulsed current. *Phys Ther.* 1989;69(8):651-5.
- Kloth LCJ & Feedar EA. Acceleration of wound healing with high voltage, monophasic, pulsed current. *Phys Ther.* 1988;68(4):503-8.
- Koeke PU, Parizotto NA, Carrinho PM, Salate AC. Comparative study of the efficacy of the topical application of hydrocortisone, therapeutic ultrasound and phonophoresis on the tissue repair process in rat tendons. *Ultrasound Med Biol.* 2005;31(3):345-50.
- Lake SP, Ansorge HJ e Soslowsky LJ. Animal models of tendinopathy. *Disability and Rehabil.* 2008;20(20-22):1530-41.
- Maffulli N, Ewen SWB, Waterston SW, Reaper J, Barrass V. Tenocytes from ruptured and tendinopathic achilles tendons produce greater quantities of type III collagen than tenocytes from normal achilles tendons. *Am J Sports Med.* 2000;28(4):499-505.
- Mendel FC, Wylegala JA, Fish DR. Influence of high voltage pulsed current on edema formation following impact injury in rats. *Phys Ther.* 1992;72:673-88.
- Merriman HL, Hegyi CA, Albright-Overton CR, Carlos J, Putnam RW, Mulcare JA. A comparison of four electrical stimulation types on *Staphylococcus aureus* growth in vitro. *J Rehabil Res Dev.* 2004;41(2):139-46.
- Mos M, Windt AE, Jahr H, Schie HTM, Weinans H, Verhaar JAN, Osch GJVM. Can platelet-rich plasma enhance tendon repair? A cell culture study. *Am J Sports Med.* 2009;36(6):1171-8.
- Mohr TM, Aker T, Landry RG. Effect of high voltage stimulation on edema reduction in the rats hind limb. *Phys Ther.* 1987;67(11):1703-7.
- Mohr TM, Aker TK, Wessman HC. Effect of HVS on blood flow in the rat hind limb. *Phys Ther.* 1987;67(4):526-33.

- Neves MAI, Pinfildi CE, Wood VT, Gobbato RC, Silva FM, Parizotto NA, Hochman B, Ferreira LM. Different power settings of LLLT on the repair of the calcaneal tendon. *Photomed Laser Surg.* 2011;29(10):663-8.
- Oliveira FS, Pinfildi CE, Parizoto NA, Liebano RE, Bossini PS, Garcia EB, *et al.* Effect of low level laser therapy (830 nm) with different therapy regimes on the process of tissue repair in partial lesion calcaneous tendon. *Lasers Surg Med.* 2009;41:271-6.
- Owoeye I, Spielholz NI, Fetto J, Nelson AJ. Low-intensity pulsed galvanic current and the healing of tenotomized rat achilles tendons: preliminary report using load-to-breaking measurements. *Arch Phys Med Rehabil.* 1987;68:415-8.
- Reed BV. Effect of high voltage pulsed electrical stimulation on microvascular permeability to plasma proteins. *Phys Ther.* 1988;68(4):491-5.
- Riley GP. Gene expression and matrix turnover in overused and damaged tendons. *Scand J Med Sci Sports.* 2005;15(4):241-51.
- Riley GP. Tendinopathy-from basic science to treatment. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2008;4(2):82-9.
- Rodrigues-Bigaton D, Almeida AFN, Berni KCS, Pedroni CR, Gonçalves RN, Bérzin F. Utilização de diferentes estimulações elétricas para o tratamento da dor em mulheres com disfunção temporomandibular. *Rev Bras Fisioter.* 2008;9(2):243-8.
- Salate ACB, Barbosa G, Gaspar P, Koeke PU, Parizotto NA, Benze BG, Foschiani D. Effect of In-Ga-Al-P diode laser irradiation on angiogenesis in partial ruptures of achilles tendon in rats. *Photomed Laser Surg.* 2005;23(5):470-5.
- Soslowsky J, Thomopoulos S, Tun S, Flanagan CL, Keefer CC, Mastaw J, Carpenter JE, Arbor A. Overuse activity injures the supraspinatus tendon in an animal model: A histologic and biomechanical study. *J Shoulder Elbow Surg.* 2000;9(2):79-84.
- Snyder AR, Perotti AL, Lam KC, Bay RC. The influence of high-voltage electrical stimulation on edema formation after acute injury: a systematic review. *J Sport Rehabil.* 2010;19(4):436-51.
- Stralka SW, Jackson JA, Lewis AR. Treatment of hand and wrist pain: a randomized clinical trial of high voltage pulsed, direct current built into a wrist splint. *AAOHN J* 1998;46(5):233-6.

Szuminsky NJ, Albers AC, Unger P, Eddy JG. Effect of Narrow, Pulsed High Voltages on Bacterial Viability. *Phys Ther.* 1994;74(7):660-7.

Taylor K, Fish DR, Mendel FC, Burton HW. Effect of a single 30-minute treatment of high voltage pulsed current on edema formation in frog hind limbs. *Phys Ther.* 1992;72:63-8.

Taylor K, Mendel FC, Fish DR, Hard R, Burton HW. Effect of high voltage pulsed current and alternating current on macromolecular leakage in hamster cheek pouch microcirculation. *Phys Ther.* 1997;77(12):1729-40.

Teodori RM, Silva AM, Silva MT, Oliveira LS, Polacow MLO, Guirro ECO. High-voltage electrical stimulation improves nerve regeneration after sciatic crush injury. *Rev Bras Fisioter.* 2011;15(4):325-31.

Thronton RM, Mendel FC, Fish DR. Effects of electrical stimulation on edema formation in different strains of rats. *Phys Ther.* 1998;78(4):386-94.

Vidal BC. Image analysis of tendon helical superstructure using interference and polarized light microscopy. *Micron.* 2003;34(8):423-32.

Wood VT, Pinfieldi CE, Neves MAI, Parizotto NA, Hochman B, Ferreira LM. Collagen changes and realignment induced by low-level laser therapy and low-intensity ultrasound in the calcaneal tendon. *Lasers Surg Med.* 2010;42(6):559-65.

**NORMAS ADOTADAS**

## **NORMAS ADOTADAS**

DeCS – Descritores em Ciências da Saúde. [Internet]. Consulta do DeCS. Disponível no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br/>

Ferreira LM. Orientação normativa para elaboração e apresentação de teses: guia prático. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora; 2008.

International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature (I.C.V.G.A.N.). Nomina Anatomica Veterinaria. 5a ed. Knoxville: Editorial Committed; 2012.

Sandroni C. Vocabulário ortográfico da língua portuguesa. 5a ed. Rio de Janeiro: Global; 2009.

SBCAL/COBEA (Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal). [Internet]. Princípios éticos da experimentação animal. Disponível no endereço eletrônico: <http://www.cobea.org.br>.

Sistema Internacional de Unidades (SI). 9a ed. Rio de Janeiro; 2012. Disponível no endereço eletrônico: <http://www.inmetro.gov.br>

**ABSTRACT**

## ABSTRACT

**Introduction:** The high incidence of tendons disorders and the difficulty of tissue repair made relevant the study of electrophysical agents such as the use of high voltage electrical current in the healing of tendons. **Objective:** To verify the efficacy of high voltage electrical current in the healing of partial rupture of Achilles tendon in rats. **Methods:** Forty male Wistar rats were randomized in 4 groups of 10 animals each: sham, cathodic stimulation, anodic stimulation and alternating stimulation (3 days of cathodic stimulation followed by 3 more days of anodic stimulation). The Achilles tendon was submitted to direct trauma by the free fall of a metal bar. The treatment was performed during 6 consecutive days soon after the injury. In the sham group, the electrodes were positioned on the animal, but the equipment was kept turned off for 30 minutes. The other groups used 120pps of frequency, sensorial threshold and the polarity correspondent. On the seventh day, the tendons were removed and sent for preparation of histological slides for analysis of birefringence, picosirius and quantification of blood vessels. **Results:** No significant difference among the groups regarding the alignment of collagen, type of collagen I or III and the quantity of blood vessels was observed. **Conclusion:** The daily application of the high voltage electrical current during 6 consecutive days was not effective in the synthesis of collagen and angiogenesis after partial rupture of Achilles tendon in rats.

## **APÊNDICES**



## APÊNDICE 1. Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Unifesp



Universidade Federal de São Paulo  
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa  
Hospital São Paulo

São Paulo, 5 de Novembro de 2010.  
CEP 1613/10

Ilmo(a). Sr(a).  
Pesquisador(a) ÉRIKA PATRÍCIA RANPAZO DA SILVA  
Co-Investigadores: Carlos Eduardo Pinfieldi; Richard Eloin Liebano; Bernardo Sergio H Rzeszetkowski;  
Disciplina/Departamento: Cirurgia Plástica/Cirurgia da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo  
Patrocinador: Recursos Próprios.

### **PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL**

Ref. Projeto de pesquisa intitulado: “Corrente elétrica de alta voltagem no reparo de lesão parcial do tendão calcâneo de ratos”.

**CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO:** Estudo experimental crônico em ratos machos Wistar (n=50).

**RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE:** Não se aplica.

**OBJETIVOS:** Avaliar o efeito da estimulação elétrica de alta voltagem no reparo da lesão parcial do tendão calcâneo de ratos.

**RESUMO:** Serão utilizados 50 ratos Wistar provenientes do CEDEME da Unifesp que serão distribuídos aleatoriamente em 5 grupos: grupo SHAM(GS), os animais serão submetidos ao procedimento de lesão do tendão calcâneo, por meio de lesão direta e após 1 minuto receberão simulação do tratamento com o aparelho desligado por 30 minutos durante 6 dias consecutivos; grupo CATÓDICO, procedimento de lesão do tendão calcâneo, por meio de lesão direta e após 1 minuto receberão corrente elétrica de alta voltagem com duração do pulso, aplicação monopolar com eletrodo negativo na lesão; grupo ANÓDICO, submetidos ao procedimento de lesão do tendão calcâneo, com eletrodo positivo na lesão; grupo ALTERNADO -/+, submetidos ao procedimento de lesão do tendão calcâneo, com aplicação monopolar com eletrodo negativo na lesão nos 3 primeiros dias consecutivos e eletrodo positivo durante os outros três dias subsequentes de tratamento; grupo ALTERNADO +/- Os animais serão tratados por seis dias consecutivos e serão eutanasiados no sétimo dia pós-operatório. Os tendões serão retirados por dissecação desde a inserção calcanear até a junção musculotendínea, para análise histológica. Os resultados analisados estatisticamente.

**FUNDAMENTOS E RACIONAL:** Busca a ação de estimulação elétrica de alta voltagem no reparo da lesão parcial do tendão calcâneo de ratos.

**MATERIAL E MÉTODO:** Descritos os procedimentos experimentais.

**DETALHAMENTO FINANCEIRO:** Sem financiamento externo.

**CRONOGRAMA:** 24 Meses.

**OBJETIVO ACADÊMICO:** Mestrado.



Universidade Federal de São Paulo  
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa  
Hospital São Paulo

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 31/10/11 e 30/10/12.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU e APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

**Prof. Dr. José Osmar Medeira Pestana**  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da  
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

1613/10

RECOMENDAÇÃO DO CEP: VERIFICAR A NECESSIDADE DE ANALGESIA

**APÊNDICE 2.** Medidas descritivas da variável massa corporal

<b>Apêndice 2.</b> Medidas descritivas da variável massa corporal					
		<b>GS<sup>1</sup></b>	<b>GEC<sup>2</sup></b>	<b>GEAn<sup>3</sup></b>	<b>GEAl<sup>4</sup></b>
Massa Corporal (g)	Média	267,00	267,50	280,50	273,50
	Desvio-padrão	16,70	20,58	18,30	17,33
	Mínimo	250,00	250,00	260,00	250,00
	Máximo	300,00	300,00	320,00	300,00

(1) GS - Grupo Simulação; (2) GEC - Grupo Estimulação Catódica; (3) GEAn - Grupo Estimulação Anódica; (4) GEAl - Grupo Estimulação Alternada.

---


**APÊNDICE 3. Plano Piloto**

Para determinação de que o grupo estimulação alternada iniciasse com a polaridade negativa, foi realizado um plano piloto no qual os vasos foram quantificados entre os grupos simulação, estimulação alternada negativa (os três primeiros dias com polaridade negativa e os três dias subsequentes, polaridade positiva) e estimulação alternada positiva (os três primeiros dias com polaridade positiva e os três dias subsequentes, polaridade negativa). Como não foi observada diferença entre os grupos, optou-se pelo grupo estimulação alternada negativa. Os dados descritivos estão demonstrados na tabela abaixo.

**Tabela Apêndice 3. Medidas descritivas referente aos vasos sanguíneos**

Grupos	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
Simulação	11,5	3,2	8	16
Estimulação Alternada Negativa	17,8	4,9	13	26
Estimulação Alternada Positiva	17	3,9	13	23

**APÊNDICE 4.** Calibração do equipamento de corrente elétrica de alta voltagem da marca *Neurodyn® High Volt* – Ibramed®



**IBRAMED**  
Ibramed – Indústria Brasileira de Equipamentos Médicos

**CERTIFICADO DE CALIBRAÇÃO**  
**AT 13958**

**Nome:** IBRAMED INDUSTRIA BRASILEIRA LTDA  
**CNPJ:** 00.133.418/0001-77  
**Endereço:** AV. DR. CARLOS BURGOS, 2800  
**Bairro:** JARDIM ITALIA  
**Cidade:** AMPARO – SP  
**CEP:** 13901-080

**Data da Calibração:** 17/05/2011

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERÍSTICAS**

**Equipamento:** NEURODYN HIGH VOLT  
**Modelo:** N50  
**Número de Série:** 5343

**PADRÕES UTILIZADOS**

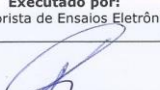
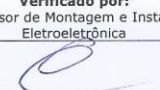
Instrumento	Fabricante	Modelo	Certificados	Nº de Série	Validade
Osciloscópio	Minipa	MO-1222	Nº E-0630/10	OA122201606	17/08/2012

Os documentos relativos à rastreabilidade estão em nossos arquivos e disponíveis para consulta quando solicitado.  
 Este certificado é válido somente para o objeto ensaiado. Total ou parcial reprodução do mesmo somente com a autorização da IBRAMED.

**RESULTADOS DA CALIBRAÇÃO**

Características	Leitura Padrão	Leitura Verificada
HIGH VOLT	250VPP	250VPP
Corrente Russa	120Vpp	120Vpp

**Observações:**

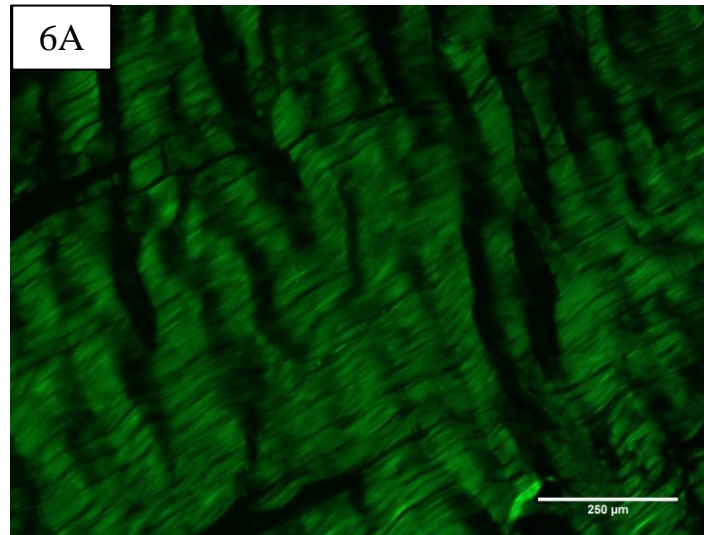
<p style="font-size: x-small;"><b>Executado por:</b> Laboratorista de Ensaios Eletrônicos</p> <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">   <hr/> <b>Karim Giraldi</b> </div>	<p style="font-size: x-small;"><b>Verificado por:</b> Supervisor de Montagem e Instalação Eletroeletrônica</p> <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">   <hr/> <b>Evaldo Carneiro dos Santos</b> </div>
<p><b>Data:</b> 17, 05, 2011</p>	<p><b>Data:</b> 17, 05, 2011</p>

Av. Dr. Carlos Burgos, 2800 / Bairro: Jardim Itália / Amparo – SP / Caixa Postal 36 / CEP 13901-080  
 Telefone: (19) 3817-9633 - Fax: (19) 3817-9634  
 e-mail: [qualidade@ibramed.com.br](mailto:qualidade@ibramed.com.br) / site: [www.ibramed.com.br](http://www.ibramed.com.br)

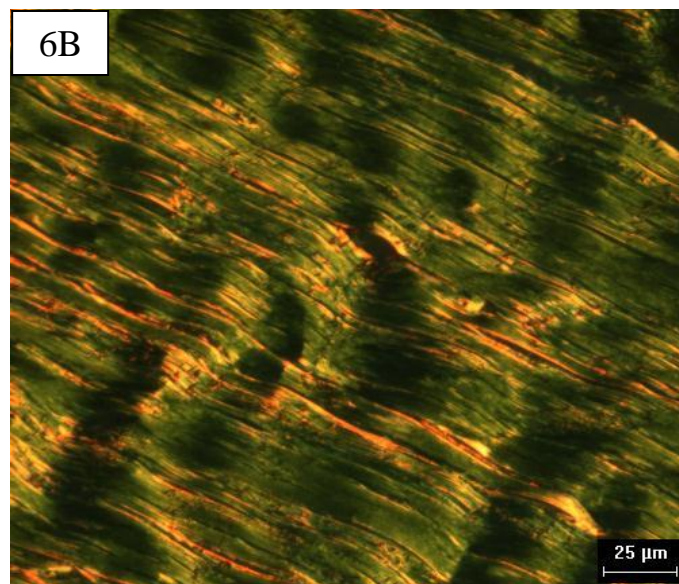
**APÊNDICE 5.** Medidas descritivas da variável amplitude

<b>Apêndice 5.</b> Medidas descritivas da variável amplitude					
		<b>GS<sup>1</sup></b>	<b>GEC<sup>2</sup></b>	<b>GEAn<sup>3</sup></b>	<b>GEAl<sup>4</sup></b>
Amplitude (V)	Média	0,00	16,80	19,70	15,80
	Desvio-padrão	0,00	2,57	2,81	3,94
	Mínimo	0,00	12,00	16,00	12,00
	Máximo	0,00	19,00	23,00	25,00

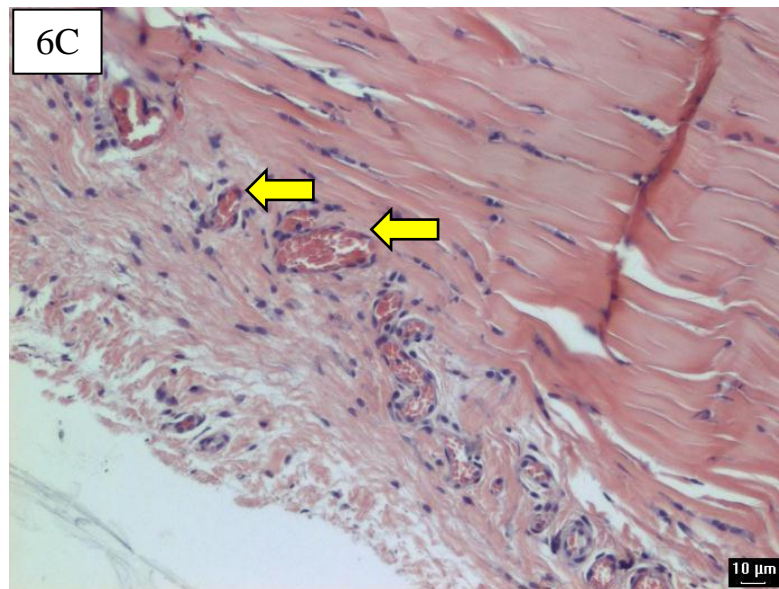
(1) GS - Grupo Simulação; (2) GEC - Grupo Estimulação Catódica; (3) GEAn - Grupo Estimulação Anódica; (4) GEAl - Grupo Estimulação Alternada.

**APÊNDICE 6.** Imagens ilustrativas referente as análises histológicas.

**Figura Apêndice 6A.** Imagem ilustrativa referente a análise de birrefringência (alinhamento das fibras de colágeno).



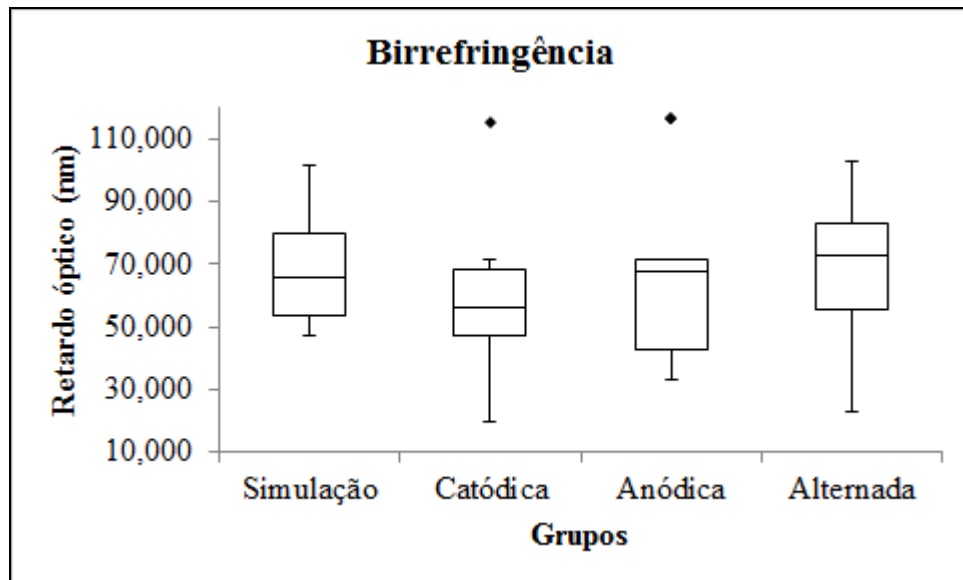
**Figura Apêndice 6B.** Imagem ilustrativa das lâminas coradas com picrosirius red para quantificar as fibras de colágeno tipo I (polarização em verde) e fibras de colágeno tipo III (polarização em amarelo, vermelho alaranjado e vermelho).



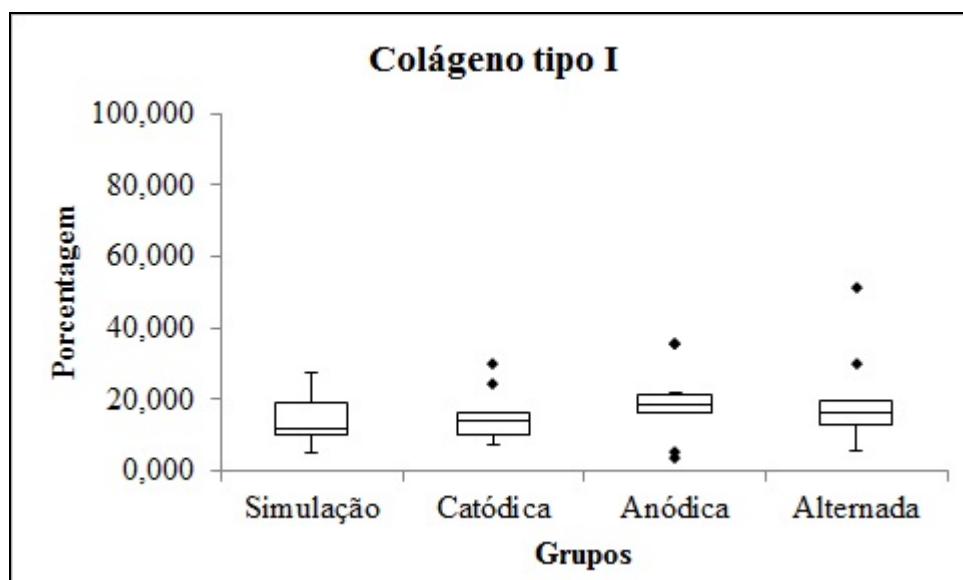
**Figura Apêndice 6C.** Imagem ilustrativa referente as lâminas coradas com hematoxilina e eosina para quantificação dos vasos sanguíneos. Setas amarelas indicam vasos sanguíneos



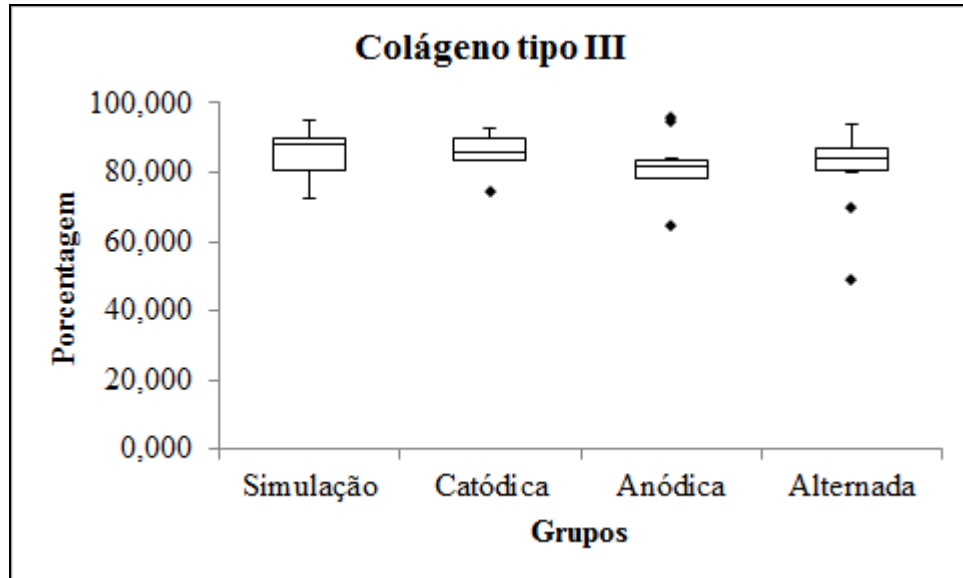
**APÊNDICE 7.** Distribuição dos valores dos grupos referente as análises histológicas.



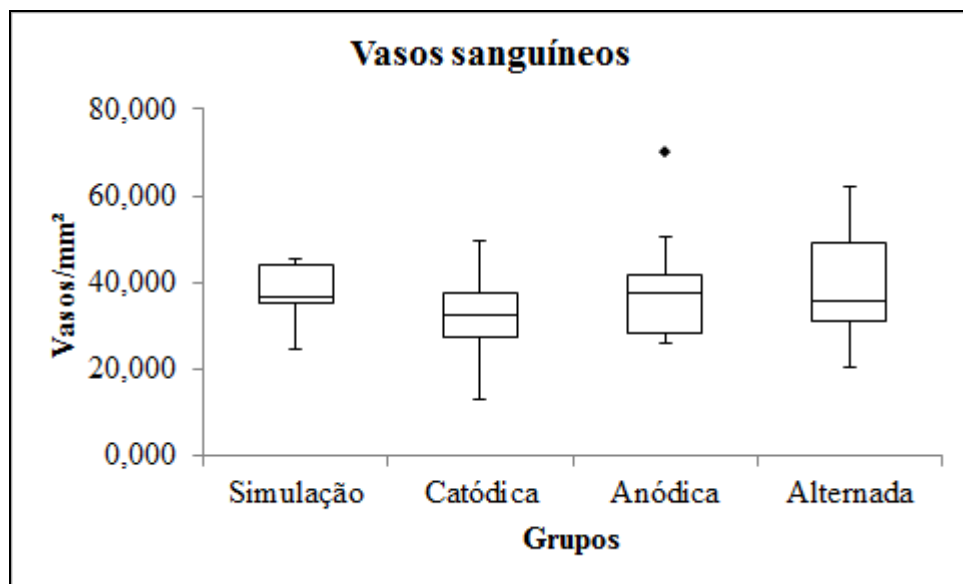
**Figura Apêndice 7A.** Distribuição dos valores dos grupos referentes ao alinhamento das fibras de colágeno



**Figura Apêndice 7B.** Distribuição dos valores dos grupos referentes à porcentagem de colágeno tipo I



**Figura Apêndice 7C.** Distribuição dos valores dos grupos referente à porcentagem de colágeno tipo III



**Figura Apêndice 7D.** Distribuição dos valores dos grupos referente aos vasos sanguíneos

**ANEXOS**

## ANEXO 1. Bula referente ao anestésico cloridrato de ketamina.



**USO VETERINÁRIO**  
ANESTÉSICO GERAL INJETÁVEL  
A BASE DE KETAMINA

**FÓRMULA:**

Cada 10 mL contém:

Cloridrato de ketamina ..... 1,16 g  
(equivalente a 1,0 g de ketamina base)

Veículo q.s.p. .... 10,00 mL

**INDICAÇÕES:**

A ketamina está indicada na anestesia de todos os tipos de intervenções cirúrgicas, a partir da escolha da pré-medicação, inclusive cesarianas e cirurgias de alto risco. Sua utilização é recomendada, particularmente, nas cirurgias de curta duração e emergenciais, assim como na contenção dos animais domésticos e silvestres.

**POSOLOGIA E VIA DE APLICAÇÃO:**

A posologia deverá ser calculada segundo o paciente, via de administração e a pré-medicação, que deve ser adaptada ao tipo de intervenção.

**TABELA DE DOSAGEM DO PRODUTO:**

Espécie animal	dose/kg de peso	mg de ketamina por kg de peso	via de aplicação
Cães e gatos	0,05 a 0,08 mL/kg	5 a 8 mg/kg	Intravenosa
	0,15 a 0,2 mL/kg	15 a 20 mg/kg	Intramuscular
Primatas	0,01 a 0,5 mL/kg	1 a 50 mg/kg	Intravenosa
	0,05 a 0,2 mL/kg	5 a 20 mg/kg	Intramuscular

Para uso em cães e gatos, na associação de Cloridrato de ketamina com xilazina, recomenda-se a dosagem de 0,06 a 0,1 mL/kg de Dopalen e 0,1 mL/kg de Anasedan.

**ANIMAIS SELVAGENS**

Peso do animal	dose/kg de peso	mg de ketamina por kg de peso	via de aplicação
1 kg	0,1 mL/kg	10 mg/kg	Intravenosa
6 kg	0,07 a 0,08 mL/kg	7 a 8 mg/kg	Intramuscular
15 kg	0,12 mL/kg	12 mg/kg	Intramuscular
+ 20 kg	0,15 a 0,18 mL/kg	15 a 18 mg/kg	Intramuscular

**ANIMAIS DE LABORATÓRIO**

Espécie animal	dose/kg de peso	mg de ketamina por kg de peso	via de aplicação
Cobaia	0,1 mL/kg	10 mg/kg	Intravenosa
	1 a 2 mL/kg	100 a 200 mg/kg	Intramuscular
Hamsters	0,15 mL/kg	15 mg/kg	Intravenosa
	2 mL/kg	200 mg/kg	Intramuscular
Coelhos	0,15 a 0,2 mL/kg	15 a 20 mg/kg	Intravenosa
	0,2 a 0,25 mL/kg	20 a 25 mg/kg	Intramuscular
Ratos	0,1 mL/kg	10 mg/kg	Intravenosa
	1 mL/kg	100 mg/kg	Intramuscular
Camundongos	0,35 mL/kg	35 mg/kg	Intravenosa
	1 mL/kg	100 mg/kg	Intramuscular

**Pássaros (pré-medicação)**  
0,12 a 0,2 mL/kg de peso = 12 a 20 mg/kg de peso  
pela via intramuscular, segundo a duração da intervenção.

**OBSERVAÇÕES GERAIS:**

As dosificações usuais devem ser individualizadas para satisfazer cada situação. A ketamina pode produzir vômitos após sua administração. Para evitar a possível aspiração do vômito, a ketamina deve ser administrada no animal, com o estômago vazio. Antes da indução da anestesia, recomenda-se administrar atropina, escopolamina ou outro dessecante, devido ao fato de que a ketamina aumenta as secreções das glândulas mucosas traqueo-bronquiais e salivares.

A ketamina pode ser administrada por via intramuscular ou intravenosa. Esta última proporciona uma anestesia mais rápida do que a via intramuscular. A administração da ketamina, em sobredosagem ou aplicada muito rapidamente, pode produzir depressão respiratória, apnéia e hipertensão.

A administração intravenosa deve ser realizada em um período de 1 minuto, a menos que se utilize uma técnica de indução de seqüência rápida. Depois de repetidas aplicações, pode haver tolerância aos efeitos da ketamina.

Durante a recuperação pode-se produzir um estado de convulsão. Tem-se sugerido que, minimizando a estimulação tátil e visual durante a recuperação, pode-se reduzir a incidência das reações de emergência, no entanto, não se tem demonstrado a eficácia destas medidas.

A administração prévia ou simultânea da ketamina com um benzodiazepínico pode diminuir a incidência de delírio.

**CONTRA-INDICAÇÕES, PRECAUÇÕES E REAÇÕES ADVERSAS:**

**Reprodução e gestação:** Estudos realizados em animais não demonstraram efeitos negativos na fertilidade ou concepção e, embora a ketamina atravesse a barreira placentária, não foram observados efeitos teratogênicos.

**Interações medicamentosas e/ou problemas associados:** As

seguintes interações medicamentosas da ketamina com outros medicamentos foram relacionadas em função de sua possível importância clínica. Associações que contenham qualquer dos seguintes medicamentos, dependendo das quantidades presentes, poderão interrelacionar-se com a ketamina:

- Anestésicos orgânicos hidrocarbonados por inalação, tais como: enflurano, halotano, isoflurano e metoxiflurano, já que os anestésicos halogenados por inalação podem prolongar a vida média de eliminação da ketamina.

- Antihipertensivos: medicamentos que produzem depressão do SNC, incluindo aqueles que se utilizam, freqüentemente, como medicação pré-anestésica ou para indução, suplementação ou manutenção da anestesia. O seu uso simultâneo com ketamina, especialmente, se administradas doses elevadas ou de forma muito rápida, podem aumentar o risco de hipotensão e/ou depressão respiratória.

- Hormônios tireóideos: deve-se administrar a Ketamina com precaução em animais que recebem hormônios tireóideos, devido ao risco de hipertensão e taquicardia.

- Interferência no diagnóstico: o uso de ketamina pode interferir com parâmetros fisiológicos do animal, como, por exemplo, causar um aumento da pressão do líquido cefalorraquidiano (LCR) e da pressão intraocular.

- Problemas clínicos: a ketamina não deve ser usada quando os seguintes problemas clínicos estiverem presentes: qualquer situação em que uma elevação significativa da pressão arterial seja considerada perigosa, como por exemplo: enfermidade cardiovascular severa, insuficiência cardíaca, hipertensão severa ou não controlada, histórico de trauma cerebral.

- A relação risco-benefício deve ser avaliada nas seguintes condições: descompensação cardíaca, lesão ocular, globo ocular aberto, hipertensão leve não complicada, aumento da pressão do líquido cefalorraquidiano (LCR), aumento da pressão intraocular, estados tóxicos (a ketamina aumenta o risco de hipertensão e taquicardia).

É muito importante a monitorização da função cardíaca, principalmente em animais com cardiopatias ou descompensações cardíacas.

Efeitos adversos e secundários: Durante o uso da ketamina, alguns efeitos adversos ou secundários podem ocorrer e deverão ser levados em consideração, em função da real importância clínica. Dentre eles, requerem atenção do Médico Veterinário: aumento da pressão arterial, hipotensão, bradicardia, dispnéia, vômitos depois da administração e movimentos musculares incontrolados.

Para uso em cães e gatos, na associação de Cloridrato de ketamina com xilazina, recomenda-se a dosagem de 0,06 a 0,1 mL/kg de Dopalen e 0,1 mL/kg de Anasedan.

#### TRATAMENTO DOS EFEITOS ADVERSOS:

O tratamento adequado dos efeitos adversos pode incluir:

- Para a depressão respiratória ou apnéia: a respiração mecânica assistida é preferível à administração de um analéptico.
- Para a reação severa de emergência: administrar um barbitúrico de ação curta ou ultra-curta.

#### APRESENTAÇÃO:

Frasco-ampola contendo 10 mL, acondicionado em cartucho individual.

**MANTENHA ESTE OU QUALQUER OUTRO MEDICAMENTO FORA DO ALCANCE DE CRIANÇAS E ANIMAIS DOMÉSTICOS. CONSERVAR O PRODUTO EM LOCAL FRESCO E SECO, AO ABRIGO DA LUZ SOLAR.**

**PRODUTO CONTROLADO.  
VENDA SOB PRESCRIÇÃO OBRIGATÓRIA E APLICAÇÃO SOB ORIENTAÇÃO DO MÉDICO VETERINÁRIO CONFORME INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 36 DE 07/06/96.**


Licenciado no Ministério da Agricultura sob nº 5.438 em 09/12/96.  
Responsável Técnico: Dr. Mauricio Del Bigio - CRMV-SP nº 3715.

Proprietário e Fabricante:  
Sespo Indústria e Comércio Ltda.  
*Divisão Vetbrands Saúde Animal*  
Rua Manoel Joaquim Filho, 303  
CEP: 13140-000 - Paulínia - SP  
CNPJ: 50.464.692/0001-05  
SAC: 0800 770 0355  
E-mail: vetbrands@vetbrands.com.br  
Indústria Brasileira



22002 398 V05

## ANEXO 2. Bula referente ao sedativo, relaxante muscular e analgésico cloridrato de xilazina.



# Anasedan

INJETÁVEL

**USO VETERINÁRIO**  
SEDATIVO - RELAXANTE MUSCULAR - ANALGÉSICO

**FÓRMULA:**

Cada 100 mL contém:  
 Cloridrato de xilazina (equivalente a 2 g de xilazina base) 2,3 g  
 Veículo q.s.p. .... 100,0 mL

**INFORMAÇÕES TÉCNICAS:**

- **ANASEDAN** provoca nos animais um estado de sedação e um alto grau de analgesia, cuja profundidade depende da dose utilizada. Também produz um acentuado relaxamento muscular generalizado. A analgesia é produzida por estimulação dos alfa-receptores periféricos e centrais. A xilazina não produz excitação e apresenta grande poder anestésico reversível que se caracteriza pelo bloqueio do impulso nervoso.

A sedação é induzida, principalmente, através da estimulação dos alfa-2-receptores centrais. Após a sedação, provoca analgesia e relaxamento muscular, quando administrada em cães e gatos.

A xilazina possui um certo efeito emético, principalmente em gatos e ocasionalmente em cães, quando a droga é administrada pela via intramuscular. A emese é menos freqüente quando a administração é pela via intravenosa. O efeito emético pode ser desejado em cirurgias de emergência, onde não é possível submeter o animal a jejum prévio.

**Efeitos Cardiovasculares:** quando administrada pela via endovenosa, a xilazina produz bradicardia nos animais que não receberam pré-medicação anticolinérgica. Esta bradicardia é devida ao reflexo baro-receptor do sinus carotídeo em resposta à hipertensão que ocorre após a administração da xilazina. Além disso, a xilazina diminui a atividade simpática e aumenta a atividade vagal. Nos cães,

a xilazina produz uma diminuição do fluxo sanguíneo aórtico. Em alguns animais, a administração intramuscular de xilazina produz uma pequena diminuição ou nenhuma alteração na pressão arterial.

**Efeitos Respiratórios:** em cães e gatos, após a administração de xilazina, não se observam alterações no pH arterial, PaO<sub>2</sub> e PaCO<sub>2</sub>. Em alguns animais, observa-se uma diminuição da freqüência respiratória.

**Efeitos Digestivos:** Em alguns animais, a xilazina pode causar distensão gástrica aparentemente devida a aerofagia e relaxamento do esfíncter gastro-esofágico, o qual pode resultar em refluxo do conteúdo gástrico.

De forma geral, causa diminuição do peristaltismo intestinal devido à inibição da acetilcolina no plexo de Auerbach.

**Efeitos Endócrinos:** a xilazina produz uma diminuição das concentrações plasmáticas de insulina, devido a sua ação sobre os alfa-2-receptores das células beta pancreáticas que inibem a secreção insulínica. Também causa um aumento das concentrações plasmáticas de glicose e do hormônio do crescimento. Outros efeitos endócrinos são transitórios e de menor importância clínica.

**Efeitos Renais:** a xilazina produz um aumento do fluxo urinário.

**Efeitos na Gestação:** a xilazina não é uma droga abortiva nem teratogênica, no entanto, causa um aumento do tônus do miométrio e diminuição da pressão intra-uterina em alguns animais, devido a sua ação sobre os alfa-2-receptores, razão pela qual, recomenda-se evitar o uso de xilazina no último mês de gestação.

**Distribuição:** a xilazina, após a administração intramuscular, é rapidamente absorvida, sofrendo posteriormente uma intensa bio-transformação. Cerca de 20 metabólitos foram identificados.

O metabolismo da droga nas diferentes espécies é rápido e sua vida média varia de 23 a 50 minutos, dependendo do stress, técnicas anestésicas utilizadas, do metabolismo e da sensibilidade individual.

### INDICAÇÕES, MODO DE USAR E POSOLOGIA:

**CANINOS E FELINOS:** ANASEDAN pode ser aplicado tanto pela via subcutânea, intramuscular ou intravenosa, na dose de 1,5 mL para cada 10 kg de peso. Esta dosagem produz uma boa sedação que normalmente se

mantém por 1 a 2 horas e analgesia por 15 a 30 minutos, a qual permite que sejam executadas suturas, exames radiológicos, coleta de sangue, passagem de sonda uretral, extrações dentárias e de tártaro, limpeza de ouvidos e de feridas cirúrgicas. Devido ao seu efeito miorelaxante de ação central, associado ao efeito sedativo e analgésico, **ANASEDAN** pode ser usado para realizar diversas manobras ortopédicas (redução de fraturas, luxações, torções, etc).

**ANASEDAN** pode ser associado a outras drogas obtendo-se excelentes resultados.

A associação com anestésicos locais permite intervenções cirúrgicas mais profundas, sendo ideal para cirurgias em animais idosos e debilitados, nos quais não se deseja a administração de anestésicos gerais.

Na associação com barbitúricos, **ANASEDAN** pode ser usado como pré-anestésico na dosagem de **0,5 mL a 1,0 mL para cada 10 kg de peso** por via intramuscular, tendo como vantagem a redução de 50% a 70% a dose destes anestésicos gerais.

Na associação de xilazina com Cloridrato de cetamina, recomenda-se a dosagem de **0,1 mL/kg de ANASEDAN e de 0,06 a 0,1 ml/kg de Dopalen.**

#### PRECAUÇÕES:

**ANASEDAN** deve ser utilizado com cautela em animais com severas cardiopatias, hepatopatias, nefropatias e depressão respiratória. Se após a administração de **ANASEDAN** ocorrer uma excessiva depressão respiratória, recomenda-se a aplicação de analépticos respiratórios, como por exemplo, cloridrato de doxapram.

Também se deve ter cuidado com a administração de **ANASEDAN** em animais em estado de choque e sob severas condições de estresse. Recomenda-se o uso de atropina em doses padrão, antes ou depois da administração de **ANASEDAN**, para evitar a ocorrência de eventuais bradicárdias ou bloqueios atrio-ventriculares parciais.

Não se deve associar **ANASEDAN** com outros tranqüilizantes.

#### APRESENTAÇÃO:

Frasco-ampola de vidro contendo 10 mL.

MANTENHA ESTE, OU QUALQUER OUTRO MEDICAMENTO, FORA DO ALCANCE DE CRIANÇAS E ANIMAIS DOMÉSTICOS. CONSERVAR O PRODUTO EM LOCAL FRESCO E SECO, AO ABRIGO DA LUZ SOLAR.

#### PRODUTO CONTROLADO

**VENDA SOB PRESCRIÇÃO OBRIGATÓRIA E APLICAÇÃO SOB ORIENTAÇÃO DO MÉDICO VETERINÁRIO CONFORME INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 36 DE 07/06/2002.**

Licenciado no Ministério da Agricultura sob nº 6.589 em 03/11/98.

Responsável Técnico:

Dr. Mauricio Del Bigio - CRMV-SP nº 3715.

Proprietário e Fabricante:

Sespo Indústria e Comércio Ltda.

Divisão *Vetbrands Saúde Animal*

Rua Manoel Joaquim Filho, 303

CEP: 13140-000 - Paulínia - SP

CNPJ: 50.464.692/0001-05

SAC: 0800 770 0355

E-mail: [vetbrands@vetbrands.com.br](mailto:vetbrands@vetbrands.com.br)

Indústria Brasileira



22002-399 V05

## **FONTES CONSULTADAS**



## FONTES CONSULTADAS

Houaiss A. Dicionário Houaiss da língua portuguesa. 1a ed. Rio de Janeiro: Objetiva, 2009.

Neter, J; Kutnher, M. H.; Nachsteim, C. J. E Wasserman, W. (1996). Applied Linear Statistical Models. Irwin.

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. <http://www.R-project.org/>.