

## **Avaliação dos parâmetros de aplicação do gerador de alta frequência no processo de reparo tecidual de feridas cutâneas: estudo experimental**

**Evaluation of the application parameters of the high-frequency generator in the tissue repair process of skin wounds: an experimental study**

**Evaluación de parámetros de aplicación del generador de alta frecuencia en el proceso de reparación tisular de heridas cutáneas: estudio experimental**

Recebido: 25/04/2022 | Revisado: 05/05/2022 | Aceito: 13/05/2022 | Publicado: 18/05/2022

### **Tiago Sousa da Costa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4341-7298>  
Universidade do Estado do Pará, Brasil  
E-mail: [tiago.scosta@gmail.com](mailto:tiago.scosta@gmail.com)

### **Daliane Ferreira Marinho**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3849-1215>  
Universidade do Estado do Pará, Brasil  
E-mail: [daliane.marinho@uepa.br](mailto:daliane.marinho@uepa.br)

### **Tiago Santos Silveira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5842-8013>  
Universidade do Estado do Pará, Brasil  
E-mail: [silveira.t@gmail.com](mailto:silveira.t@gmail.com)

### **Matheus Sallys Oliveira Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2722-7558>  
Universidade do Estado do Pará, Brasil  
E-mail: [matheussallys@gmail.com](mailto:matheussallys@gmail.com)

### **Érica da Silva Nascimento**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9803-1969>  
Universidade do Estado do Pará, Brasil  
E-mail: [erica17silva2002@gmail.com](mailto:erica17silva2002@gmail.com)

### **Débora Carolina Santos do Nascimento**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4467-7561>  
Universidade do Estado do Pará, Brasil  
E-mail: [deboranasc96@gmail.com](mailto:deboranasc96@gmail.com)

### **Israel Clemeson Moutinho Leite**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8147-6112>  
Universidade do Estado do Pará, Brasil  
E-mail: [israel.moutinho21@gmail.com](mailto:israel.moutinho21@gmail.com)

### **Adriana Caroprezo Morini**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8731-9935>  
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil  
E-mail: [drimorini@gmail.com](mailto:drimorini@gmail.com)

### **Resumo**

**Introdução:** O gerador de alta frequência (AF) emprega ozônio no tratamento de feridas cutâneas, produzindo calor, resultando em vasodilatação periférica local, aumento do fluxo sanguíneo, oxigenação e metabolismo celular, acelerando assim o processo de reparo tecidual. Contudo, ainda não existe na literatura atual um protocolo dos parâmetros, sendo este utilizado empiricamente. **Objetivo:** Avaliar o processo de reparo tecidual em feridas cutâneas submetidas a diferentes parâmetros de intensidade e tempo do AF. **Metodologia:** Estudo prospectivo, analítico, intervencional, multicêntrico, experimental, controlado e aleatorizado. Foram utilizados 35 ratos da linhagem Wistar, divididos em sete grupos de cinco animais cada, sendo: seis grupos experimentais e um grupo controle. Os animais sofreram uma lesão com um punch de 6mm de diâmetro, os grupos experimentais, foram tratados uma vez por dia durante 11 dias consecutivos. Foi realizada análise macroscópica, através dos registros fotográficos da área da ferida e análise microscópica através das lâminas histológicas. Pesquisa aprovada pela Comissão de Ética do Uso de Animais da Universidade do Estado do Pará, protocolo n° 39/20. **Resultados:** Os resultados morfométricos evidenciaram uma redução significativa da área da lesão nos grupos tratados por 60 segundos com intensidade baixa e média. Além disso, foi constatada que a intensidade alta ocasionou efeito lesivo ao processo de reparo tecidual. **Conclusão:** A escolha dos parâmetros do AF é um fator determinante para a utilização benéfica no processo de reparo tecidual. A

aplicação com intensidade baixa/média, por 60 segundos, foi o mais adequado ao processo de reparo tecidual, uma vez que acelerou esse processo.

**Palavras-chave:** Terapia por Estimulação Elétrica; Cicatrização; Ozônio.

### Abstract

**Introduction:** The high frequency generator (HF) employs ozone in the treatment of health systems, producing heat, increasing peripheral vasodilation, cellular metabolism and the local technical repair process. However, there is still no protocol for the parameters in the current literature. **Objective:** To evaluate the tissue repair process in cleaning processes of different parameters of PA intensity and time. **Methodology:** Prospective, analytical, interventional, multicenter, experimental, controlling and randomized study. Thirty-five Wistar rats were used, divided into seven groups of five animals each, as follows: six experimental groups and one group. 1, were treated once a lesion with a consecutive diameter punch. Macroscopic analysis was performed, through photographic records of the wound area and microscopic analysis through histological slides. Research approved by the Ethics Committee for the Use of Animals of the Universidade do Estado do Pará, protocol n° 39/20. **Results:** The morphometric results had a significant reduction of the lesion area in the groups treated by 60 mediums with low and medium. In addition, it was found that a high intensity had a negative effect on the technical repair process. **Conclusion:** The choice of resource parameters is a repair factor for the use of processless AF. The application with low/medium intensity, for 60 seconds, was the most suitable for the tissue repair process, since it accelerated this process.

**Keywords:** Electrical Stimulation Therapy; Healing; Ozone.

### Resumen

**Introducción:** El generador de alta frecuencia (HF) emplea el ozono en el tratamiento de heridas de la piel, produciendo calor, resultando en vasodilatación periférica local, aumento del flujo sanguíneo, oxigenación y metabolismo celular, acelerando así el proceso de reparación tisular. **Objetivo:** Evaluar el proceso de reparación tisular en heridas cutáneas sometidas a diferentes parámetros de intensidad y tiempo de PA. **Metodología:** Estudio prospectivo, analítico, intervencionista, multicéntrico, experimental, controlado y aleatorizado. Se utilizaron 35 ratas Wistar, divididas en siete grupos de cinco animales cada uno, así: seis grupos experimentales y un grupo control. Los animales fueron lesionados con punzón de 6 mm de diámetro, los grupos experimentales fueron tratados una vez al día durante 11 días consecutivos. Se realizó análisis macroscópico, a través de registros fotográficos del área de la herida y análisis microscópico a través de láminas histológicas. Investigación aprobada por el Comité de Ética para el Uso de Animales de la Universidade do Estado do Pará, protocolo n° 39/20. **Resultados:** Los resultados morfométricos mostraron que hubo una reducción significativa del área de la lesión en los grupos tratados durante 60 segundos con intensidad baja y media. Además, se comprobó que la alta intensidad provocaba efecto nocivo en el proceso de reparación del tejido. **Conclusión:** La elección de los parámetros de FA es un factor determinante para su uso beneficioso en el proceso de reparación tisular. La aplicación con intensidad baja/media, durante 60 segundos, fue la más adecuada para el proceso de reparación del tejido, ya que aceleró este proceso.

**Palabras clave:** Terapia de Estimulación Eléctrica; Curación; Ozono.

## 1. Introdução

A pele desempenha um papel essencial na proteção do ambiente interno do corpo, sendo seu maior órgão. Está constantemente exposta e suscetível a danos ou lesões que podem causar vários problemas na sobrevivência do organismo (Roger *et al.*, 2019). A perda da continuidade e da integridade tecidual, em razão de uma lesão, desencadeia o processo de reparação tecidual que tem como objetivo recuperar a estrutura tecidual lesionada. Varias patologias podem prolongar o percurso natural desse processo, um exemplo disso são as úlceras de pés diabéticos, onde o tratamento é longo e difícil, geralmente levando a morbidade e mortalidade (Brasileiro filho, 2017).

Apesar do contínuo desenvolvimento da ciência, ainda há um grande desafio de tratar diversos tipos de feridas. Com isso, a pesquisa de terapias alternativas e modernas contra lesões de difícil cicatrização constitui um amplo campo de pesquisa a ser explorado no campo da reabilitação. Nessa perspectiva, o uso do gerador de alta frequência (AF) contextualiza um panorama positivo uma vez que apresenta diversos benefícios ao processo de cicatrização, tais como: o aumento da síntese proteica; inibição do crescimento bacteriano; facilitação da migração do tecido epitelial; melhora do fluxo sanguíneo e da resistência à tração de tecidos moles (Recio *et al.*, 2012; Korelo *et al.*, 2013; Schuh *et al.*, 2017).

Essa técnica consiste na transformação da energia de caráter doméstico para correntes de alta frequência que são administradas terapêuticamente por meio de eletrodos de vidro na área lesionada. A aplicação produz calor tóxico e gera uma corrente eletromagnética ao redor dos eletrodos acarretando à ionização das moléculas de oxigênio, as quais sofrem um forte impacto energético gerando o gás ozônio (O<sub>3</sub>) (Korelo *et al.*, 2013).

Apesar do conhecimento de tais mecanismos não há consenso entre os pesquisadores para a utilização dos parâmetros de aplicação do gerador de alta frequência, diversos estudos na literatura comprovam divergências quanto aos parâmetros de aplicação referente ao tempo de aplicação, modo e intensidade de aplicação (Sá *et al.*, 2010; De oliveira, 2011; Martins *et al.*, 2012). Evidenciando a necessidade da realização de mais estudos para analisar os parâmetros de aplicação dessa terapia no processo de reparo tecidual.

Nesta perspectiva, o presente estudo tem como objetivo avaliar a evolução macroscópica e os efeitos microscópicos dos diferentes parâmetros de aplicação do gerador de alta frequência e, conseqüentemente, sugerir quais os parâmetros mais adequados para a utilização eficaz e segura no processo de reparo tecidual.

## 2. Metodologia

### Materiais e Métodos

O projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado do Pará (Belém, Pará), e obteve aprovação, sob protocolo nº 39/20, dessa forma seguindo todos os princípios éticos da experimentação animal de acordo com as Normas Internacionais de Proteção aos Animais e do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

### Amostra e tipo de estudo

Trata-se de um estudo prospectivo, analítico, intervencional, multicêntrico, experimental controlado e aleatorizado (Hochman *et al.*, 2005). Foram estudados 35 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, machos, adultos (idade superior a 90 dias), pesando entre 250 a 300 gramas, oriundos do biotério da Universidade do Estado do Pará (UEPA), Campus XII (Santarém, Pará). A amostra foi dividida aleatoriamente por sorteio em sete grupos de cinco animais cada, sendo: seis grupos experimentais, submetidos a diferentes protocolos de tratamento com AF, e um grupo controle (Tabela 1).

**Tabela 1** - Divisões dos grupos e os parâmetros de aplicação.

Grupos (n=5)	Intensidade da corrente	Tempo de aplicação	Quantidade de aplicações
GB1	Baixa (20%)	60 segundos	11
GM1	Média (50%)	60 segundos	11
GA1	Alta (80%)	60 segundos	11
GB2	Baixa (20%)	120 segundos	11
GM2	Média (50%)	120 segundos	11
GA2	Alta (80%)	120 segundos	11
GC	Grupo Controle – sem tratamento		

Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

Os animais permaneceram em gaiolas individuais apropriadas de polipropileno com medidas de 41cmx34cmx16cm, forradas com maravalha. Esses animais foram observados durante um período mínimo de quinze dias antes do início do estudo propriamente dito. O objetivo desse período foi promover a melhor adaptação ao ambiente do laboratório, seguindo as

diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (2006), que define esse como período mínimo de pré-observação dos animais antes de qualquer estudo científico.

O experimento foi desenvolvido no laboratório de experimentação animal do biotério da UEPA (Campus – XII), entre os meses de fevereiro a junho de 2021, apresentando condições ambientais controladas (12 horas de ciclo claro/escuro; ambiente higienizado; temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e ventilação adequada), além da oferta de alimento e água ad libitum aos animais durante todo o experimento.

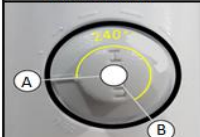



### Procedimentos para aplicação do AF

A primeira aplicação do gerador de alta frequência ocorreu 24 horas após a confecção da lesão, tendo como base o protocolo do estudo de Sá *et al.* (2010) e Sousa *et al.* (2015): aplicação no interior e ao redor da lesão, eletrodo em formato de bico, também conhecido como cauterizador, com modo de aplicação à distância ou faiscamento (no qual o eletrodo não entra em contato direto com a pele se mantendo a uma distância de 5 milímetros).

Para a aplicação do AF, foi utilizado o aparelho gerador de alta frequência portátil modelo *Beauty Face*®, da marca HTM®, com as seguintes características: alimentação: 110/220 volts (50/60 Hz), Intensidade de 12 Kvolts, frequência portadora de 1.500Hz. As aplicações foram realizadas com um intervalo médio de 24 horas entre elas.

Para padronizar os parâmetros de intensidade de aplicação do equipamento, foi utilizada a mensuração do ângulo da intensidade máxima ( $240^\circ=100\%$ ) utilizando o programa *Angle Meter 360*®. Posteriormente, cada intensidade (20%, 50% e 80%) foi convertida através da regra de três simples em três ângulos, cada um correspondente a sua intensidade (Figura 1).

**Figura 1** – Padronização dos parâmetros na chave de controle de intensidade da caneta aplicadora do gerador de alta frequência.

Controle de intensidade	Regra de três simples	Amplitude de intensidade e seus respectivos ângulos
	$\frac{240^\circ}{-} = \frac{100\%}{-}$	Amplitude de intensidade máxima: $100\% = 240^\circ$
	$\frac{240^\circ}{x} = \frac{100\%}{80\%}$	Amplitude de intensidade Alta: $80\% = 192^\circ$
	$\frac{240^\circ}{x} = \frac{100\%}{50\%}$	Amplitude de intensidade Média: $50\% = 120^\circ$
	$\frac{240^\circ}{x} = \frac{100\%}{20\%}$	Amplitude de intensidade Baixa: $20\% = 48^\circ$

Legenda: A= ponto off/on; B= ponto de fixação do parâmetro de intensidade de aplicação.  
 Fonte: Elaborado pelos autores (2022).

### Procedimentos para confecção da lesão

Primeiramente os animais foram submetidos à anestesia dissociativa. A técnica de indução anestésica empregada foi o método de injeção intraperitoneal de Ketamina 10% (0,10ml/100g), droga anestésica geral, e Xilazina 2% (0,25 ml/100mg) substância com propriedades sedativas, analgésica e relaxante muscular.

Após a anestesia, os animais foram submetidos a lesões traumáticas padronizadas. O procedimento foi iniciado com a tricotomia manual na região do dorso e antisepsia com água boricada a 3%. A seguir, o animal foi posicionado em decúbito ventral com os quatro membros estendidos e a cabeça alinhada ao tronco. Então, foi realizada uma ferida excisional circular até a exposição da fáscia muscular dorsal. Para isso, foi utilizado um *punch* dermatológico de 6mm de diâmetro, que possuía uma lâmina cortante na sua borda inferior.

### Protocolo de eutanásia

Após 24 horas da última aplicação, foi realizada a eutanásia dos animais através do método de injeção intraperitoneal, com aplicação de uma superdose da combinação de quetamina 10% e xilazina 2% (três vezes a dose anestésica) na região do peritônio. A morte dos animais foi detectada através da verificação da ausência de movimento respiratório e de batimentos cardíacos por meio do uso de estetoscópio.

### Análise Microscópica

No instante após a eutanásia, que ocorreu 24 horas após a 11ª aplicação de AF, foi realizada a biópsia do tecido da pele, incluindo a área da ferida em cicatrização, a borda da ferida e parte da pele adjacente à borda da ferida. Esse material foi submetido à coloração por Hematoxilina Eosina (HE). Posteriormente, foi realizada análise microscópica das lâminas, que ocorreu nas dependências do laboratório de Morfofisiologia Animal da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA). A análise foi realizada por um avaliador de forma cega, utilizando um microscópio óptico Nikon® (Nikon, Tokyo, Japão).

Todos os critérios aplicados na análise histológica semiquantitativa (Meireles *et al.*, 2008; Iordanou *et al.*, 2009) foram verificados por meio de escores em uma escala de 0 a 3 (Tabela 2).

**Tabela 2** – Critérios para análise histológica

Histologia	Escore			
	Nulo=0	Leve=1	Moderado=2	Intenso=3
<b>Reepitelização</b>	Ausente	Presente: abrangendo <50% da ferida	Presente: abrangendo >50% da ferida	Presente: cobrindo 100% com espessura regular
<b>Angiogênese</b>	Ausente	Menos que o observado no tecido sadio adjacente	Montante semelhante ao observado no tecido sadio adjacente	Mais que o observado no tecido sadio adjacente
<b>Número de fibroblastos</b>	Ausente	<25% fibroblastos jovens e menos diferenciados entre os outros tipos de células	<25–50% fibroblastos jovens e menos diferenciados entre os outros tipos de células	>50% fibroblastos jovens e menos diferenciados entre os outros tipos de células

Adaptado de Meireles *et al.* (2008) e Iordanou *et al.* (2009).

### Análise macroscópica

Para análise macroscópica da área de lesão, foi empregada a técnica de fotogrametria computadorizada utilizando o programa Image-J® (Java versão 6.0) de domínio público, do Instituto Nacional de Saúde (NIH), Bethesda, EUA.

Durante o experimento, foram registradas fotografias digitais por meio de uma câmera digital, Redmi 5, 12 megapixels. As fotografias foram tiradas em três momentos diferentes, primeiro, sétimo e décimo primeiro dia. As fotografias

foram padronizadas com a mesma luminosidade e uma altura de 14 cm da câmera em relação à ferida no dorso do animal, utilizando um suporte metálico para apoio da câmera.

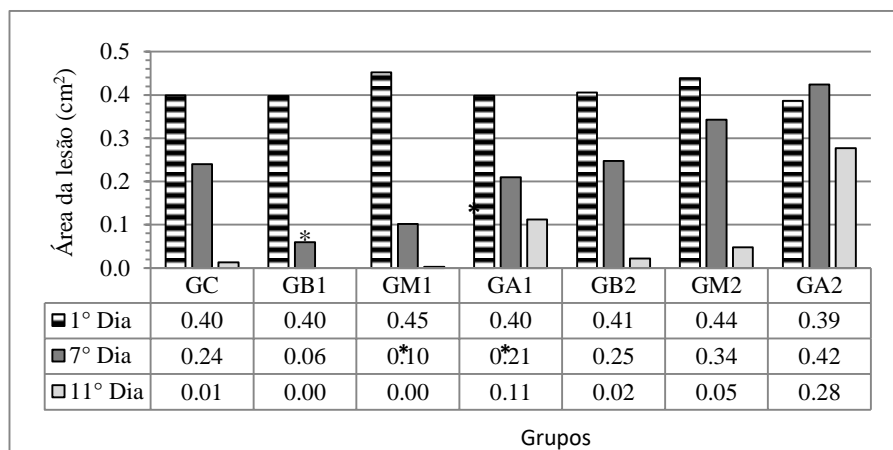
### Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do programa *BioEstat*®, versão 5.0. Para efeito de comparações múltiplas entre os grupos de estudo os dados foram submetidos primeiramente ao teste de normalidade com *Shapiro Wilk*, posteriormente as amostras consideradas normais foram submetidas ao teste paramétrico ANOVA com o pós-teste *Tukey*. Para as variáveis em que os dados não apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste não paramétrico *Kruskall-wallis* seguido de *Student-Newman-Keuls*. As diferenças observadas foram consideradas significantes quando  $p < 0,05$ . Foi realizada também a aplicação do teste estatístico *Tukey*, a fim de identificar as correlações significantes entre os grupos, no 1º, 7º e 11º de experimento.

### 3. Resultados

Os resultados observados na análise macroscópica da área da lesão, tanto do grupo controle quanto dos grupos tratados com alta frequência, são apresentados no Gráfico 1. Os dados de área em centímetros quadrados então dispostos conforme o dia do experimento e seu respectivo grupo. Foi realizada também a aplicação do teste estatístico *Tukey*, a fim de identificar as correlações significantes entre os grupos, no 1º, 7º e 11º de experimento.

**Gráfico 1** – Análise da média da área das lesões em ratos *Wistar* no decorrer do tratamento (1º, 7º e 11º dia) - (n=5).



\*Significativo pelo teste de *Tukey* ( $p < 0,05$ ); GB: Grupo Controle; GB1: Grupo AF intensidade baixa, 60 segundos; GM1: Grupo AF intensidade média, 60 segundos; GA1: Grupo AF intensidade alta, 60 segundos; GB2: Grupo AF intensidade baixa, 120 segundos; GM2: Grupo AF intensidade média, 120 segundos; GA2: Grupo AF intensidade alta, 120 segundos. Fonte: dados da pesquisa (2021).

Com base na análise macroscópica, ao comparar o tempo de redução da área das feridas entre os grupos de tratamento, observou-se que houve uma evolução até o 7º dia com alterações significativas nos grupos que utilizaram a intensidade baixa e média (GB1 e GM1), por 60 segundos, em comparação ao grupo controle (GB1:  $p = 0,025$ ; GM1:  $p = 0,014$ ) e, aos demais grupos que receberam outros parâmetros de aplicação do AF (Gráfico 1). Contudo, no 11º dia não se observou significância estatística nos grupos GB1 e GM1, apesar de apresentarem uma pequena diferença macroscópica com o fechamento completo da área da lesão. Desse modo, verificou-se que o processo de cicatrização nos grupos GB1 e GM1 foi mais rápido em relação aos demais grupos.

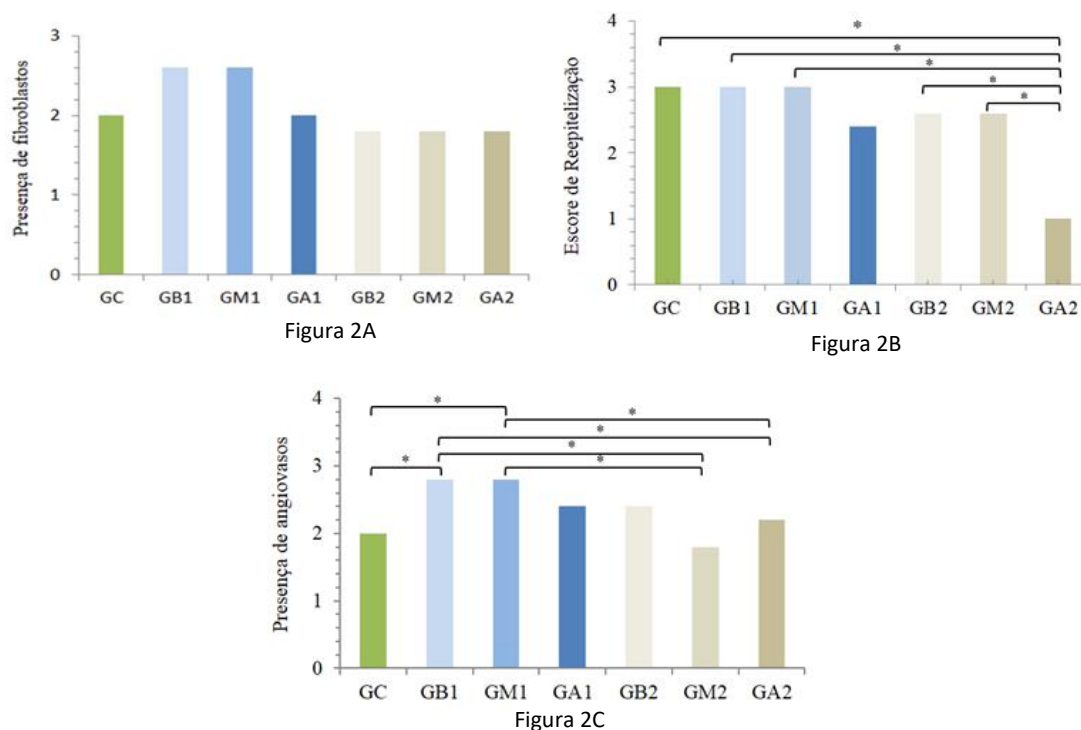


Os testes de correlação não mostraram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os grupos que foram tratados por 60 segundos (GB1, GM1 e GA1), assim como nos grupos tratados por 120 segundos (GB2, GM2 e GA2), não tiveram diferenças significativas entre si. Entretanto, os grupos que foram tratados por 60 segundos (GB1, GM1 e GA1) obtiveram uma diferença significativa ( $p = 0,00001$ ) em comparação aos grupos que foram tratados por 120 segundos (GB2, GM2 e GA2). Ou seja, os grupos que tiveram como variável em comum o tempo de 60 segundos tiveram uma resposta melhor à terapia, obtendo uma maior velocidade de fechamento da área da lesão.

Apesar dos resultados positivos obtidos com os parâmetros dos grupos GB1 e GM1, ocorreu o inverso com os grupos GA1 e GA2, que fizeram uso da intensidade alta (80%) e tempo de aplicação de 60 e 120 segundos respectivamente, não obtendo resultados significativos. Além disso, foi observado (7º dia) no GA2 que ocorreu um aumento de 0,03 cm<sup>2</sup> da área da ferida, ou seja, o AF lesionou o tecido adjacente à lesão. Em diante o processo de reparo tecidual prosseguiu até o último dia de experimento (11º dia), contudo foi bem mais lento em comparação aos outros grupos (Gráfico 1).

Em relação à análise microscópica não houve diferença significativa entre os grupos em relação à quantidade de fibroblastos, Figura 2A. Em relação ao processo de reepitelização foi observado que nenhum grupo apresentou resultado estatisticamente significativo em comparação ao grupo controle (GC). No entanto, o GC apresentou resultado estatisticamente significativo ( $p = 0,0012$ ) em comparação ao grupo GA2. Outros grupos também apresentaram resultados estatisticamente significativos em comparação ao grupo GA2 foram: GB1:  $p = 0,0012$ ; GM1:  $p = 0,0012$ ; GB2:  $p = 0,0206$  e GM2:  $p = 0,0206$ , Figura 2B.

**Figura 2** - Comparação intergrupo das variáveis histológicas por meio do pós-teste *Student-Newman-Keuls*.



\*Significativo com  $p < 0,05$ ; GC: Grupo Controle; GB1: Grupo AF intensidade baixa, 60 segundos; GM1: Grupo AF intensidade média, 60 segundos; GA1: Grupo AF intensidade alta, 60 segundos; GB2: Grupo AF intensidade baixa, 120 segundos; GM2: Grupo AF intensidade média, 120 segundos; GA2: Grupo AF intensidade alta, 120 segundos. Fonte: dados da pesquisa (2021).

Observamos que apenas dois grupos (GB1 e GM1) apresentaram um aumento significativo para o processo de

angiogênese quando comparado ao GC, sendo o valor de  $p=0.0087$ . O GB1 e GM1 também apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparados aos grupos GM2 e GA2. Sendo que o GB1 e GM1 apresentaram  $p=0.0034$  quando comparados ao GM2 e  $p=0.0359$  quando comparados ao GA2, Figura 2C. Desse modo, o estudo evidenciou que para efeito de processo de angiogênese a aplicação do AF com os parâmetros do GB1 e GM1 é eficaz.

#### 4. Discussão

Toda intervenção tecidual visa à eliminação de patologias e o reparo dos tecidos. Há algumas décadas os mecanismos da reparação tecidual, bem como os fatores que a afetam, vêm sendo objeto de estudo de vários pesquisadores na área da saúde. Atualmente, a utilização da estimulação elétrica por meio do gerador de alta frequência (AF) é uma alternativa promissora para o tratamento de feridas complicadas e de difícil cicatrização (Korelo *et al.*, 2013; Schuh *et al.*, 2017; Costa *et al.*, 2019). Tornando-se evidente na última década, onde vários estudos com resultados positivos foram publicados sobre a utilização do AF no tratamento de afecções da pele, entretanto, os estudos clínicos controlados para verificação da efetividade dos parâmetros (intensidade e tempo de aplicação) a serem utilizados são extremamente escassos (Almeida *et al.*, 2017; Tacani *et al.*, 2018). Tal escassez ficou evidente durante a revisão bibliográfica para elaboração deste estudo, onde não foi encontrado qualquer registro de publicação com esse propósito nas bases de dados da internet.

No presente estudo foi possível constatar a eficácia do AF no processo de reparo tecidual, através da utilização dos parâmetros dos grupos GB1 e GM1. Corroborando com os resultados, estudos sugerem que a facilitação da reparação de feridas cutâneas promovida por meio do AF ocorre devido à intensificação dos processos fisiológicos de reparo tecidual, tais como: aumento da síntese proteica; inibição do crescimento bacteriano; facilitação da migração do tecido epitelial; melhora do fluxo sanguíneo e da resistência à tração de tecidos moles (Recio *et al.*, 2012; Bocci, Zanardi, Travagli, 2011). Para Schuh *et al.* (2017), a justificativa por trás do AF gerar tais efeitos no organismo deve-se a sua ação térmica e principalmente a geração de O<sub>3</sub>.

Em relação à eficácia do O<sub>3</sub> por meio do AF é notória a unanimidade entre diversos autores quanto a sua utilização no tratamento de lesões dermatológicas, especialmente naquelas de difícil cicatrização (De Oliveira, 2011; Korelo *et al.* 2013), pois o ozônio propicia efeito antimicrobiano, bactericida e fungicida (Martins *et al.*, 2012; Higa *et al.*, 2007). Esses fatores são essências para uma cicatrização adequada, e por essa razão cada vez mais o AF vem sendo incorporado aos recursos terapêuticos utilizados na prática clínica para o tratamento de lesões cutâneas (Schuh *et al.*, 2017).

Apesar dos resultados positivos obtidos com os parâmetros dos grupos GB1 e GM1, ocorreu o inverso com os grupos GA1 e GA2, que fizeram uso da intensidade alta (80%) e tempo de aplicação de 60 e 120 segundos respectivamente. Não obtiveram resultados significativos ( $p>0,05$ ). Além disso, foi observado (7<sup>o</sup> dia) um aumento da área da lesão no GA2, ou seja, o AF lesionou o tecido adjacente à lesão. Posteriormente, o processo de reparo tecidual prosseguiu até o último dia de experimento (11<sup>o</sup> dia), contudo foi bem mais lento em comparação aos outros grupos. Resultado semelhante encontrado no estudo experimental de Sousa *et al.* (2015), onde foram realizadas onze aplicações do gerador de alta frequência, sendo uma por dia, utilizando o eletrodo cauterizador, intensidade alta e tempo de aplicação de 120 segundos. Os resultados de tais parâmetros não apresentaram eficácia na análise.

Contudo, vale destacar que no presente estudo além de não apresentar resultados significantes com a utilização de tais parâmetros, foi verificado efeito lesivo e retardo do processo de cicatrização. Esse efeito danoso ao tecido se assemelha ao processo de cauterização elétrica, onde a passagem da corrente elétrica sobre os tecidos vivos gera um desequilíbrio térmico nas proteínas intracelulares resultando na destruição tecidual (Campagnolo *et al.*, 2012). É importante ressaltar que o eletrodo do tipo cauterizador tem uma facilidade maior para intensificar a corrente elétrica do AF em um determinado ponto devido



concentrar a intensidade de aplicação em uma superfície menor em comparação aos demais tipos de eletrodos. Tal fato poderia justificar o efeito danoso ao tecido observado no presente estudo.

Ainda nessa perspectiva, para o tratamento das afecções da pele os eletrodos mais utilizados com base na literatura, são o do tipo: cauterizador e cogumelo (Rodrigues *et al.*, 2019; Sousa *et al.*, 2015; Sá *et al.*, 2010; Korelo *et al.*, 2013). Os critérios para escolha do tipo eletrodo ainda não são bem definidos e se baseiam principalmente na capacidade de produção de faíscas e, conseqüentemente, liberação de ozônio (Korelo *et al.*, 2013; Borges, 2010). Por essa razão, sugere-se ter cautela na escolha do tipo de eletrodo, principalmente, se a área a ser tratada for pequena e a intensidade de aplicação a ser utilizada for alta, tendo em vista o risco de exacerbação da intensidade e destruição tecidual.

Além disso, outro fator que pode influenciar no sucesso terapêutico do gerador de alta frequência é a quantidade de aplicações por dia. No presente estudo, foram realizados no total de onze aplicações, sendo uma por dia, conseqüentemente, apresentado resultados estatisticamente significativos nos grupos GB1 e GM1. Resultado semelhante ao de outros estudos, que realizaram pelo menos uma aplicação por dia (Machado, 2017; Korelo *et al.*, 2013; Sá *et al.*, 2010). No entanto, aplicações inferiores a uma por dia não demonstra eficácia, como foi observado no estudo de Santos *et al.* (2016), em que o AF foi aplicado apenas duas vezes por semana, durante cinco semanas, não obtendo resultados satisfatórios. Desse modo, os estudos evidenciam que a quantidade de aplicações pode levar a rumos diferentes no que diz respeito ao sucesso do reparo tecidual.

Quanto aos achados histológicos, à aplicação do gerador de alta frequência com baixa e média intensidade se mostrou eficaz no processo de angiogênese, havendo uma intensificação do estímulo para a proliferação de novos vasos sanguíneos. Corroborando com tais resultados, Sousa *et al.* (2015) por meio de avaliação via Escala de Cicatrização de Vancouver verificaram melhora da vascularização e um tecido flexível quando aplicado o gerador de alta frequência em lesão por pressão. O estudo de Pehepiorka *et al.* (2020) que buscou analisar o efeito da ozonioterapia na cicatrização de feridas na mucosa bucal de ratos também mostrou que houve um grau maior de angiogênese e um melhor aspecto da cicatrização no grupo de ozônio.

A eficácia do AF no processo de angiogênese pode ser explicada por meio da soma de alguns fatores como, aumento da oxigenação tecidual, aumento da expressão de citocinas e de fatores de crescimento, que são estimulados, principalmente, por meio da ação do ozônio (Pehepiorka *et al.*, 2020). Além disso, os mesmos autores evidenciaram que no 7º dia houve maior contagem de fibroblastos, sendo estatisticamente significativo, resultando em uma rápida contração da ferida, porém nossos achados não foram estatisticamente significativos quanto à produção de fibroblastos mesmo havendo uma maior produção comparada ao grupo controle.

Por fim, este estudo demonstra a possibilidade da utilização segura e eficaz do AF nos tratamentos de afecções cutâneas, desde que sejam utilizados os parâmetros adequados de aplicação, desse modo sendo possível promover a aceleração da reparação tecidual. Entretanto, acredita-se que novas pesquisas ainda deverão ser realizadas, contribuindo ainda mais para consolidar a utilização desse recurso terapêutico na prática clínica atual. Além disso, é imprescindível que os novos estudos não negligenciem as informações a respeito dos parâmetros utilizados (tempo e intensidade de aplicação). Tais informações são essenciais para o esclarecimento da aplicabilidade terapêutica do gerador de alta frequência e não deve ser negligenciada.

## 5. Conclusão

Portanto, nesta pesquisa foi possível observar que os parâmetros de aplicação do AF podem interferir de maneira benéfica ou maléfica no processo de reparo tecidual. Sendo que a utilização de intensidades altas (80%), por 120 segundos, associada ao eletrodo cauterizador demonstrou-se ineficaz devido seu estímulo nocivo ao tecido em regeneração. Logo, com a utilização adequada dos parâmetros de AF, de intensidade baixa (20%) ou média (50%), por 60 segundos, proporciona uma melhora significativa no processo de reparo tecidual, acelerando a cicatrização da ferida.

Todavia, para maiores conclusões sobre a eficácia deste recurso no processo de reparo tecidual, mais estudos são recomendados para conhecer os fatores que afetam o processo de reparo desses tecidos. Desse modo, sugerimos que sejam analisados o tipo de eletrodo e a quantidade de aplicações por dia. Nessa perspectiva, esta pesquisa agrega valor à procura dos parâmetros adequados à utilização segura e eficaz do AF no tratamento feridas cutâneas.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas do Pará (FAPESPA) pelo incentivo e amparo financeiro e a equipe técnica do Biotério da UEPA - Campus XII, por toda assistência durante a realização da pesquisa.

## Referências

- Bocci, V., Zanardi, I., & Travagli, V. (2011). Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. *Medical gas research*, 1(1), 6.
- Borges, F. D. S., Scorza, F. A., & Jahara, R. S. (2010). Modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas. *Phorte*, 224-63.
- Brasileiro, F. G., Bogliolo patologia. (9a ed.), *Guanabara Koogan*, 2017
- Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA. Disponível em: <[http://ses.sp.bvs.br/lis/resource/35979#.Ww651Sin\\_IU](http://ses.sp.bvs.br/lis/resource/35979#.Ww651Sin_IU)>.
- Campagnolo, M. I. (2012). *Avaliação da cauterização completa da luz tubária com diferentes potências de eletrocoagulação bipolar para esterilização feminina*.
- Costa, L. A., & Guimarães, M. M. (2019). O Uso da Alta Frequência na Cicatrização de Lesão por Pressão/The Use of High Frequency in Pressure Injury Healing. ID on line. *Revista de psicologia*, 13(48), 93-100.
- De Oliveira, L. M. N. (2011). Utilização do ozônio através do aparelho de alta frequência no tratamento da úlcera por pressão. *Revista de Atenção à Saúde*, 9(30).
- Higa, D. R., Cese, P. C., Falcão, R. M. M., Cese, A. C., Chang, M. R., Borges, F. S., & Madeira-Oliveira, J. T. (2007). Efeito do gerador de alta frequência sobre cultura de *Candida tropicalis*. *Revista de Especialização em Fisioterapia*, 1(1), 1-8.
- Hochman, B., Nahas, X. F., Filho, R. S. O., Ferreira, L. M. (2005). Desenhos de pesquisa. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 20, 2- 9.
- Jordanou, Panagiota et al. Efeito da luz polarizada visível e infravermelha no processo de cicatrização de feridas cutâneas de espessura total: um estudo experimental. *Fotomedicina e cirurgia a laser*. 27(2), 261-267, 2009.
- Korelo, R. I. G., Oliveira, J. J. D., Souza, R. S. A., Hullek, R. D. F., & Fernandes, L. C. (2013). High frequency generator as treatment in scar pressure ulcers: pilot study. *Fisioterapia em Movimento*, 26, 715-724.
- Machado, R. S. (2017). Comparação dos efeitos do laser de baixa potência, do gerador de alta frequência e do curativo no tratamento de pacientes com lesão por pressão durante a internação hospitalar: ensaio clínico randomizado.
- Martins, A., Silva, J. T. D., Graciola, L., Fréz, A. R., Ruaro, J. A., & Marquetti, M. D. G. K. (2012). Efeito bactericida do gerador de alta frequência na cultura de *Staphylococcus aureus*. *Fisioterapia e Pesquisa*, 19, 153-157.
- Mathilde, R. N. F, Lydia, C, Steven, B, Ewa, M, Steven, O, Nicole, querida, Pamela Ritchie, Arto Määttä, Iakowos Karakesisoglou, Glyn Nelson, Thomas von Zglinicki, Teresa Dicolandrea, Robert Isfort, Charles Bascom, Stefan Przyborski.
- Meireles, G. C. et al. Efectividad de la fotobiomodulación láser a 660 o 780 nanómetros en la reparación de quemaduras de tercer grado en ratas diabéticas. *Fotomedicina y cirugía láser*, v. 26, núm. 1, pág. 47-54, 2008.
- Pchepiorka, R., Moreira, M. S., da Silva Lascane, N. A., Catalani, L. H., Allegrini Jr, S., & de Lima, N. B. (2020). Efeito da ozonioterapia na cicatrização de feridas na mucosa bucal de ratos. *Arquivos de Biologia Oral*, 119, 104889.
- Recio, AC, Felter, CE, Schneider, AC, & McDonald, JW (2012). Estimulação elétrica de alta voltagem para o manejo de úlceras de pressão estágio III e IV em adultos com lesão medular: demonstração de sua utilidade para feridas recalcitrantes abaixo do nível da lesão. *O jornal da medicina da medula espinhal*, 35 (1), 58-63.
- Rodrigues, A. B. F., da Silva, R. A., Hage, R., & Khouri, S. (2019). Estudo comparativo de dois eletrodos associados ao plasma elétrico de alta frequência na redução do crescimento de cepas clínicas de *Malassezia* spp. *Revista Amazônia: Science & Health*, 7(3), 2318-1419.
- Sá, H. P., Nunes, H. M., do Santo, L. A. E., de Oliveira Júnior, G. C., da Silva, J. M. N., Carvalho, K. C., & dos Santos Alves, W. (2010). Estudo comparativo da ação do laser GaAlInP e do gerador de alta frequência no tratamento de feridas cutâneas em ratos: estudo experimental. *ConScientiae saúde*, 9(3), 360-366.
- Santos, C G M D, Melo, B V D, & Mello, S M B D (2016). Comparação dos efeitos da laserterapia e corrente de alta frequência na cicatrização de feridas abertas.

Schuh, C. M., Alves, K. A., Wollmann, L., Rodrigues, P. R., Araújo, T. O., & Sudbrack, A. C. (2017). Associação da alta frequência, laser de baixa potência e microcorrentes no tratamento da lesão por pressão. *Cinergis*, 18(2), 99-103.

Sousa, R C D, Maia Filho, A L M, Nicolau, R A, Mendes, L M S, Barros, T L D, & Neves, S M V (2015). Ação do laser AlGaInP e do gerador de alta frequência na cicatrização de feridas cutâneas. Um estudo comparativo. *Acta cirurgica brasileira*, 30, 791-798.

Tacani, P M, Tacani, R E, Machado, A., Montezello, D., Góes, J., Marx, A G, & Liebano, R E (2018). Gerador de Alta Frequência na Cicatrização da Úlcera de Marjolin após Ressecção de Carcinoma. *Avanços no tratamento de feridas*, 7 (5), 165-170.