

اثر درمانی جریان مستقیم الکتریسیته بر لیشمانیوز جلدی ناشی از لیشمانیا ماژور در مدل حیوانی

گیلدا اسلامی^۱، دکتر سید حسین حجازی^۲، دکتر عبدالحسین دلیمی اصل^۳، مهندس سید مهدی حجازی^۴

چکیده

پیش زمینه و هدف: لیشمانیوز، طیفی از بیماری های بالینی مختلف است که توسط گونه های جنس لیشمانیا ایجاد می شود. حداقل ۲۰ گونه از این جنس می تواند توسط پشه های خاکی به انسان، سگ و میزبانان مختلف اهلی و وحشی منتقل شده و ایجاد لیشمانیوز جلدی، منتشره جلدی، جلدی-مخاطی و احشایی نماید. عامل لیشمانیوز جلدی یا سالک در ایران گونه های تروپیکا و ماژور می باشد. با توجه به اهمیت بیماری لیشمانیوز و شایع بودن آن در بیش از ۸۰ کشور جهان، سازمان بهداشت جهانی این بیماری را جزو بیماری های با اولویت از نظر کنترل و مبارزه، منظور نموده است. از جمله این برنامه ها طراحی روش های قاطع درمان افراد گرفتار به منظور کاستن از آلام و عوارض اجتماعی-روانی بیماری و نیز در مورد انواعی که انسان خود مخزن بیماری محسوب می شود، کنترل و پیشگیری از انتشار بیماری می باشد.

مواد و روش: در این مطالعه از القاء جریان مستقیم الکتریسیته به منظور ابداع روش درمانی مؤثر با دوره درمانی قابل قبول و حداقل تأثیر معادل با داروهای شیمیایی استفاده گردید. موش های ماده BALB/c و NMRI ۴ تا ۶ هفته ای هر کدام در دو گروه آزمون و شاهد ۲۰ تایی تقسیم شدند. هر کدام از موش های گروه آزمون مورد تزریق ۰.۶×۲ انگل لیشمانیا ماژور (MRHO/IR/75/ER) در قاعده دم قرار گرفتند، طی ۳ هفته هر هفته ۲ بار تحت تأثیر ولتاژ مشخصی از جریان مستقیم الکتریسیته با پروتکل های مختلف قرار گرفتند. گروه کنترل شامل موش هایی بود که فقط با انگل آلوده شده بودند و هیچ عمل درمانی روی آنها انجام نمی شد. جهت اطمینان از قابل تکرار بودن نتایج، روش درمانی انتخاب شده سه بار تکرار شد.

نتایج: آنالیز نتایج با استفاده از تست آماری آنالیز واریانس در مقایسه با گروه کنترل مشخص نمود که روش فوق می تواند باعث بهبود صد در صد موش ها پس از گذشت سه هفته از شروع درمان شود ولی با قطع دوره درمانی و حدود سه هفته بعد، عود بیماری مشاهده می گردد. در موش های گروه NMRI بازگشت بیماری مشاهده نگردید.

بحث و نتیجه گیری: الکتریسیته درمانی در صورت مفید بودن می تواند علاوه بر درمان بیماری، عوارض و هزینه های درمان با ترکیبات سمی آنتی موان را حذف کند.

کل واژگان: الکتروتراپی، لیشمانیا ماژور، درمان، مدل حیوانی

مجله پزشکی ارومیه، سال پانزدهم، شماره دوم، ص ۱۰۶-۱۰۰، تابستان ۱۳۸۳

آدرس مکاتبه: گروه انگل و قارچ شناسی- دانشکده پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان- اصفهان - تلفن: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۴۲۷ و ۰۹۱۳۳۱۱۸۷۱۱

۱- دانشجوی دکترای انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲- استادیار گروه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳- استاد انگل شناسی دانشکاه تربیت مدرس تهران

۴- استادیار گروه مدیریت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

مقدمه

از گیاهان و مواد معدنی (۶)، تزریق داخل ضایعه با استفاده از مپاکرین، امین و سولفات اسید بربرین، آنتی موان های پنج ظرفیتی (۷ و ۹) و پماد با استفاده از موادی مثل پاراموایسین و ایمیدازول می باشد (۱۰). درمان سیستمی شامل استفاده از ترکیبات دارویی همانند آنتی موان های پنج ظرفیتی، آفوتریسین B، دی آمیدین های آروماتیک، آلپورینول، پاراموایسین، مشتقات ایمیدازول و غیره می باشد (۱۱ و ۱۲ و ۱۳ و ۱۴). درمان های فیزیکی شامل کورتاژ زخم، اشعه درمانی، گرما درمانی و سرما درمانی می باشد (۱۵ و ۱۶ و ۱۷ و ۱۸). در پزشکی از تحریکات الکتریکی برای بهبود زخم در انسان و حیوان استفاده شده است (۱۹ و ۲۰ و ۲۱) زیرا مواجهه با الکتریسته می تواند اثر قابل توجهی بر رفتارهای سلولی بگذارد (۲۲ و ۲۳). در این مطالعه اثر درمانی جریان مستقیم الکتریسته بر درمان زخم لیشرمانیوز پوستی یا سالک مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش

سویه مورد استفاده جهت انجام آزمایش: سویه استاندارد لیشرمانیا ماژور^۱ (MRHO/IR/75/ER) تهیه شده از گروه انگل و قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می باشد.

موش های مورد مطالعه از جنس BALB/c و NMRI بودند که از حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تهیه شدند. هر کدام از موش های مزبور در دو گروه ۲۰ تایی کنترل و آزمون مورد بررسی قرار گرفتند. لازم به ذکر است برای هر یک از نژادها، یک گروه کنترل عاری از انگل در نظر گرفته شد.

ابتدا گونه انگل موجود به شیشه های محیط کشت N.N.N. منتقل شد. از RPMI 1640 توام با ۱۰ درصد سرم جنین گوساله و آنتی بیوتیک های جنتامایسین، استرپتومایسین و پنی سیلین G به عنوان فاز مایع استفاده شد. پس از آنکه تعداد انگل ها به حد قابل توجهی رسید، جهت دستیابی به انگل های فاقد آگار و گلبول های قرمز، کشت انگل در محیط RPMI

اصطلاح لیشرمانیوز نام کلی برای گروهی از بیماریهاست که توسط تک یاخته هایی از جنس لیشرمانیا^۱ ایجاد می شود (۱). ناقل بیماری، پشه خاکی است که با گزش آن، پروماستیگوت ها به داخل پوست تلقیح می شوند و سپس انگل ها به صورت اماستیگوت در ماکروفاژ تکثیر می یابند. یک واکنش گرانونولو-ماتوز باعث تشکیل یک ندول موضعی می گردد که هر گاه جریان خون ناحیه در اثر آسیب ناشی از انگل ضعیف شود زخمی می گردد (۱). تعداد موارد جدید لیشرمانیوز سالیانه دو میلیون نفر تخمین زده می شود ولی فقط ۶۰۰۰۰۰ مورد بیماری به طور رسمی گزارش می گردد. از دو میلیون مورد جدید، ۱/۵ میلیون نفر لیشرمانیوز جلدی و ۵۰۰۰۰۰ مورد شامل اشکال احشایی است (۲ و ۳ و ۴). لیشرمانیوز به صور جلدی، منتشره جلدی، جلدی-مخاطی و احشایی وجود دارد که از این سه نوع لیشرمانیوز انسانی، فقط نوع جلدی و احشایی در ایران وجود دارند. ایران کانون مهمی برای سالک نوع روستایی است که یکی از مهمترین کانون های آن اصفهان است (۱).

انگل لیشرمانیا دارای گونه های متعدد بیماریزا و غیر بیماریزا می باشد. انواع گونه ها دارای ناقل، میزبان و مخزن اختصاصی خود می باشند. گوناگونی میزبان ذخیره و سایر شرایط اپیدمیولوژیک حاکم بر این بیماری مؤید آن است که کنترل عفونت های ناشی از لیشرمانیا بسیار مشکل می باشد (۵). لذا درمان مناسب می تواند یکی از قاطع ترین راه هایی باشد که از آلام و عوارض اجتماعی-روانی بیماری در حد زیادی بکاهد و در مورد انواعی که انسان خود مخزن بیماری محسوب می شود به امر کنترل و پیشگیری از انتشار بیماری کمک نماید (۵). درمان لیشرمانیوز جلدی یا سالک از دیرباز مورد توجه بوده است. مدل های درمانی قدیم و جدید بسیاری برای این بیماری پیشنهاد شده است. به طور کلی برای درمان لیشرمانیوز جلدی سه خط مختلف درمانی استفاده شده است که شامل درمان موضعی، درمان سیستمی و درمان فیزیکی می باشد (۶). درمان موضعی شامل سه حالت درمان موضعی بومی با استفاده از عصاره های

ضایعه دو اسمیر مستقیم تهیه و بخشی از نمونه برداشت شده به محیط کشت N.N.N. انتقال یافت.

در تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از بررسی ها و تعیین اختلاف معنی دار بین گروه های آزمون و کنترل هر نژاد، از آزمون آنالیز واریانس استفاده شد.

نتایج

بر اساس نتایج، انگل ها ابتدا در محیط N.N.N. و سپس در محیط RPMI 1640 به تعداد مورد نظر رسید. پس از ۳ تا ۵ هفته از تزریق انگل ها به موش ها ابتدا ندول و سپس زخم ها نمایان شد.

نتایج حاصل از اعمال الکتریسته روی موش ها جهت دستیابی به نوع رفتار مقاومت اهمی موش: از آزمایش های انجام شده مشخص شد که ولتاژ ۳ دریافتی از منبع تغذیه برای موش یکی از مناسب ترین ولتاژهای درمانی می باشد زیرا حیوان هم رفلکس عضلانی کمتری نشان می دهد و هم می تواند بدون ایجاد زخم روی پوست موش برای درمان مورد استفاده قرار گیرد. بدین ترتیب حداکثر ولتاژ قابل تحمل و نیز زمان مناسب برای اعمال درمان انتخاب و تعیین شد که عبارت از ولتاژ ۳ دریافتی از منبع تغذیه با زمان ۱۲۰ ثانیه بود.

نتایج حاصل از اعمال الکتریسته روی موشهای BALB/c و NMRI آلوده به لیشمانیوز جلدی: همانطور که در نمودارهای ۱ و ۲ مشاهده می شود در آغاز مطالعه، میانگین اندازه زخم ها در موش های BALB/c، ۱/۷۵ میلیمتر و در موش های NMRI، ۱/۴۵ میلیمتر بود. پس از اعمال الکتریسته، کاهش سریعی از نظر اندازه زخم در گروه آزمون هر دو نژاد مشاهده شد به صورتی که پس از طی میانگین ۱/۵ هفته از زمان شروع درمان، زخم در گروه های آزمون هر دو نژاد کاملاً بهبود یافت. موش های گروه کنترل BALB/c به موازات درمان گروه آزمون افزایش تدریجی اندازه زخم را نشان دادند به طوری که پس از طی زمان درمان و پیگیری، میانگین اندازه زخم در موش های BALB/c، ۱۷ میلیمتر بود، گروه کنترل موش های NMRI تا دو هفته اول به موازات درمان در گروه آزمون

1640 توام با مکمل FCS^۱ ۱۰ درصد و آنتی بیوتیک های عنوان شده انجام شد.

محیط کشت دربردارنده انگل لیشمانیا در فاز ایستا به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد سپس رسوب حاوی انگل با PBS^۲ شستشو داده شد، پس از شستشو، انگل ها با PBS به رقت مورد نظر تنظیم شد به طوری که در هر ۰/۱ میلی لیتر از محلول آماده شده، ۲×۱۰^۶ انگل وجود داشت. سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول مزبور توسط سرنگ های انسولین به قاعده دم هر موش تزریق شد.

مدار تولید جریان مستقیم: این مدار شامل یک رئوستا و یک ولت متر و یک منبع تغذیه بود. ولت متر و رئوستا به صورت موازی و این مجموعه با منبع تغذیه به صورت سری اتصال یافت.

الکترودها: الکترودهای مورد استفاده جهت انجام آزمایش از جنس استیل بود.

نوع الکتریسته مورد استفاده: جریان مستقیم الکتریسته. یافتن مقاومت اهمی موش: جهت اعمال جریان الکتریسته روی موش ها، در ابتدا لازم بود مقاومت اهمی موش نسبت به جریان الکتریسته مشخص شود. جهت انجام این کار، ولتاژهای متفاوت در زمان های مختلف به موش ها اعمال شد و واکنش های عصبی و ماهیچه ای موش و نیز ایجاد یا عدم ایجاد زخم روی پوست موش مورد بررسی قرار گرفت.

موش ها به مدت سه هفته و در هفته دو بار و هر بار به مدت ۱۲۰ ثانیه تحت تأثیر جریان مستقیم الکتریسته با ولتاژ ۳ با میانگین شدت جریان ۰/۰۶۵ میلی آمپر قرار گرفتند. برای اطمینان از نتایج حاصله، مطالعه سه بار تکرار شد.

زخم موش های کنترل و آزمون از آغاز درمان دو بار در هفته به مدت ۵ ماه، با کولیس اندازه گیری و یادداشت شد. همچنین پس از التیام زخم به منظور اطمینان از حذف انگل ها، از هر

1 - Fetal Calf Serum

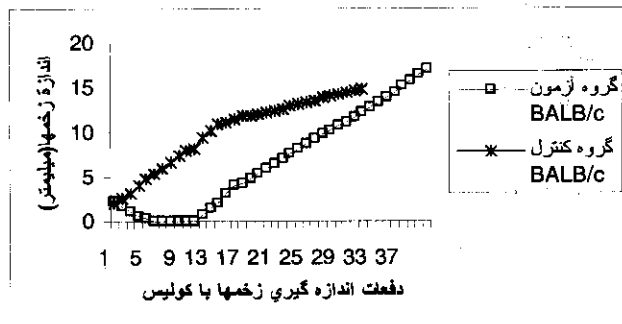
2 - Phosphate Buffer Sulphate

موش‌های گروه آزمون BALB/c پس از حدود سه هفته از پایان درمان، عود بیماری در همان منطقه التیام یافته مشاهده گردید.

افزایش تدریجی در اندازه زخم نشان دادند ولی پس از آن با کاهش تدریجی اندازه زخم، پس از ۵/۵ هفته کاملاً بهبود یافتند. همانطور که در نمودارهای ۱ و ۲ مشخص می باشد، در

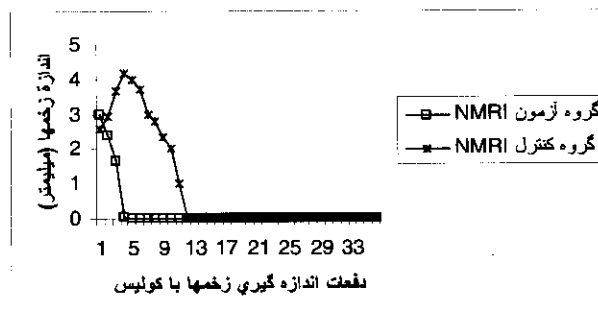
نمودار شماره ۱- میانگین قطر زخم ها در گروههای آزمون و کنترل موش های BALB/c

بر حسب میلیمتر (دو بار در هفته از شروع درمان)



نمودار شماره ۲- میانگین قطر زخم ها در گروه های آزمون و کنترل موش های NMRI

بر حسب میلیمتر (دو بار در هفته از شروع درمان)



بحث

همان‌طور که عنوان شد، درمان موش‌های ALB/c و NMRI آلوده به لیشمانیوز جلدی با جریان مستقیم الکتریسته مؤثر برای درمان زخم‌ها با ولتاژ ۳ دریافتی از منبع تغذیه با میانگین شدت جریان ۰/۰۰۶۵ میلی آمپر با میانگین زمان $14/5 \pm 30$ دقیقه با طیف زمانی ۱۰ تا ۵۰ دقیقه باعث بهبود صد در صد موش‌های BALB/c و NMRI طی میانگین ۱/۵ هفته با میزان بهبود ۴۲/۶۹ درصد در هفته شد. قابل توجه است که این طیف زمانی برای درمان بسیار کمتر از مدت زمان درمانی می باشد که Ovington و Davis برای درمان زخم‌های سادهٔ کوچک هندی عنوان کردند (۲۴). آنها گزارش کردند که ۶۰ دقیقه می تواند زمان مناسبی برای درمان باشد و افزایش این زمان تا ۲۳ ساعت میزان بهبود را افزایش نمی بخشد (۲۴). قابل ذکر است که در موش‌های BALB/c پس از حدود سه هفته از درمان عود بیماری در همان منطقهٔ التیام یافته مشاهده شد. توجه این امر می تواند مربوط به احشایی شدن بیماری در موش‌های BALB/c باشد به طوری که حتی در شرایط بهبود بیماری به دلیل موجود بودن این انگل در احشاء حیوان، عود بیماری مجدداً مشاهده شد ولی با وجود عود بیماری، موش‌های BALB/c تا پایان ۵ ماه پیگیری مطالعه زنده بودند در صورتی که تا پایان ۵ ماه پیگیری همهٔ موش‌های گروه کنترل مبتلا به لیشمانیوز جلدی مرده بودند. در این مطالعه مکانیسم تأثیر جریان الکتریسته در دو احتمال مطرح می‌شود اول اینکه الکتریسته با اثر روی بافت‌های زندهٔ میزبان باعث فعال شدن سیستم کنترلی مرحله التیام ضایعه می‌شود و دوم اینکه ممکن است جریان الکتریسته با اثر مستقیم روی انگل مشابه آنچه در سایر مطالعات روی باکتری‌ها دیده شده است (۲۵ و ۲۶ و ۲۷) باعث از بین رفتن انگل‌ها شده است و یا هر دوی این عوامل به‌طور سینرژیست با یکدیگر باعث التیام شده است. در مورد تئوری اول می‌توان به نکات زیر اشاره کرد:

تحریکات الکتریکی باعث مهاجرت سلول‌های اپیدرم (۲۸)، جذب سلول‌های نوتروفیل و ماکروفاژ (۲۹)، تحریک

پرولیفراسیون و تکثیر فیروپلاست‌ها و افزایش سنتز DNA می‌شود (۳۰ و ۳۱ و ۳۲ و ۳۳). تحریکات الکتریکی باعث فعال شدن اعصاب جلدی ناحیه می‌شود که این عامل می‌تواند باعث افزایش جریان جریان خون در همان ناحیه شود (۲۴ و ۳۴). همچنین تحریکات الکتریکی باعث تغییر در دما و pH می‌شود این تغییرات می‌تواند باعث تحریک متابولسم سلولی شود (۲۲). از طرفی مشخص گردیده است که چنین تحریکاتی موجب بروز رستور فاکتور رشد β روی فیروپلاست‌ها می‌شود (۳۵ و ۳۶).

در مورد تئوری دوم یعنی اثر الکتریسته روی انگل و کشته شدن آن نیز تقریباً می‌توان نظر قاطعی داد چرا که این مورد در بسیاری از مطالعات در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته و تأیید شده است. طبیعی خواهد بود که اگر عامل بیماری از بین رود، زخم نیز بهبود یابد. به‌هر حال به‌طور خلاصه چنین به‌نظر می‌رسد که با تحریک مساعی هر دو عامل یعنی اثر الکتریسته روی کشته شدن و مهار رشد انگل و نیز اثر الکتریسته روی تسریع بهبود زخم یا مکانیسم‌های عنوان شده می‌توان التیام زخم لیشمانیوز جلدی را روی موش‌های BALB/c و NMRI توجیه نمود. به هر حال جهت رسیدن به دانسته‌های بیشتر، استفاده از سایر جریانات الکتریکی برای درمان لیشمانیوز جلدی و نیز انجام چنین مطالعه‌ای بر روی نمونهٔ انسانی و نیز اثر جریان الکتریسته بر حیات انگل کلون شده در محیط جامد و بررسی‌های ایمنی‌شناسی طی درمان الکتریکی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و تقدیر

با تشکر از مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک مرکز تحقیقاتی صدیقهٔ طاهره که در این تحقیق ما را یاری نمودند. همچنین از زحمات آقای مهندس سیدمهدی حجازی، آقای ایمان مرادی، خانم زرین شریف‌نیا، آقای احمد حسینی و خانم نسیم پرکار قدردانی می‌شود.

References:

- 1- اردهالی ص: انگل لیسمانیا و لیسمانیوزها. چاپ اول، تهران، مرکز نشر دانشگاهی، ۱۳۶۴، ص ۱۰۰-۵۰.
- 2- WHO: Leishmaniasis: Tropical Disease Research (T.D.R): Progresses: 1995-1996: Thirteen Program Report. Geneva, World Health Organization, 1997: 101-105.
- 3- Bray R S: Note on the history of cutaneous leishmaniasis in the Mediterranean and Middle East area. Parasite, 1985, 291(3): 175-179.
- 4- WHO: Gender and leishmaniasis in Colombia-Gender Tropical Disease. Geneva, World Health Organization, 1997: 3.
- 5- Schlein Y, Jacobson R L: Why is man an unsuitable reservoir for the transmission of *Leishmania major*? Exp Parasitol, 1996, 82(3): 298-305.
- 6- Dowlati Y: Treatment of cutaneous leishmaniasis (Old World). Clin Dermatol, 1996, 14: 513-517.
- 7- WHO: Technical Report Series: Control of Leishmaniasis: Report of a WHO expert committee, 1990, 793: 1-158.
- 8- Kellum R E: Treatment of cutaneous leishmaniasis with an intralisonal drug (pentostam). J Am Acad Dermatol, 1986, 15: 620.
- 9- Marinkelle C: The control of leishmaniasis. Bull WHO, 1981, 58 : 807-818.
- 10- Soto J, Hernandez N, Mejia H, Grol M and Berman J: Successful treatment of New World cutaneous leishmaniasis with a combination of topical paromo-mycin methylbenzethonium chloride and injectable meglumine antimonate. Clin Infect Dis, 1995, 20: 47-51.
- 11- Herwaldt B L, Berman J D: Recommendation for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (pentostam) and review of pertinent clinical studies. Am J Trop Med Hyg, 1992, 46: 296-306.
- 12- Dietze R, Fagundes S M S, and Brito E F: Treatment of kala-azar in Brazil with amphocil (amphotericin B cholestrol alispersion) for 5 days. Trans R S D C Trop Med Hyg, 1995, 89: 309.
- 13- Momeni A Z, Ammin Javaheri M: Treatment of recurrent cutaneous leishmaniasis. Int J Dermatol, 1995, 34: 129-133.
- 14- Hebburn N C, Tidman M J, Hunter J A: Aminositidine (paromomycin) versus sodium stibogluconate for the treatment of American cutaneous leishmaniasis. Trans R S D S Trop Med Hyg, 1994, 88: 700-703.
- 15- Currie M A: Treatment of cutaneous leishmaniasis by curetage. Br Med J, 1983, 287: 1083.
- 16- Dostrovisky A, Sagher F: Treatment of cutaneous leishmaniasis by Grenzray. Arch Dermatol Syphilol, 1942, 45: 1868-1874.
- 17- Navin T R, Arana BA, and Arana FE: Placebo controlled clinical trial of meglumine antimonate vs. localized controlled heat in the treatment of cutaneous leishmaniasis in Guatemala. Am J Trop Med Hyg, 1990, 42: 43-50.
- 18- Bassouny A E I, Meshad M, Taloat M: Cryosurgery in cutaneous leishmaniasis. Br J Dermatol, 1982, 107: 467-474.
- 19- Gault W R, Gatens P F: Use of low intensity direct current in management of ischemic skin ulcers. Phys Ther, 1976, 56: 265-269.
- 20- Kloth L C, Feedar J A: Acceleration of wound healing with high voltage monophasic pulsed current. Phys Ther, 1988, 68: 503-508.
- 21- Wolcott LE, Wheeler PC, Hardwicke HM: Accelerated healing of skin ulcers by electrotherapy. South Med J, 1969, 62 : 795-801.
- 22- Bourguignon G J, Bourguignon L Y: Electric stimulation of protein and DNA synthesis in human fibroblasts in vitro. FASEB, 1987, 1: 398-402.
- 23- Reich J D, Cazzaniga A L, Mertz P M: The effect of electrical stimulation of the number of mast cells in healing wounds. J Am Dermatol, 1991, 25 : 40-46.
- 24- Baker L L, Chambers R, De Muth S K, Villar F: Effects of electrical stimulation on wound healing in patients with diabetic ulcers. Diabetes care, 1997, 20(3): 405-425.

- 25- Rowley B A, McKenna J M, Chase G R, Wolcott L E: The influence of electrical current on an infecting microorganism in wounds. *Ann N T Acad Sci*, 1974, 238: 543-552.
- 26- Fakhri O, Amin N: The effect of low voltage electrical therapy on the healing of resistant skin burns. *J Burn Care Rehabil*, 1987, 8: 15-18.
- 27- Wood JM, Evans PE 3rd, Schallreuter KU, Jacobson WE, Sufit R, Newman J, White C, Jacobson M: A multicenter study on the use of pulsed low-intensity direct current for healing chronic stage II and stage III decubitus ulcers. *Arch Dermatol*, 1993, 129(8): 999-1009.
- 28- Winter G D: Movement of epidermal cells over the wound surface: Advances in Biology of the skin. *Wound Healing*, 1964, 5: 113.
- 29- Orida N, Feldman J D: Directional protrusive activity in motility in macrophages induced by extracellular electrical fields. *Cell Motil*, 1982, 2: 243-255.
- 30- Basset C, Hermann I: The effect of electrostatic fields on macromolecular synthesis by fibroblasts in vitro. *J Cell Biol*, 1986, 39: 90.
- 31- Feddar J A, Kloth L C: Acceleration of wound healing with high voltage, monophasic, pulsed current. *Phys Ther*, 1988, 68: 503-508.
- 32- Gentskow G D, Miller K H: Electrical stimulation for dermal wound healing. *Clin Pediatr Med Surg*, 1991, 8: 827-841.
- 33- Erickson C A, Nuccitelli R: Embryonic fibroblast motility and orientation and be influenced by physiological electric field. *J Cell Biol*, 1984, 98: 269-307.
- 34- Kaada B: Vasodilation induced by transcutaneous nerve stimulation in peripheral ischemia (Reynaud's phenomenon in diabetic poly neuropathy). *Eur Heart J*, 1982, 3: 303-314.
- 35- Falang V, Bourguignon G J, and Bourguignon L Y: Electrical stimulation increases the expression of fibroblast receptors for transforming growth factor beta. *J Invest Dermatol*, 1987, 88: 488-492.
- 36- Pessa M E, Bland K I, Copeland E M: Growth factors and determinants of wound repair. *J Surg Res*, 1987, 42: 207-217.