

Análise morfométrica de tecido muscular de coelhos submetido a ultra-som pulsado e contínuo de 1 MHz I

Morphometric analysis of rabbit muscle tissues submitted to pulse and continuous 1 MHz ultrasound

Lara G. Lopes¹, Sônia M.M.G.Bertolini², Eguimar E. R. Martins³, Pedro M. Gewehr⁴, Mário S. Lopes⁵

¹ Fisioterapeuta; Prof. do Curso de Fisioterapia da Universidade Paranaense (UNIPAR) e do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial (CPGEI) do Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná (CEFET-PR)

² Fisioterapeuta; Prof. da Universidade Estadual de Maringá (UEM)

³ Graduando em Fisioterapia na UNIPAR

⁴ Engenheiro elétrico; Prof. do CPGEI do CEFET-PR

⁵ Fisioterapeuta; Prof. do Curso de Fisioterapia da UNIPAR

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Lara Guérios Lopes
Av. Duque de Caxias 4410
87504-040 Umuarama PR
e-mail: lara@unipar.br

Dissertação desenvolvida no Programa de Pós-Graduação CPGEI do CEFET-PR para obtenção do título de Mestre em Ciências.

ACEITO PARA PUBLICAÇÃO
março 2005

RESUMO: Visando estabelecer uma relação entre os efeitos do ultra-som e a variação da área da célula muscular, este estudo analisou os efeitos do ultra-som (US) de 1 MHz, pulsado e contínuo, utilizado com a intensidade máxima de 3 W/cm², em tecido muscular sadio do músculo vasto lateral de coelhos (*Oryctolagus Cuniculus*) machos adultos. Utilizaram-se dois grupos, cada um com 5 coelhos, sendo um para o US pulsado e o outro para o US contínuo. Utilizou-se a coxa esquerda dos coelhos como antímero experimental, sendo a direita o controle. Em ambos os grupos foram realizadas 10 sessões consecutivas de US de 1 MHz, com intensidade de 3 W/cm², durante 12 minutos. Ao término das 10 sessões os coelhos foram sacrificados, retirando-se o músculo vasto lateral, bilateralmente, para preparação das lâminas, que foram analisadas histomorfometricamente. Consideraram-se sempre 10 células musculares em cada extremidade da lâmina analisada – superior, inferior, direita e esquerda. Obtiveram-se assim 40 células analisadas, em cada antímero de cada coelho. Pela análise estatística (teste t-Student) da média das áreas destas células, verificou-se que não houve diferença significativa entre o antímero experimental e o controle em ambos os grupos. Conclui-se que, com a metodologia empregada nesta pesquisa, o US não produz efeitos morfométricos no tecido muscular sadio de coelhos.

DESCRIPTORIOS: Engenharia biomédica; Técnicas de fisioterapia; Músculos/ultrasonografia; Coelhos

ABSTRACT: In order to seek a relation between applied ultrasound (US) and variation of muscle cell area, this study analysed the effects of 1 MHz US, in pulsed and continuous mode, at the maximum intensity of 3 W/cm², in healthy muscle tissue of adult male rabbits' (*Oryctolagus Cuniculus*) vast lateral muscle. Rabbits' left thighs were tested in the experiment, the right ones being taken as control. Two groups of 5 rabbits each were formed, one for pulsed US and the other for continuous US. In both groups were applied 10 consecutive sessions of 1 MHz US with intensity of 3 W/cm² during 12 minutes. At the end of the 10 sessions the rabbits were sacrificed and both thighs lateral muscles were excised, prepared and fixed to slides for microscopic analysis of the cells area. Ten cells were considered at each slide sector (upper, lower, right and left), thus a total of 40 cells were analysed from each thigh. The mean area of cells for each slide sector was compared to control thigh cells area by means of t-Student test. No statistically significant differences were found between the two sides in both groups, leading to the conclusion that, with the described methodology, US does not produce any effect in the cell size of rabbits healthy muscles.

KEY WORDS: Biomedical engineering; Physical therapy techniques; Muscles/ultrasonography; Rabbits

INTRODUÇÃO

Na prática clínica, em fisioterapia, vários são os recursos eletroterapêuticos e termoterapêuticos utilizados na reabilitação das diversas desordens do sistema musculoesquelético, porém faltam estudos sobre os reais efeitos biológicos que estes recursos podem provocar no organismo tratado.

Um dos equipamentos termoterapêuticos utilizados para a produção de calor é o que utiliza ultra-som (US), produzindo calor profundo pela propagação de suas ondas mecânicas. O US terapêutico é freqüentemente utilizado em fisioterapia com o objetivo de diminuir sintomas e manifestações inflamatórias de diversas patologias ortopédicas e reumatológicas. Entretanto, existem poucos trabalhos científicos que suportam ou demonstram a eficácia do US utilizado em baixas intensidades ou do US pulsado (onde o efeito térmico é minimizado) e sua atuação nas manifestações do processo inflamatório¹.

O US é um recurso terapêutico muito utilizado no tratamento das lesões musculares, geralmente associado a outras terapias como mobilizações ativas e passivas, massagens e resfriamento com bolsas de gelo. A incidência dessas lesões é maior no âmbito esportivo, onde é comum os atletas serem submetidos a tratamento com US, que tem tido, aparentemente, resultados eficientes².

A terapia por US tem várias indicações, tanto nos processos agudos como nos crônicos; seus efeitos fisiológicos têm sido investigados há mais de 50 anos e vêm sendo descritos de maneira empírica através dos tempos e da prática clínica de cada terapeuta³⁻⁶.

Experimentos realizados com o US demonstram que a interação deste com os tecidos biológicos provoca alterações fisiológicas, que podem ser benéficas ou provocar danos. Os primeiros efeitos biológicos causados pelo US, nos tecidos submetidos a terapia, fo-

ram reportados em 1927 por Wood e Loomis em *The physical and biological effects of high frequency waves of great intensity*, demonstrando que altas freqüências (300 kHz) e intensidades de US causavam lise e diminuição da mobilidade das células vermelhas do sangue⁷. Vários estudos controlados têm demonstrado a efetividade da terapia com US para cicatrização de úlceras varicosas e úlceras de pressão⁸⁻¹¹. Porém, numa revisão de literatura feita em 293 artigos publicados desde 1950, sobre os efeitos do US em desordens do sistema musculoesquelético, observou-se que seu uso era baseado em empirismo, faltando evidências científicas de seus reais efeitos¹². Os efeitos do US citados em vários trabalhos científicos não justificam seu uso e provavelmente não são benéficos. Essas conclusões basearam-se na falta de evidências biológicas da sua eficácia descritas nos artigos¹³. No estudo de 35 artigos publicados no período de 1975 a 1999, sobre a eficácia do US no tratamento de diversas patologias, somente 10 foram considerados tendo uma metodologia adequada, contendo todas as informações necessárias, desde equipamento utilizado até a justificativa da dose de tratamento.

Conclui-se que as opiniões sobre as dosagens utilizadas para o tratamento diferem significativamente e que existem poucas evidências dos efeitos clínicos do US, daí a necessidade de importante e sistemática investigação de seus efeitos clínicos e estudo da relação entre doses e respostas biológicas¹⁴.

Ultra-som e terapia

Geradores de US de alta freqüência, 3 MHz, são empregados para o tratamento de tecidos superficiais, pois a energia é absorvida na superfície. O gerador mais utilizado, o de 1 MHz, oferece um ajuste entre a penetração profunda e um aquecimento adequado, em função da freqüência relativamente baixa empregada¹⁵.

Os efeitos do US dependem de muitos fatores físicos e biológicos, tais como a intensidade, o tempo de exposição, a estrutura espacial e temporal do campo ultra-sônico e o estado fisiológico da estrutura a ser tratada. Esse grande número de variáveis complica a compreensão exata do mecanismo de ação do US na interação com os tecidos biológicos¹⁶.

A freqüência de saída, em um equipamento de US, determina a profundidade de penetração da energia, com uma relação linear entre a freqüência do US e a profundidade na qual a energia é absorvida pelo tecido. A taxa de absorção e, conseqüentemente, a atenuação aumentam conforme a freqüência do US aumenta, devido à fricção entre as moléculas que as ondas sonoras devem superar para passar através dos tecidos¹⁷. O aumento de temperatura nos tecidos, causado pelas ondas de US, depende da intensidade de saída (W/cm²) do equipamento e da duração do tratamento. Embora esse método de determinação da dosagem do tratamento tenha sido tradicionalmente utilizado, é, na melhor das hipóteses, uma técnica imprecisa¹⁸.

Os efeitos do US são divididos em térmicos e não-térmicos. Os efeitos térmicos são produzidos por ondas de US contínuas, ou pulsadas com alta intensidade, e levam a uma alteração dos tecidos, como um resultado direto da elevação de sua temperatura, provocada pelo US. Os efeitos não-térmicos produzidos pelo US pulsado causam alterações resultantes do efeito mecânico da energia de US^{5,18-20}.

O efeito térmico do US é considerado de grande importância. O som atenua-se à medida que atravessa um meio ou diminui sua intensidade durante esse trajeto. Parte dessa atenuação é causada pela conversão da energia em calor por absorção e o restante, pela reflexão e refração do feixe²⁰. O US pode elevar a temperatura tecidual a 5 cm ou mais de profundidade. A resposta fisiológica atri-

buída a esse efeito inclui o aumento da extensibilidade do colágeno, alterações no fluxo sanguíneo, mudanças na velocidade de condução nervosa, aumento da atividade enzimática e mudanças na atividade contrátil dos músculos esqueléticos¹⁸.

A vasodilatação, em resposta ao aumento do fluxo sanguíneo causado pelo uso do US, pode ser considerada, em parte, como um fenômeno protetor, destinado a manter a temperatura corporal dentro dos limites da normalidade, 36 a 37°C²⁰. As causas que levam à vasodilatação podem ser consideradas como: liberação de estimulantes tissulares em consequência da agressão celular causada pela vibração mecânica das ondas ultra-sônicas; estimulação, possivelmente direta, das fibras nervosas aferentes, o que conduz à depressão pós-excitatória da atividade ortossimpática, levando a uma redução do tônus muscular⁴. Os efeitos combinados de vasodilatação, vasoconstrição e edema podem ocorrer na célula após a aplicação de US.

Dada a falta de comprovação dos reais efeitos do US e de este ser dosado de maneira empírica, este trabalho teve como objetivo estudar os efeitos produzidos pelo ultra-som de 1 MHz, pulsado e contínuo, quando utilizado com a intensidade máxima de 3 W/cm², em tecido muscular sadio – no caso, músculo vasto lateral de coelhos (*Oryctolagus Cuniculus*) machos adultos – buscando estabelecer relação entre a ação do ultra-som e os efeitos causados na variação da área da célula muscular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do presente estudo foram utilizados 10 coelhos da raça Nova Zelândia, adultos, com aproximadamente 4 meses de vida, machos, com uma média de peso corporal de 2,7kg, fornecidos pelo Instituto de Pesqui-

sa Acadêmica, sendo todo o procedimento metodológico previamente submetido à apreciação e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Animais da UNIPAR.

Os dez coelhos foram divididos em dois grupos de cinco, sendo denominados grupo 1 – de US pulsado – e grupo 2, de US contínuo. O grupo 1 foi submetido a uma intensidade ultra-sônica de 3 W/cm² no modo pulsátil, enquanto o grupo 2 foi submetido à mesma intensidade no modo contínuo. Os grupos eram seus próprios autocontroles, sendo a coxa esquerda a experimental e a direita o controle. Os animais foram tricotomizados na região do músculo vasto lateral bilateralmente e, antes da aplicação do US, fazia-se a assepsia da região com álcool 70%. Como meio de acoplamento da interface transdutor-pele, utilizou-se gel de carbocol à base de água da KLD Biosistemas. Cada grupo foi submetido a sessões diárias de US durante 12 minutos num período de 10 dias. O tempo utilizado foi o sugerido no manual do equipamento, que propunha 1 minuto por cm² de área tratada. A dose utilizada foi a máxima recomendada no manual²¹ e sugerida por autores já citados.

O equipamento utilizado foi o ultra-som Avatar I – 1 MHz – TUS0101 da KLD Biosistemas Equipamentos Eletrônicos Ltda, fornecido pela própria empresa²¹. O cabeçote transdutor foi confeccionado especialmente para o experimento, com dimensão de 1 cm², facilitando sua adaptação e acoplamento aos animais. Seu diafragma metálico foi feito num diâmetro menor que o convencional utilizado para tratar humanos. Antes do início do experimento o equipamento foi verificado através de uma balança para ultra-som modelo OHMIC – UPM DT-10, na própria KLD, onde a potência de saída do transdutor obteve um desvio máximo de 20%, sendo esse valor tolerável pela norma NBR IEC 60601-2-5²².

No décimo dia os coelhos foram sacrificados para a coleta do material para a análise. Para a realização da eutanásia todas as cobaias foram anestesiadas pela associação de xilazina (10 mg/kg) e cloridrato de cetamina (100 mg/kg), administrada por via intramuscular no músculo tríceps braquial. Tais doses são duas vezes maiores que as usualmente empregadas para anestesia cirúrgica de leporinos, e visaram estabelecer uma garantia plena de anestesia profunda. Uma vez anestesiado, cada animal recebeu, por via intracardíaca, uma dose letal de pentobarbital sódico, equivalente a cerca de 30-35 mg/kg.

A coleta do material para confecção das lâminas era feita logo após o sacrifício, num intervalo menor que 1 hora. Retirava-se o músculo vasto lateral bilateralmente, desde sua origem até sua inserção, que era fixado por imersão em formol a 10% durante 5 dias até o início da preparação das lâminas.

Passado o período de 5 dias, os músculos eram retirados do Formol e submetidos a cortes, com bisturi cirúrgico, na região central do ventre muscular, da face mais externa do músculo para a mais interna, formando pequenos blocos de 1 cm². Iniciava-se então a inclusão desses blocos em uma série ascendente de álcoois a 70, 80 e 90% de concentração e álcool absoluto por um período de 24 horas, após o que os blocos eram mergulhados durante 20 minutos em clorofórmio e banhados três vezes em parafina derretida para fazer o emblocamento e posterior corte no micrótomo.

Os cortes foram feitos transversalmente à fibra muscular, com uma espessura de 6µm formando finas lâminas de tecido. Após este processo, realizava-se a hidratação da peça e desparafinação em uma estufa. Iniciava-se então a montagem das lâminas que, quando prontas, eram coradas com eosina hematoxilina (HE) e fixadas com resina Permot[®] para posterior análise em microscopia de

luz, com aumento de 400x, e analisador de imagens, para medida do tamanho da área absoluta das células musculares. O microscópio utilizado foi da marca Olympus BX50 com câmara de captura 3CCD pró-series. O programa de captura de imagens foi o Image Pro-plus versão 4.5 da Cybermetics.

Para a análise histomorfométrica das lâminas o parâmetro utilizado foi a morfometria da célula muscular, comparando-se sempre o antímero experimental com o controle. A escolha dos campos para observação foi feita considerando-se sempre 10 células musculares em cada extremidade da lâmina analisada – superior, inferior, direita e esquerda. Dessa maneira, obtiveram-se 40 células analisadas em cada antímero de cada cobaia.

Para a análise estatística utilizou-se o teste t de Student, presumindo variâncias diferentes entre os grupos. Considerou-se em cada lâmina a média aritmética das áreas das células de cada ex-

tremidade analisada isoladamente (média das áreas das 10 células da extremidade superior (ES), média das áreas das 10 células da extremidade inferior (EI), depois da extremidade direita (ED) e esquerda (EE), sucessivamente). Depois, para cada grupo de 5 coelhos, obtiveram-se as médias gerais das extremidades superior, inferior, direita e esquerda tanto do antímero experimental como do controle em questão. A essas médias gerais aplicou-se o teste t de Student.

RESULTADOS

Com os valores calculados das áreas médias das células de cada extremidade das lâminas dos 5 coelhos, fez-se a comparação estatística para cada grupo. Para essa comparação estatística levantaram-se duas hipóteses: $H_0 = \mu$ (média) do antímero experimental = μ do antímero controle; e $H_1 = \mu$ do antímero experimental \neq μ do antímero controle. Para essas duas hipóteses considerou-se

um nível de significância (p) de 5%.

Por meio do teste t-Student, observaram-se as amostras presumindo variâncias diferentes. Verificou-se que para o grupo dos cinco coelhos submetidos ao US contínuo (Tabela 1) e para o grupo dos 5 coelhos submetidos ao US pulsado (Tabela 2), de 1 MHz, durante 12 minutos, com intensidade de 3 W/cm², num período de 10 dias, não houve diferença estatística significativa nas extremidades superior, direita e esquerda do grupo do US contínuo e em nenhuma extremidade no grupo do US pulsado, portanto não houve alteração na área das células do músculo vasto lateral dos coelhos. Desse modo, aceitou-se H_0 para os dois grupos, isto é, não houve diferença significativa entre as médias do antímero experimental e do controle.

Na extremidade inferior do grupo do US contínuo houve uma diferença significativa, onde $p=3\%$,

Tabela 1 Resultados da análise estatística (teste t – Student paramétrico) da área média das células das extremidades das lâminas dos músculos submetidos a US contínuo

Segmento	Área média das extremidades (μm^2)	Desvio padrão (μm^2)	Variância	p(T<=t) bicaudal (%)	t crítico bicaudal	Correlação de Pearson (%)
ES-C	684,89	295,80	87498,78	31	2,77	64
ES-E	566,86	149,72	22418,76			
EI-C	525,92	134,37	18056,71	3	2,77	98
EI-E	465,96	93,74	8787,67			
ED-C	449,36	106,96	11441,36	30	2,77	10
ED-E	545,36	157,81	24906,56			
EE-C	541,85	160,84	25871,22	24	2,77	-78
EE-E	426,73	37,00	1369,64			

ES – extremidade superior; EI – extremidade inferior; ED – extremidade direita; EE – extremidade esquerda; C – controle; E – experimental

Tabela 2 Resultados da análise estatística (teste t – Student paramétrico) da área média das células das extremidades das lâminas dos músculos submetidos a US pulsado

Segmento	Área média das extremidades (μm^2)	Desvio padrão (μm^2)	Variância	p(T<=t) bicaudal (%)	t crítico bicaudal	Correlação de Pearson (%)
ES-C	761,31	42,31	1789,75	20	2,77	-0,17
ES-E	848,15	114,29	13061,56			
EI-C	825,91	247,13	61075,6	83	2,77	0,83
EI-E	842,05	289,85	84012,45			
ED-C	821,37	147,73	21825,19	74	2,77	0,74
ED-E	844,90	228,98	52432,93			
EE-C	785,62	185,22	34306,5	85	2,77	0,65
EE-E	798,20	142,98	20442,38			

ES – extremidade superior; EI – extremidade inferior; ED – extremidade direita; EE – extremidade esquerda; C – controle; E – experimental

menor que 5%, portanto deve-se aceitar H_1 . Porém a correlação de Pearson, nesse ponto de observação, resultou em 0,98 (98%), muito próximo de 1 (100%). Nesse caso, quanto mais próximo de 100% for a correlação, mais semelhante foi a variação nos dois antímeros observados, EI-C e EI-E; portanto, se houve uma modificação na área das células musculares do antímero experimental, essa modificação também ocorreu no antímero controle, fazendo, dessa forma com que se aceite a hipótese H_0 , pois os dois antímeros não poderiam se alterar na mesma proporção.

DISCUSSÃO

Embora se tenha procurado referências na literatura sobre o emprego de US pulsado e contínuo em tecido muscular esquelético sadio de coelhos, não se encontrou trabalho onde, eventualmente, se pudessem estabelecer comparações diretas com esta pesquisa. Optou-se pois por discutir aqui, à luz da literatura pertinente, a dosimetria do equipamento e a técnica empregada, bem como comentar aspectos importantes que devem ser analisados em novos experimentos que utilizem o US como proposta terapêutica.

Equipamento

Quando se realiza a aplicação de US, alguns cuidados são indispensáveis. Primeiro há necessidade de garantir que o aparelho esteja funcionando adequadamente²³. Para garantir isso, o equipamento utilizado para este experimento foi verificado previamente pela empresa KLD. Segundo, é necessário garantir que as ondas sejam transmitidas adequadamente do transdutor para o animal. Devido ao animal escolhido ser o coelho, e este ter um porte físico muito menor que o ser humano, optou-se por reduzir a área do cabeçote transdutor de US para garantir o acoplamento adequado. Optou-se também pela técnica de aplicação direta com uso de gel não iônico, por ser a

técnica mais utilizada em clínica. Na aplicação do US foi utilizada a frequência de 1 MHz para atingir tecidos mais profundos^{4,7,15}.

Devido à grande controvérsia entre os autores citados com relação à intensidade e a patologia a ser tratada, optou-se pela intensidade máxima emitida pelo equipamento, de 3 W/cm², também proposta para tratamentos com US^{4,17,24-26}.

O tratamento foi realizado durante 12 minutos conforme indicado pelo manual do equipamento²¹, que preconizava 1 minuto por cm² de área submetida ao US. O período de 10 dias consecutivos de tratamento foi escolhido para simular condições clínicas.

É pertinente lembrar que os parâmetros utilizados neste experimento levam a um aumento da temperatura local, tanto para o US pulsado como para o contínuo. O US pulsado, dependendo do ciclo de trabalho utilizado, também produz um efeito térmico, mesmo que de forma reduzida⁵.

Experimento

A opção de se trabalhar com uma musculatura sadia foi feita para ser possível avaliar o eventual efeito morfométrico real do US sobre as células musculares, independente das reações inflamatórias que pudessem vir a acontecer sob a influência do processo cicatricial causado por lesões externas. Quanto à escolha do músculo, pareceu mais interessante utilizar o músculo vasto lateral por ser mais fusiforme e espesso, assemelhando-se, morfológicamente, à musculatura humana. Essa característica também favoreceu a dissecação desse músculo em relação aos demais, tornando assim as etapas de processamento das peças mais segura.

Menciona-se em muitas publicações a possibilidade de favorecer a circulação sanguínea mediante o uso do US^{4,18,25}. A absorção da energia do US produz um efeito térmico e o organismo responde a isso com vasodilatação.

Pode-se concluir que o efeito primário do US, por produzir calor local, é o inflamatório. O processo inflamatório, que pode ser produzido pelo calor, caracteriza-se por: vasodilatação local, com conseqüente excesso de fluxo sanguíneo; aumento da permeabilidade dos capilares, permitindo o extravasamento da grande quantidade de líquido nos espaços intersticiais; com frequência, coagulação do líquido nos espaços intersticiais, devido à quantidade excessiva de fibrogênio e de outras proteínas que extravasam dos capilares; migração de inúmeros granulócitos e monócitos para o tecido; e edema. Alguns dos inúmeros produtos teciduais que causam essas reações incluem histamina, bradicinina, serotonina e prostaglandinas²⁷.

Por se produzir um processo inflamatório local, devido ao aumento da temperatura com conseqüente vasodilatação e liberação de histamina, levando a um edema como resposta fisiológica, poderia se esperar que houvesse aumento do tamanho da área das células musculares tratadas pelo US. Porém, o que pôde ser observado neste estudo, conforme os resultados, é que não houve diferença estatisticamente significativa, do ponto de vista morfométrico, entre as células musculares tratadas com US quando comparadas às não-tratadas.

Alguns fatores fisiológicos, relacionados aos efeitos do US, poderiam promover o aumento do fluxo sanguíneo. A alteração da permeabilidade da membrana celular (um resultado da correnteza acústica) poderia causar diminuição do tônus vascular levando, dessa forma, à dilatação dos vasos. A liberação de histamina na área tratada também poderia produzir vasodilatação, elevando ainda mais o fluxo sanguíneo. A histamina é liberada em praticamente todos os tecidos do corpo quando eles são lesados ou sofrem inflamação ou reação alérgica. A maior parte da histamina provém dos mastócitos nos tecidos lesa-

dos e basófilos no sangue. A histamina tem potente efeito vasodilatador sobre as arteríolas e, como a bradicinina, tem a capacidade de aumentar acentuadamente a porosidade capilar, permitindo o extravasamento de líquido e de proteínas plasmáticas nos tecidos²⁷.

Considera-se razoável esperar-se que o fluxo sanguíneo aumente durante e após a aplicação do US, simplesmente devido a seus efeitos térmicos¹⁸. Em um estudo experimental em 10 coelhos da raça Nova Zelândia², analisou-se o efeito terapêutico do US na vascularização do músculo reto femoral pós-lesão por esmagamento, concluindo-se que o US pulsado de 1 MHz, com intensidade de 0,5 W/cm², utilizado durante 10 dias consecutivos, não provoca mudanças no padrão da vascularização (arteríolas e artérias) muscular.

Pôde-se notar, nos experimentos aqui descritos, que a variação do tamanho das áreas celulares entre o lado controle e experimental não foi significativa. O nível de significância (p) ideal, mostrado nas Tabelas 1 e 2, seria o de 5%, porém este variou numa média de 65,5% para o US pulsado e em 22% para o US contínuo.

Na leitura feita na extremidade inferior das lâminas do US contínuo, observou-se uma diferença significativa de 3%, porém, como mencionado, a correlação de Pearson nesse ponto de observação foi muito próxima de 1, mostrando que existe correlação entre a variação dos dois lados, que variaram na mesma proporção.

Se a análise dos resultados considerasse somente as médias aritméticas simples (sem a análise

estatística), no grupo do US contínuo a diferença entre as médias das áreas calculadas obtidas teria sido de 49,27µm²; e, ainda, o grupo experimental foi o que apresentou as menores médias. Para o grupo do US pulsado a diferença entre as médias simples foi de 34,77 µm², porém neste caso a média maior foi do grupo experimental. Esses valores não foram expostos nos resultados, pois estatisticamente não apresentaram significância.

Hipóteses interpretativas

Para interpretar os resultados obtidos podem ser aventadas outras hipóteses. Uma delas é que o método de avaliação poderia não ter apresentado sensibilidade necessária para detectar possíveis alterações, pois a técnica utilizada analisa a célula como um todo, não avaliando assim possíveis alterações nos componentes celulares, como as organelas e a membrana celular. As membranas celulares tornam-se mais permeáveis, devido aos movimentos unidirecionais do fluido em campo ultra-sônico, e as organelas podem se alterar devido às forças produzidas pelo US²⁸.

Outra hipótese que se pode levantar é que, por mais que o material tenha sido colhido logo após a morte dos coelhos, a rigidez cadavérica e/ou o espasmo muscular pós-morte podem ter influenciado o resultado final. E ainda, depois de colhido o material, o mesmo ficava submerso em formol, o que poderia causar modificação estrutural na peça colhida.

Nesta investigação a análise qualitativa dos resultados foi realizada por ser o usual no estudo histológico; na literatura consul-

tada, outros autores também utilizaram a mesma técnica.

Há 20 anos, havia desconhecimento dos efeitos do US. Ainda hoje, todos esses efeitos atribuídos ao tratamento ultra-sônico são dependentes de mediadores químicos e mecanismos moleculares, os quais não são bem conhecidos. Enquanto se procura associar os efeitos do US aos mecanismos celulares e moleculares, muitas divergências são encontradas na literatura em relação à microcirculação, mediadores inflamatórios, infiltração celular e na reparação tecidual aguda e crônica².

Diante dessas considerações e dos resultados apresentados, fica evidente a necessidade de mais investigações para determinar como o US pode atuar nos diferentes tecidos biológicos, principalmente o muscular, por ser o mais submetido aos tratamentos ultra-sônicos.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que o músculo estriado esquelético sadio de coelhos, quando submetido aos efeitos do US de 1 MHz, pulsado ou contínuo, com intensidade de 3 W/cm², durante 12 minutos, num período de 10 dias consecutivos, utilizando-se a metodologia proposta, não apresentou modificações na área da célula muscular. Ressalta-se porém a importância de dar continuidade aos estudos relacionados com os efeitos do US para que se possa estabelecer protocolos de tratamento sabendo-se dos reais efeitos que as diferentes intensidades e potências de US poderão causar nos tecidos biológicos.

REFERÊNCIAS

- 1 Mcdiarmid T, Ziskin MC, Michlovitz SL. Therapeutic ultrasound. In: Michlovitz SL, Wolf SL, editors. *Thermal agents in rehabilitation*. 3rd ed. Philadelphia: F.A. Davis; 1996. Cap.7, p.168-212.
- 2 Dionísio VC, Volpon JB. Ação do ultra-som terapêutico sobre a vascularização pós-lesão muscular experimental em coelhos. *Rev Bras Fisioter*. 1999;4:19-25.
- 3 Dyson M. Mechanisms involved in therapeutic ultrasound. *Physiotherapy*. 1987;73:116-20.
- 4 Longo GJ, Fuirini Jr N. *Ultrason*. São Paulo: Camanducaia; 1996.
- 5 Low J, Reed A. *Electrotherapy explained: principles and practice*. 2nd ed. Oxford: Butterworth Heinemann; 1997.
- 6 Thomson A, Skinner A, Piercy J. *Fisioterapia de Tidy*. São Paulo: Santos; 1994.
- 7 Michlovitz SL. *Thermal agents in rehabilitation*. 2nd ed. Philadelphia: Davis; 1990.
- 8 Dyson M, Suckling J. Stimulation of tissue repair by ultrasound: a survey of the mechanisms involved. *Physiotherapy*. 1978;64:105-8.
- 9 Roche C, West J. A controlled trial investigating the effect of ultrasound on venous ulcers referred from general practitioners. *Physiotherapy*. 1984;70:475-7.
- 10 Callam MJ, Harper DR, Dale JJ. A controlled trial of weekly ultrasound therapy in chronic leg ulceration. *Lancet*. 1987;2:204-6.
- 11 Mcdiarmid T, Burns PN, Lewith GT. Ultrasound and treatment of pressure sores. *Physiotherapy*. 1985;71: 66-70.
- 12 Gam AN, Johannsen F. Ultrasound therapy in musculoskeletal disorders: a meta-analysis. Elsevier Science. 1995;63:85-91.
- 13 Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *Phys Ther*. 2001;81(7):13519.
- 14 Robertson VJ, Baker KG. A review of therapeutic ultrasound: effectiveness studies. *Phys Ther*. 2001;81(7):1339-50.
- 15 Ter Haar G. Basic physics of therapeutic ultrasound. *Physiotherapy*. 1987;73:110-3.
- 16 Bassoli DA. Avaliação dos efeitos do ultra-som pulsado de baixa intensidade na regeneração de músculos esqueléticos com vistas à aplicabilidade em clínica fisioterapêutica [dissert]. São Paulo: Escola de Engenharia de São Carlos; Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2001.
- 17 Webster JG. *Encyclopedia of medical devices and instrumentation*. New York: J. Wiley; 1988. p.1491-3.
- 18 Starkey C. *Recursos terapêuticos em fisioterapia*. São Paulo: Manole; 2001.
- 19 Behrens BJ, Michlovitz SL. *Physical agents theory and practice*. Philadelphia: F.A. Davis; 1996.
- 20 Kitchen S, Bazin S. *Eletroterapia de Clayton*. 10a ed. São Paulo: Manole; 1996.
- 21 KLD Biosistemas Equipamentos Eletrônicos Ltda. *Avatar 1 MHz: Manual de operação*. Amparo, 2001.
- 22 ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR IEC 60601-2-5: Equipamento eletromédico parte 2; prescrições particulares para segurança de equipamentos de ultra-som para terapia. São Paulo; 2000.
- 23 Menezes DF, Volpon JB, Shimano AC. Aplicação de ultra-som terapêutico em lesão muscular experimental aguda. *Rev Bras Fisioter*. 1999;4:27-31.
- 24 Bruno AA, Masiero D, Granero LHCM, Botelho LAA, Secco MFM, Saad M, et al. Meios físicos em reabilitação. In: Lianza S. *Medicina de reabilitação*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
- 25 Chantraine A, Gobelet C, Ziltener JL. Électrologie et applications. *Encycl Méd Chir Kinésither*. 1998(26145-A10):1-22.
- 26 Lianza S. *Medicina de reabilitação*. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
- 27 Guyton AC, Hall JE. *Tratado de fisiologia médica*. 10a ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 2002.
- 28 Crisci AR. Estudo experimental dos efeitos do ultra-som pulsado de baixa intensidade sobre a regeneração do nervo ciático de ratos após neurotomia, mediante avaliações morfológicas e morfométricas [dissert]. São Paulo: Escola de Engenharia de São Carlos; Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2001.