

# Comparison of continuous and pulsed ultrasound therapy in knee hyperalgesia of Wistar rats\*

*Comparação do ultrassom terapêutico contínuo e pulsado na hiperalgesia de joelho de ratos Wistar*

Gladson Ricardo Flor Bertolini<sup>1</sup>, Josinéia Gresele Coradini<sup>2</sup>, Regina Inês Kunz<sup>2</sup>, Bruno Pogorzelski Rocha<sup>2</sup>, Lígia Inez da Silva<sup>3</sup>

\*Recebido da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, PR, Brasil.

DOI 10.5935/1806-0013.20140062

## ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVES:** Among electro agents ultrasound is one of the most common, however, there is insufficient evidence of the beneficial effects with the parameters currently used. The aim of this study was to compare the effect of continuous and pulsed ultrasound therapy on experimental hyperalgesia and edema in knees of Wistar rats.

**METHODS:** 18 rats were divided into three groups: CG - control group; GUP - treated with pulsed ultrasound 50%; and GUC - continuous ultrasound. To accomplish the lesion, animals were manually restrained and 100µL of 5% formalin solution were injected into the right tibiofemoral space. For assessment of nociception digital Von Frey filament was used on the medial side of the joint, until clinching. Edema was evaluated with mid-lateral knee caliper. Assessments occurred in the pre-injury (EV1), after 15 (EV2), 30 (EV3) and 60 (EV4) minutes of the injury. After EV2, treatment was initiated with ultrasound with 0.4W/cm<sup>2</sup> (SATA), pulsed or continuous.

**RESULTS:** The CG had hypernociception, with no return to baseline. GUP has returned to baseline as from EV3 and for continuous ultrasound in EV4. All three groups showed similar behavior for edema, with onset in EV2, without reduction.

**CONCLUSION:** Therapeutic ultrasound was effective to decrease nociception, and the pulsed form showed early results, however, both forms of application had no effect on the formation and maintenance of acute edema.

**Keywords:** Edema, Pain measurement, Ultrasound therapy.

## RESUMO

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS:** Dentre os agentes eletrotérmicos o ultrassom é um dos mais comuns, contudo, há insuficiente evidência dos efeitos benéficos com os parâmetros correntemente utilizados. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar o efeito do ultrassom terapêutico contínuo e pulsado sobre hiperalgesia e edema experimentais em joelhos de ratos Wistar.

**MÉTODOS:** Foram utilizados 18 ratos, divididos em três grupos: GC - grupo controle; GUP - tratado com ultrassom pulsado 50%; e, GUC - ultrassom contínuo. Para realizar a lesão, os animais foram contidos manualmente e 100µL de solução de formalina a 5% foram injetados no espaço túbio-femoral direito. Para avaliação da nocicepção foi utilizado o filamento de Von Frey digital, na face medial da articulação, até a retirada do membro. A avaliação do edema foi realizada com paquimetria médio-lateral ao joelho. As avaliações ocorreram no momento pré-lesão (AV1), após 15 (AV2), 30 (AV3) e 60 (AV4) minutos da lesão. Após AV2, foi iniciado o tratamento com ultrassom com 0,4W/cm<sup>2</sup> (SATA), de forma pulsada ou contínua.

**RESULTADOS:** Para GC, houve a presença de hipernocicepção, sem retorno aos valores basais. Para GUP houve retorno aos valores basais a partir de AV3 e para o ultrassom contínuo em AV4. Para o edema, os três grupos apresentaram comportamento semelhante, com formação em AV2, sem redução posterior.

**CONCLUSÃO:** O ultrassom terapêutico mostrou-se eficaz para redução do quadro nociceptivo, sendo que a forma pulsada mostrou resultados precocemente ao contínuo, contudo, ambas as formas de aplicação não tiveram efeito sobre a formação e manutenção do edema agudo.

**Descritores:** Edema, Mensuração da dor, Terapia por ultrassom.

## INTRODUÇÃO

Dentre os agentes eletrotérmicos utilizados dentro do campo fisioterapêutico, a terapia com ultrassom é uma das mais comuns, sendo que os equipamentos são disponíveis e frequentes no ambiente clínico. Contudo, apesar de seu intenso uso, estudos de revisões têm apontado que há insuficiente evidência para suportar os efeitos benéficos do ultrassom, ao menos com os parâmetros correntemente utilizados na prática clínica<sup>1,2</sup>.

A esse recurso são creditados efeitos anti-inflamatórios, que posteriormente seriam responsáveis pela analgesia, devido ao aumento da temperatura local. Porém, atualmente têm sido apontados im-

1. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil.
2. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Departamento de Fisioterapia, Cascavel, PR, Brasil.
3. Universidade Federal do Paraná, Departamento de Fisioterapia, Curitiba, PR, Brasil.

Apresentado em 16 de setembro de 2014.

Aceito para publicação em 06 de novembro de 2014.

Conflito de interesses: não há – Fontes de fomento: não há.

### Endereço para correspondência:

Gladson Ricardo Flor Bertolini  
Rua Universitária, 2069 – Jardim Universitário  
85819-110 Cascavel, PR, Brasil.  
E-mail: Gladson\_ricardo@yahoo.com.br

portantes efeitos não térmicos, os quais seriam mediados por alterações nas concentrações de sódio e cálcio celular, que produziriam ações analgésicas diretas, por alterações no limiar de despolarização e ativação celular, inclusive podendo ser a base da estimulação para liberação de opioides endógenos locais<sup>3</sup>.

Estudos apresentam resultados contraditórios do ultrassom terapêutico em diversos tipos de lesões, tendo entre as variáveis estudadas a dor, como síndromes do impacto<sup>4,5</sup>, entorses de tornozelo<sup>6</sup>, lombalgias<sup>7,8</sup> e osteoartrite de joelho<sup>9</sup>. Contudo, a diversidade de parâmetros, tanto clínicos quanto em pesquisas é extrema<sup>2</sup>, sendo assim úteis experimentos controlados para testar os diversos parâmetros de tratamento do ultrassom, como diferentes doses, frequências e ciclos de trabalho, bem como as formas contínua e pulsada, as quais têm apresentado resultados diferentes, mesmo quando a mesma intensidade média temporal e espacial (SATA) é utilizada<sup>10</sup>.

Dessa forma, foi objetivo do presente estudo avaliar e comparar o efeito produzido pelo ultrassom terapêutico, em diferentes formas de apresentação, sobre a hiperalgesia e edema induzidos por injeção de formalina a 5%, em joelhos de ratos Wistar.

## MÉTODOS

Foram utilizados 18 ratos da linhagem Wistar, pesando  $436,0 \pm 33,0$ g, mantidos em gaiolas de polipropileno, com livre acesso a água e ração *ad libitum*, com ciclo claro/escuro controlado de 12h e temperatura ambiente controlada ( $24 \pm 1^\circ$  C). Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos:

- GC – composto por animais submetidos a indução de hiperestesia no joelho direito, e não tratados;
- GUP – submetidos a indução de hiperestesia no joelho direito e tratados com ultrassom terapêutico pulsado 5:5;
- GUC – submetidos a indução de hiperestesia no joelho direito e tratados com ultrassom terapêutico contínuo.

Os animais foram contidos manualmente e 100  $\mu$ L de solução de formalina a 5% foram injetados no espaço articular tíbio-femoral direito, visando a indução de sinovite, com hiperestesia e edema.

### Avaliação da nocicepção

Para avaliação da nocicepção foi utilizado o filamento de Von Frey digital, da marca Insight<sup>®</sup>. O teste foi realizado com o animal contido manualmente e o filamento aplicado na face medial da articulação tíbio-femoral da pata posterior direita. A ponta de polipropileno do filamento foi aplicada perpendicularmente à área, com gradual aumento de pressão, e logo que o animal retirou a pata o teste foi interrompido para o registro do limiar de retirada. Prévio ao teste houve treinamento dos animais com o equipamento, por três dias, visando à sua familiarização. No dia posterior ao último treino, foram coletados os valores de limiar de retirada no momento pré-lesão (AV1), após 15 (AV2), 30 (AV3) e 60 (AV4) minutos da irritação química.

### Avaliação do edema

Foi avaliado o diâmetro dos joelhos direitos, com paquímetro posicionado na região de inter-linha articular, médio-lateralmente. Essa forma de avaliação foi realizada em momentos semelhantes ao limiar de retirada da pata.

## Protocolos de tratamento

Após a segunda avaliação, foi iniciado o tratamento, ou seja, após 15 minutos da indução da hiperalgesia. GC não sofreu qualquer intervenção terapêutica, apenas simulação. O tratamento consistiu na utilização do ultrassom (Ibramed<sup>®</sup>) com frequência de 1MHz,  $0,4$ W/cm<sup>2</sup> (SATA), de forma transcutânea, sobre a inter-linha articular do joelho, com movimentos lentos e circulares. GUP recebeu o ultrassom na forma pulsada ( $0,8$ W/cm<sup>2</sup> – SATP), com modulação de 5ms *on*: 5ms *off*, ou seja, 50% de ciclo ativo; e, GUC recebeu a forma contínua. Após a última avaliação, os animais foram eutanasiados.

## Análise estatística

Foi verificada a normalidade dos dados por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente os dados foram analisados por meio do teste de ANOVA com medidas repetidas (comparação dentro dos grupos) e unidirecional (para comparação entre os grupos). Em todos os casos o nível de significância aceito foi de 5%.

Este estudo foi conduzido segundo as normas internacionais de ética em experimentação animal, com aprovação pelo Comitê de Ética em Uso Animal da UNIOESTE sob parecer n. 4412/2012.

## RESULTADOS

Os resultados mostraram que para GC houve a presença de hiper-nocicepção, sem retorno aos valores basais, diferentemente do que foi observado para os grupos tratados. Para GUP houve retorno aos valores basais a partir de AV3 e para o GUC em AV4 (Tabela 1). Na comparação entre os grupos, não houve diferenças significativas.

**Tabela 1.** Valores obtidos com o filamento de Von Frey digital, em gramas, para os três grupos, nos diferentes momentos de avaliação

	AV1	AV2	AV3	AV4
GC	344,6 $\pm$ 53,0a	246,0 $\pm$ 38,6b	205,0 $\pm$ 47,2bc	155,1 $\pm$ 53,5c
GUP	304,9 $\pm$ 87,1a	157,8 $\pm$ 66,7b	182,2 $\pm$ 38,8ab	257,9 $\pm$ 64,1ab
GUC	354,6 $\pm$ 108,3a	234,0 $\pm$ 100,5b	202,3 $\pm$ 55,9b	248,6 $\pm$ 128,0ab

GC: grupo controle GUP: grupo ultrassom terapêutico pulsado; GUC: grupo ultrassom terapêutico contínuo.

Letras minúsculas diferentes demonstram diferenças significativas dentro do mesmo grupo.

Para o edema, os três grupos apresentaram comportamento semelhante, com formação do mesmo em AV2, sem redução posterior (Tabela 2).

**Tabela 2.** Valores obtidos com o paquímetro, em milímetros, para os três grupos, nos diferentes momentos de avaliação

	AV1	AV2	AV3	AV4
GC	12,60 $\pm$ 0,14a	14,00 $\pm$ 0,49b	14,11 $\pm$ 0,52b	13,60 $\pm$ 0,42b
GUP	12,37 $\pm$ 0,38a	13,88 $\pm$ 0,16b	13,68 $\pm$ 0,21b	13,56 $\pm$ 0,28b
GUC	12,15 $\pm$ 0,53a	13,93 $\pm$ 0,69b	14,04 $\pm$ 0,21b	13,76 $\pm$ 0,25b

GC: grupo controle GUP: grupo ultrassom terapêutico pulsado; GUC: grupo ultrassom terapêutico contínuo.

Letras minúsculas diferentes demonstram diferenças significativas dentro do mesmo grupo.

## DISCUSSÃO

O ultrassom é uma ferramenta bastante popular para o tratamento de problemas musculoesqueléticos, entretanto estudos sobre seus efeitos benéficos precisam ser mais estudados. Em pesquisa realizada com 207 fisioterapeutas norte-americanos especialistas em fisioterapia ortopédica, observou-se que seu principal uso ocorre em casos de processos inflamatórios, visando inclusive a redução do quadro algico. Foi observado que 75% das respostas apontaram para o uso do ultrassom contínuo para alívio da dor, com apenas 17,1% utilizando ciclos de pulso de 50%, sendo que as doses utilizadas situaram-se, na grande maioria das respostas, entre 1 e 2W/cm<sup>2</sup>, apesar de indícios apontarem a utilidade de uso de menores intensidades para o tratamento<sup>1</sup>, ou seja apresenta-se a necessidade de estudos avaliando menores intensidades e formas diferentes de liberação do ultrassom.

No presente estudo, o modelo de irritação química apresenta como importante característica duas fases de comportamento nociceptivo separadas por uma fase de quiescência por volta do 5º ao 10º minuto após a injeção de formalina<sup>11</sup>. Assim, optou-se por realizar a primeira reavaliação, após 15 minutos da lesão, afastando-se reavaliar no período quiescente, com novas avaliações em 30 e 60 minutos, buscando observar o comportamento nociceptivo e do edema ao longo de 1h após lesão.

A forma de avaliação utilizada, filamento de Von Frey digital, prevê medidas nociceptivas sensíveis, objetivas e quantificáveis<sup>12</sup>, bem como a medida da formação de edema com o uso de paquímetro também é apresentada na literatura<sup>13</sup>. Visto que os avaliadores eram experientes, bem como os animais foram treinados quanto às avaliações, os dados apresentados são confiáveis, mostrando que não houve alterações com o uso do ultrassom na formação do edema, nem produzindo um aumento, pois o mesmo foi utilizado em uma fase aguda de irritação, nem diminuição. Tal fato é diferente do observado em estudo com trauma em tendões de ratos, no qual houve aumento do edema quando avaliados entre 2 e 8h após o trauma, com diminuições significativas após 24h. Citam ainda que a nocicepção, avaliada pelo tempo de elevação da pata, mostrou redução da hipernocicepção, após 8h para o GUP e apenas após 24h para o GUC<sup>14</sup>. Apesar de serem diferentes tempos, o padrão foi semelhante ao observado no presente estudo, em que as duas formas de terapia utilizadas produziram redução do limiar nociceptivo após 30 minutos para o pulsado e 60 minutos para o contínuo.

Em outro estudo, utilizando formas de lesão e avaliação semelhantes às utilizadas neste estudo, foi observado que para o ultrassom contínuo os animais apresentaram aumento do limiar nociceptivo após duas horas da irritação química, o que foi alterado no grupo que recebeu naloxona previamente à lesão, mostrando como possível rota para o efeito analgésico, mediado pelo ultrassom, a liberação de opioides endógenos periféricamente; já para a formação de edema, de forma semelhante ao atual estudo, não houve diferenças significativas quanto à sua formação até 2h após a irritação química<sup>3</sup>. Ainda, salienta-se que com os parâmetros utilizados, semelhantes para o grupo contínuo do presente estudo, podem ser descartados os efeitos térmicos da aplicação do ultrassom, ou seja, os chamados efeitos não térmicos foram os responsáveis pela alteração nos limiares algicos em ambos os estudos.

Outra pesquisa, com formas de avaliação, lesão e tratamento com ultrassom semelhantes às do presente estudo, com objetivo de avaliar os efeitos cumulativos com o laser de baixa potência, observou-se que a aplicação isolada desse recurso mostrou-se superior ao laser ou à associação de técnicas<sup>15</sup>. Em trabalho prévio, comparando a forma pulsada com a contínua, em animais submetidos a um modelo experimental de cialgia, o ultrassom mostrou-se eficaz em reduzir o quadro algico, avaliado pelo tempo de elevação da pata, sendo que de forma semelhante ao presente estudo, a forma pulsada apresentou resultados analgésicos mais rapidamente<sup>10</sup>. Ou seja, visando a efeitos analgésicos, não apenas a dose final aplicada parece ter importância, mas, como o pulsado mostrou resultados positivos precocemente, o pico temporal (SATP) pode influenciar a ação desse recurso, devendo ser foco de investigações futuras. Salienta-se como limitações do estudo a ausência de avaliação molecular do processo inflamatório, o que também se sugere em novos estudos.

## CONCLUSÃO

O ultrassom terapêutico mostrou-se eficaz para redução do quadro nociceptivo, sendo que a forma pulsada mostrou resultados mais precoces do que a forma contínua, contudo, ambas as formas de aplicação não tiveram efeito sobre a formação e manutenção do edema agudo.

## REFERÊNCIAS

1. Warden SJ. A new direction for ultrasound therapy in sports medicine. *Sports Med.* 2003;33(2):95-107.
2. Wong RA, Schumann B, Townsend R, Phelps CA. A survey of therapeutic ultrasound use by physical therapists who are orthopaedic certified specialists. *Phys Ther.* 2007;87(8):986-94.
3. Martignano CC, Silva LI, Meireles A, Rocha BP, Rosa CT, Bertolini GR. Avaliação do ultrassom sobre a hiperalgesia e o edema em joelhos de rato Wistar e interferências de um inibidor de opioides endógenos. *Fisioter Bras.* 2013;14(4):289-93.
4. Yildirim MA, Ones K, Celik EC. Comparison of ultrasound therapy of various durations in the treatment of subacromial impingement syndrome. *J Phys Ther Sci.* 2013;25(9):1151-4.
5. Alexander LD, Gilman DR, Brown DR, Brown JL, Houghton PE. Exposure to low amounts of ultrasound energy does not improve soft tissue shoulder pathology: a systematic review. *Phys Ther.* 2010;90(1):14-25.
6. van den Bekerom MP, van der Windt DA, Ter Riet G, van der Heijden GJ, Bouter LM. Therapeutic ultrasound for acute ankle sprains. *Eur J Phys Rehabil Med.* 2012;48(2):325-34.
7. Fiore P, Panza F, Cassatella G, Russo A, Frisardi V, Solfrizzi V, et al. Short-term effects of high-intensity laser therapy versus ultrasound therapy in the treatment of low back pain: a randomized controlled trial. *Eur J Phys Rehabil Med.* 2011;47(3):367-73.
8. Licciardone JC, Minotti DE, Gatchel RJ, Kearns CM, Singh KP. Osteopathic manual treatment and ultrasound therapy for chronic low back pain: a randomized controlled trial. *Ann Fam Med.* 2013;11(2):122-9.
9. Luksurapan W, Boonhong J. Effects of phonophoresis of piroxicam and ultrasound on symptomatic knee osteoarthritis. *Arch Phys Med Rehabil.* 2013;94(2):250-5.
10. Ciena AP, Cunha NB, Moesch J, Mallmann JS, Carvalho AR, Moura PJ de, et al. Efeitos do ultrassom terapêutico em modelo experimental de cialgia. *Rev Bras Med Esporte.* 2009;15(6):424-7.
11. Martins MA, de Castro Bastos L, Tonussi CR. Formalin injection into knee joints of rats: pharmacologic characterization of a deep somatic nociceptive model. *J Pain.* 2006;7(2):100-7.
12. Vivancos GG, Verri WA Jr, Cunha TM, Schivo IR, Parada CA, Cunha FQ, et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37(3):391-9.
13. Gould D, Yousaf N, Fatah R, Subang MC, Chernajovsky Y. Gene therapy with an improved doxycycline-regulated plasmid encoding a tumour necrosis factor-alpha inhibitor in experimental arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2007;9(1):R7.
14. Bertolini GR, Silva TS, Ciena AP, Artifon EL. Comparação do ultrassom pulsado e contínuo no reparo tendíneo de ratos. *Fisioter Pesq.* 2012;19(3):242-7.
15. Coradini JG, Mattjie TF, Bernardino GR, Peretti AL, Kakihata CM, Errero TK, et al. [Comparison of low level laser, ultrasonic therapy and association in joint pain in Wistar rats. *Rev Bras Reumatol.* 2013;54(1):7-12]. English, Portuguese.