

ESTUDO COMPARATIVO DA VELOCIDADE E ATENUAÇÃO ULTRA-SÔNICA NA AVALIAÇÃO DA CONSOLIDAÇÃO ÓSSEA

A COMPARATIVE STUDY OF ULTRASONIC VELOCITY AND ATTENUATION IN THE EVALUATION OF BONE HEALING

GIULIANO BARBIERI¹, CLÁUDIO HENRIQUE BARBIERI¹, PAULO SÉRGIO DE MATOS², CARLOS ALBERTO PELÁ², NILTON MAZZER¹

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi comparar a velocidade e atenuação ultra-sônica, na avaliação *in vitro* da consolidação óssea. **Método:** Foram empregados no estudo 17 carneiros, com massa corporal média de 37 kg, divididos entre grupos controle e três experimentais, conforme o período de observação pós-operatória de 30, 60 e 90 dias. As osteotomias foram realizadas nas tíbias direitas dos animais, ficando as esquerdas como controle. O processo de consolidação foi acompanhado por meio de avaliação radiográfica a cada duas semanas. Ao fim do período de observação estipulado para cada grupo, os animais sofreram eutanásia e as tíbias foram removidas para a análise ultra-sonométrica *in vitro*. Foram medidos e correlacionados a velocidade de propagação transversal e longitudinal do ultra-som e a atenuação do ultra-som (BUA) transversal na região da osteotomia. **Resultados:** A velocidade de propagação do ultra-som (transversal e longitudinal, *in vitro*) aumentou com o avançar da consolidação, sendo as diferenças significantes em relação ao grupo controle e entre a maioria dos grupos experimentais. Já a BUA diminuiu, sendo parte das diferenças significantes entre os grupos. **Conclusão:** O método de avaliação da consolidação pelos parâmetros da ultra-sonometria é factível, com resultados confiáveis e precisos para medir a consolidação óssea.

Descritores: Carneiros. Tibia. Consolidação da fratura. Calo ósseo. Ultra-som.

ABSTRACT

Objectives: The objective of this study was to compare the *in vitro* ultrasonic velocity and attenuation in bone healing evaluation. **Methods:** Seventeen sheep weighting 37 kg in average were used, being divided into two groups of five animals each and one group of seven animals, according to the postoperative follow-up time (30, 60 and 90 days, respectively). Osteotomies were performed on the right tibiae and the intact left tibiae of the 17 animals were used as control. The healing process was monitored with conventional radiographs taken at two-week intervals. The animals were sacrificed at the end of the corresponding follow-up period and both right and left tibiae were removed for *in vitro* underwater and contact ultrasound evaluations. The transverse and longitudinal ultrasound propagation velocity (USPV) and the broadband ultrasound attenuation (BUA) were measured and correlated. **Results:** USPV increased with the progression of the healing process, while BUA decreased, with significant differences between the experimental and control groups and between the experimental groups, for most of the comparisons. **Conclusion:** It was concluded that the method using ultrasound as employed in this investigation is feasible and reliable for evaluating cortical bone healing.

Keywords: Sheep. Tibia. Fracture Healing. Bone callus. Ultrasonic.

Citação: Barbieri G, Barbieri CH, Matos PS, Pelá CA, Mazzer N. Estudo comparativo da velocidade e atenuação ultra-sônica na avaliação da consolidação óssea. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2009; 17(5):273-8. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

Citation: Barbieri G, Barbieri CH, Matos PS, Pelá CA, Mazzer N. A comparative study of ultrasonic velocity and attenuation in the evaluation of bone healing. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2009; 17(5):273-8. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

INTRODUÇÃO

Os métodos convencionais de diagnóstico por imagem (Raios-X, tomografia computadorizada, densitometria) envolvem o uso de radiação ionizante, que podem provocar alterações teciduais, potencialmente influenciando o desenvolvimento fetal e o crescimento na infância. Por esse motivo, métodos alternativos que não dependem daquelas radiações e livres dos efeitos deletérios, como a ressonância nuclear magnética e a ultra-sonografia, são preferíveis, particularmente em mulheres grávidas e crianças.^{1,2}

A ultra-sonografia é frequentemente preferida à ressonância magnética, por ser mais econômica e de mais fácil obtenção, mas a ultra-sonometria ainda é um método em desenvolvimento. Os estudos sobre a obtenção de imagens e de parâmetros ultra-sônicos dos tecidos do organismo humano e de animais, inclusive o osso, co-

meçaram na década de 50, tendo sido demonstrada a possibilidade de caracterização e discriminação de cada tecido. Na década de 80, começaram as aplicações do ultra-som quantitativo com a finalidade de diagnosticar e medir a osteoporose, inclusive para prever o risco de fratura óssea, sendo que já há equipamentos devidamente testados e autorizados para esse fim, em especial aqueles que utilizam o calcâneo como sítio de medidas e sistemas de transmissão da onda sonora com acoplamento por meio de gel ou de água.³⁻⁵

Com o ultra-som, não se mede a densidade óssea em massa por unidade de área, como se faz com a densitometria (g/cm²), nem em massa por unidade de volume, como se faz com a tomografia computadorizada (g/cm³), mas sim a velocidade de propagação da onda ultra-sônica através do corpo de prova (velocidade de propagação do ultra-som, ou VPUS) e a energia que a onda perde

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

1 – Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

2 – Laboratório de Física Aplicada à Medicina e Biologia. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Trabalho realizado no Laboratório de Engenharia, Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP. Endereço: DBMRAL (Ortopedia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. 14049-900 Ribeirão Preto, SP, Brasil. E-mail: chbarbie@fmrp.usp.br; gibieri@yahoo.com.br

Trabalho recebido em 18/04/08 aprovado em 08/09/08

ao fazê-lo, fenômeno conhecido como atenuação ultra-sônica de banda larga ("broadband ultrasound attenuation", ou BUA). Esses parâmetros ultra-sônicos variam de acordo com a densidade, estrutura, elasticidade e outras características físicas e mecânicas do osso, que variam conforme a região do osso analisado, característica de todo material anisotrópico.⁶

A VPUS é expressa em metros por segundo (m/s) e é considerada uma característica fundamental da propagação acústica dos tecidos, mais fidedigna do que as características de atenuação ou espalhamento, que são influenciadas por algumas variações na velocidade.⁷ A BUA mede o percentual das ondas sonoras absorvidas pelo osso ao atravessá-lo ou percorrê-lo e é expressa em decibéis por megahertz (dB/MHz).⁸

As ondas ultra-sônicas propagam-se melhor na água do que em qualquer outro meio, de modo que a ultra-sonometria subaquática é frequentemente preferida à de aplicação dos transdutores por contato, com o auxílio de um gel de acoplamento, pois as medidas tanto da VPUS como da BUA são mais acuradas.⁸ Por outro lado, a medida por contato é de mais fácil aplicação em situações clínicas, pois prescinde do uso de grandes tanques contendo água para mergulhar a extremidade em estudo.

Ainda mais, a ultra-sonometria pode ser transversal como longitudinal. No modo transversal, os transdutores emissor e receptor são colocados de um lado e do outro do corpo de prova e as ondas ultra-sônicas atravessam-no transversalmente, sendo este um modo de se fazerem tanto medidas subaquáticas como de contato.⁹ No modo longitudinal, os transdutores emissor e receptor são colocados perpendicularmente sobre o corpo de prova, alinhados com o seu longo eixo, separados por uma distância pré-determinada e paralelos entre si, e no qual as ondas ultra-sônicas percorrem-no por uma de suas superfícies, estando a área de interesse entre os transdutores; este é um modo opcional para se fazer as medidas de contato.^{10,11}

Por meio de estudos experimentais e clínicos, tem sido demonstrado que num osso fraturado a VPUS paulatinamente se aproxima à do osso íntegro, com o avançar do processo de consolidação, ou seja, a VPUS aumenta à medida que o calo ósseo se estabelece e adquire características físicas próximas às do osso intacto.⁹⁻¹¹ Já a BUA, muito pouco discutida nos estudos ultra-sonométricos dos ossos, diminui paulatinamente com a consolidação de fraturas, ou seja, à medida que o calo ósseo se estabelece, diminui o gasto de energia das ondas ultra-sônicas para atravessá-lo.¹² Os valores da VPUS variam de indivíduo para indivíduo, de modo que não pode ser usado um valor fixo como indicativo da consolidação óssea completa. Assim, numa situação clínica, o osso contra-lateral deve ser utilizado para comparações, a VPUS nele obtida indicando o valor correspondente ao ponto final da consolidação, pois alguns autores demonstraram que não ocorrem mudanças significativas na densidade do osso não fraturado contra-lateral, desde a ocorrência da fratura até a cicatrização total do osso fraturado.¹²⁻¹⁴

O objetivo deste trabalho foi comparar os principais parâmetros da ultra-sonometria óssea, VPUS e BUA, na avaliação *in vitro* da consolidação óssea, empregando como modelo a osteotomia transversa mediodiafisária de tíbias de carneiros, fixadas com um fixador externo flexível por diferentes períodos.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da instituição de origem dos pesquisadores envolvidos. Foram utilizados 17 carneiros adultos jovens da raça Santa Inês, de dez meses de idade, com massa corporal média de 37 kg (variação: 35,3 kg a 38,6 kg).

O experimento foi do tipo auto-controle, no qual as tíbias esquerdas, intactas, constituíram o grupo de controle (doravante identificado por intactas) para as tíbias direitas, operadas (doravante identificado por operadas). As tíbias de controle somaram 17 e foram submetidas às mesmas análises ultra-sonométricas que as tíbias operadas. Os 17 animais foram divididos em grupos, conforme o período de observação pós-operatória até a data da eutanásia, de 30, 60 (5 animais cada) e 90 dias (7 animais), e que serão doravante identificados em conformidade com o respectivo período, a saber: Grupo 30, Grupo 60 e Grupo 90.

Técnica anestésica e operatória

Os animais foram mantidos em jejum total por um período pré-operatório de 24 horas. A pré-anestesia foi realizada com uma mistura de xilazina (0,1 mg/kg), acepromazina (0,1 mg/kg) e tramadol (2 mg/kg) e a anestesia, com quetamina (3 mg/kg), todos por via endovenosa. A veia jugular foi cateterizada para manutenção anestésica, com uma mistura de quetamina (1 g/l), éter-gliceril-guaicol (EGG, 50 g/l) e xilazina (100 mg/l), e para fluidoterapia de apoio, com solução de cloreto de sódio a 0,9%. A velocidade de infusão da solução para manutenção anestésica foi estabelecida em 3 ml/Kg/h.

Para uniformidade das amostras, foi estabelecido que os procedimentos operatórios seriam realizados na tíbia direita, devidamente preparada com ampla tricotomia, anti-sepsia com solução de álcool iodado a 20% e isolamento com campos cirúrgicos esterilizados. Tanto a instalação do fixador externo como a osteotomia foram realizadas pela face antero-medial da tíbia. O primeiro passo do procedimento era a marcação, na própria pele, do ponto médio entre o côndilo medial da tíbia e o maléolo medial, como referência para a realização da osteotomia da tíbia. Em seguida, era instalado um fixador externo semiflexível com quatro fios auto-perfurantes tipo Schanz de 4 mm de diâmetro e posicionados a uma distância de 4 cm um do outro. Essa distância era marcada com o auxílio de um gabarito metálico, que possibilitava a marcação dos pontos de entrada dos fios e garantia o paralelismo entre eles. Marcados os pontos de entrada, neles eram feitas incisões cutâneas de 1,5 cm de comprimento e os fios eram passados com o auxílio de um guia de brocas, de modo a transfixar as duas corticais diametralmente opostas. Em seguida, era instalada a haste de conexão do fixador, presa aos fios por meio das presilhas dotadas de porcas que eram apertadas antes da realização da osteotomia, localizada entre os dois fios centrais. Foi estipulada a distância de 2 cm entre a haste e a superfície do membro, para maior estabilidade do sistema. A tíbia era abordada através de uma incisão cutânea longitudinal de 3 cm de comprimento, entre os dois fios centrais do fixador e sobre o ponto de referência marcado na pele. A musculatura era afastada e o periósteo era incisado na mesma linha que a pele e descolado cuidadosamente, dando acesso ao osso, no qual era feita uma osteotomia transversal com uma serra vibratória com lâmina de 1 mm de espessura. Após esse procedimento, a musculatura era suturada com fio absorvível de poliglactina 910* e a pele, com nylon monofilamentoso**. Um curativo oclusivo era colocado sobre as incisões e aí mantido por meio de enfaixamento levemente compressivo. Foi feita antibióticoterapia profilática com uma associação de penicilinas (40.000 UI/kg) e terapia analgésica e antiinflamatória com cetoprofeno (2 mg/kg), ambas por via intramuscular, durante cinco dias. Os curativos eram trocados a intervalos de dois dias, até a cicatrização das feridas operatórias. Os animais foram submetidos a controle radiográfico para a avaliação da evolução do calo ósseo, no pós-operatório imediato e a cada 15 dias, até a data da eutanásia para ressecção da tíbia.

* Vicryl 2/0, Ethicon®

** Superlon 2/0, Cirumédica®

Após permanecerem com o fixador externo durante o tempo estabelecido para cada grupo experimental, os animais foram anestesiados com uma injeção intravenosa de uma dose elevada de tiopental sódico a 2,5%, seguida de uma injeção endovenosa de um volume de solução de cloreto de potássio suficiente para causar a parada cardíaca. Logo após a eutanásia, as duas tíbias eram desarticuladas e dissecadas, removendo todas as partes moles e deixando apenas o osso íntegro. Em seguida, eram embaladas em sacos plásticos individuais esvaziados de ar tão completamente quanto possível e congeladas em um freezer à temperatura de -20°C, pela leitura do termostato, até a data da realização das análises ultra-sonométricas.

Técnicas de ultra-sonometria

As tíbias foram submetidas à ultra-sonometria óssea transversal subaquática (técnica de inserção) e à de contato, transversal e longitudinal. A primeira era realizada com a tíbia imersa em um tanque acústico; as segundas eram feitas com os transdutores diretamente em contato com o osso, com a interposição de um gel de acoplamento. Os transdutores foram confeccionados com pastilhas de PZT-5 (material piezo-elétrico) em forma de disco, de 13 mm de diâmetro e a frequência foi ajustada em 1 MHz.

O sistema de tomadas de tempo de transmissão das ondas ultra-sônicas consistia de um tanque acústico (técnica de inserção) ou de um instrumento de alumínio em forma "U" (técnica de contato), onde eram instalados os transdutores emissor e receptor, entre os quais eram colocadas as tíbias a serem analisadas. Completava o sistema um equipamento gerador-receptor-amplificador de pulsos de ultra-som, conectado a um osciloscópio, para visualização do sinal recebido, e que, por sua vez, está conectado a um microcomputador, para o processamento dos sinais.⁹ O equipamento ultra-sônico utilizado funciona com um circuito que gera pulsos estreitos (1 µs) e de amplitude de até 200 V, para excitar o transdutor emissor, com potência suficiente para o pulso atravessar a amostra óssea sem ser totalmente atenuado. A voltagem de entrada no transformador da fonte é regulável, permitindo variar a tensão aplicada no transdutor emissor de US. As duas fontes de alta e baixa tensão são utilizadas para alimentar um circuito que gera pulsos retangulares de curta duração e forma bem definida. O sinal recebido pelo transdutor receptor é amplificado por um circuito específico, dotado de uma chave seletora que permite amplificar ou não o sinal. O osciloscópio visualiza e o microcomputador processa os sinais recebidos e armazena as informações.

Para a realização das medidas ultra-sônicas, as tíbias eram retiradas do freezer e descongeladas lentamente, permanecendo por 12 horas a uma temperatura de -12°C (congelador) e por mais 12 horas a uma temperatura média de +4°C (geladeira). Antes da realização das análises, as tíbias permaneciam por mais duas horas em temperatura ambiente controlada (sala com ar condicionado, 25°C medidos no termômetro). O equipamento era calibrado antes de

iniciar as medidas, que foram feitas com os transdutores focados na região de interesse, que era a porção média entre o côndilo medial e o maléolo medial da tíbia, na qual havia sido feita a osteotomia, em todos os grupos já coberta por calo ósseo e não identificável. A posição da tíbia no tanque acústico era acertada de modo que o pulso ultra-sônico incidisse exatamente na região de interesse. As medidas foram feitas em duas incidências: 1) transversal (velocidade transversal, ou VT), na qual os transdutores eram posicionados de cada lado da osteotomia e perpendiculares ao eixo longo da tíbia e ao plano sagital; 2) longitudinal (velocidade longitudinal, ou VL), na face ântero-lateral da tíbia, na qual o transdutor emissor era posicionado acima e o receptor, abaixo da osteotomia, estando ambos a igual distância dela (Figura 1). Eram feitas seis medidas sequenciais em cada espécime para cada incidência do ultra-som, o que permitia avaliar a dispersão nas medidas. Foi obtido um valor médio dessas seis medidas, utilizado nos cálculos estatísticos.

Foram comparados entre os grupos os resultados referentes à velocidade longitudinal, medida pela técnica de contato com o gel (VL), e à velocidade transversal, medida pelas técnicas de contato (VTC) com o gel e de inserção no tanque acústico (VTI), nas tíbias operadas e nas intactas. A BUA foi medida somente com as técnicas de medida da velocidade transversal.

Para a análise estatística foi proposto um modelo linear de efeitos mistos.¹⁵ O ajuste do modelo foi feito através do procedimento PROC MIXED do software SAS (V. 9), com o nível de significância fixado em 1% ($p \leq 0,01$).¹⁶ Após a construção do modelo, foi realizada uma análise de resíduos para checar as suposições do modelo, sendo a transformação logarítmica considerada adequada para atender essa exigência em alguns casos. Além disso, foi proposta uma comparação bruta das médias em cada situação. Com o objetivo de verificar uma relação linear entre as respectivas variáveis, foi utilizado um modelo de regressão linear. A magnitude do coeficiente de inclinação da reta ajustada indica quanto as respectivas variáveis estão relacionadas.

RESULTADOS

Velocidade longitudinal (VL)

Para as tíbias intactas, a VL média foi de 3.818,11 m/s (variação: 2.914,95 m/s – 4.166,32 m/s), 3.852,61 m/s (variação: 3.138,72 m/s – 4.144,62 m/s) e 4.369,33 m/s (variação: 3.960,05 m/s – 4.861,1 m/s), e para as tíbias operadas, a foi de 2.727,46 m/s (variação: 2.423,47 m/s – 3.217,15 m/s), 2.936,65 m/s (variação: 2.329,55 m/s – 3.584,52 m/s) e 4.001,26 m/s (variação: 3.642,67 m/s – 4.320,32 m/s), nos Grupos 30, 60 e 90, respectivamente. Portanto, a VL aumentou paulatinamente com a consolidação das osteotomias, aproximando-se dos valores medidas nas tíbias intactas. As diferenças foram significantes nas comparações entre as tíbias intactas e as operadas em cada período de observação ($p \leq 0,01$), para todas as comparações. As diferenças foram significantes tanto para as tíbias operadas como

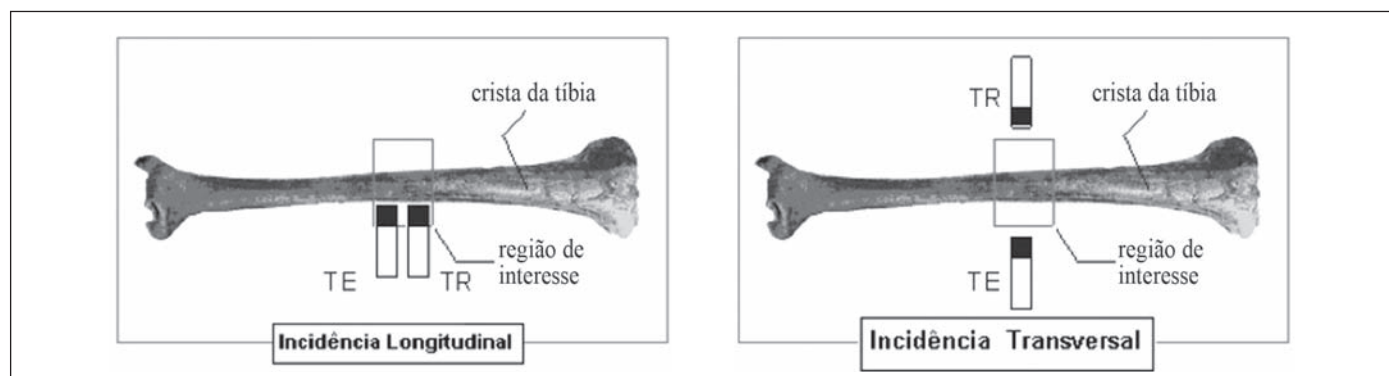


Figura 1 – Incidência Longitudinal (utilizada para contato; VPUS) e Incidência Transversal (utilizada para contato e inserção; VPUS e BUA)

para as intactas na comparação entre os Grupos 30 e 90 e entre 60 e 90 ($p \leq 0,01$), mas não entre 30 e 60 ($p = 0,19$ e $p = 0,82$, respectivamente, para as operadas e as intactas). (Tabela 1)

Tabela 1 – Resultados obtidos para a variável VL (m/s)

Grupos		Grupo I		Grupo II		Pvalor
		Média	DP	Média	DP	
Intacta	30 vs 60	3818,11	516,11	3852,61	432,54	0,82
	30 vs 90	3818,11	516,11	4369,33	297,87	<0,01
	60 vs 90	3852,61	432,54	4369,33	297,87	0,01
Operada	30 vs 60	2727,46	342,85	2936,65	467,54	0,19
	30 vs 90	2727,46	342,85	4001,26	202,14	<0,01
	60 vs 90	2936,65	467,54	4001,26	202,14	<0,01

Velocidade transversal pelo método de contato (VTC)

Para as tíbias intactas, a VTC média foi de 2.505,18 m/s (variação: 2.399,33 m/s – 2.586,82 m/s), 2.490,15 m/s (variação: 2.476,2 m/s – 2.510,75 m/s) e 2.992,00 m/s (variação: 2.841,97 m/s – 3.159,02 m/s), e para as operadas foi de 2.147,61 m/s (variação: 2.070,47 m/s – 2.255,3 m/s), de 2.328,82 m/s (variação: 2.254,78 m/s – 2.402,83 m/s) e de 2.839,97 m/s (variação: 2.657,35 m/s – 3.033,78 m/s), nos Grupos 30, 60 e 90, respectivamente, mostrando que a VTC nas tíbias operadas paulatinamente se aproximou dos valores medidos nas tíbias intactas. As diferenças foram significantes nas comparações entre as tíbias intactas e as operadas em cada período de observação ($p \leq 0,01$), para todas as comparações, e para as tíbias operadas em todas as comparações entre os Grupos 30, 60 e 90 ($p \leq 0,01$). Para as tíbias intactas, as diferenças foram significantes na comparação entre os Grupos 30 e 90 e entre 60 e 90 ($p \leq 0,01$), mas não entre 30 e 60 ($p = 0,65$). (Tabela 2)

Tabela 2 – Resultados obtidos para a variável VTC (m/s)

Grupos		Grupo I		Grupo II		Pvalor
		Média	DP	Média	DP	
Gel	130 vs O30	2505,18	78,16	2147,61	75,9	<0,01
	160 vs O60	2490,15	12,75	2328,82	52,51	<0,01
	190 vs O90	2992	96,08	2839,97	147,09	<0,01
Intacta	30 vs 60	2505,18	78,16	2490,15	12,75	0,65
	30 vs 90	2505,18	78,16	2992	96,08	<0,01
	60 vs 90	2490,15	12,75	2992	96,08	<0,01
Operada	30 vs 60	2147,61	75,9	2328,82	52,51	<0,01
	30 vs 90	2147,61	75,9	2839,97	147,09	<0,01
	60 vs 90	2328,82	52,51	2839,97	147,09	<0,01

Velocidade transversal pelo método de inserção (VTI)

Para as tíbias intactas, a VTI média foi de 2.987,70 m/s (variação: 2.929,37 m/s – 3.015,23 m/s), de 2.921,56 m/s (variação: 2.859,37 m/s – 3.037,17 m/s) e de 2.946,49 m/s (variação: 2.883,75 m/s – 2.988,63 m/s), e para as operadas foi de 2.281,46 m/s (variação: 2.195,78 m/s – 2.400,7 m/s), de 2.484,95 m/s (variação: 2.369,78 m/s – 2.599,3 m/s) e de 2.693,83 m/s (variação: 2.529,45 m/s – 2.808,9 m/s), nos Grupos 30, 60 e 90, respectivamente, mostrando igualmente que a VTI nas tíbias operadas se aproximou paulatinamente dos valores medidos nas tíbias intactas. As diferenças foram significantes nas comparações entre as tíbias intactas e as operadas em

todos os períodos de observação ($p \leq 0,01$), para todas as comparações, e para as tíbias operadas em todas as comparações entre os Grupos 30, 60 e 90 ($p \leq 0,01$). Para as tíbias intactas, não houve diferença significativa em nenhuma comparação (30 e 60, $p = 0,05$; 30 e 90, $p = 0,18$; e 60 e 90, $p = 0,42$). (Tabela 3)

Tabela 3 – Resultados obtidos para a variável VTI (m/s)

Grupos		Grupo I		Grupo II		Pvalor
		Média	DP	Média	DP	
Água	130 vs O30	2987,7	34,21	2281,46	77,59	<0,01
	160 vs O60	2921,56	70,84	2484,95	95,71	<0,01
	190 vs O90	2946,49	36,31	2693,83	104,57	<0,01
Intacta	30 vs 60	2987,7	34,21	2921,56	70,84	0,05
	30 vs 90	2987,7	34,21	2946,49	36,31	0,18
	60 vs 90	2921,56	70,84	2946,49	36,31	0,42
Operada	30 vs 60	2281,46	77,59	2484,95	95,71	<0,01
	30 vs 90	2281,46	77,59	2693,83	104,57	<0,01
	60 vs 90	2484,95	95,71	2693,83	104,57	<0,01

Atenuação de banda larga pelo método de contato (BUAC)

Para as tíbias intactas, a BUA média foi de 44,22 dB/MHz (variação: 33,53 – 53,84 dB/MHz), de 45,50 dB/MHz (variação: 36,57 – 52,14 dB/MHz) e de 65,31 dB/MHz (variação: 56,43 – 73,05 dB/MHz), e para as operadas foi de 75,05 dB/MHz (variação: 63,25 – 98,16 dB/MHz), de 49,85 dB/MHz (variação: 28,53 – 62,89 dB/MHz) e de 75,54 dB/MHz (variação: 66,15 – 85,03 dB/MHz), nos Grupos 30, 60 e 90, respectivamente, ficando evidente que a atenuação diminuiu com a consolidação da osteotomia e seus valores se aproximam paulatinamente daqueles das tíbias intactas. As diferenças foram significantes nas comparações entre as tíbias intactas e as operadas nos Grupos 30 e 90 ($p \leq 0,01$), mas não no Grupo 60 ($p = 0,05$). Para as tíbias operadas, as diferenças foram significantes na comparação entre os Grupos 30 e 60 e entre 60 e 90 ($p \leq 0,01$), mas não entre 30 e 90 ($p = 0,92$). Para as tíbias intactas, as diferenças foram significantes na comparação entre os Grupos 30 e 90 e entre 60 e 90 ($p \leq 0,01$), mas não entre 30 e 60 ($p = 0,80$). (Tabela 4)

Atenuação de banda larga pelo método de inserção (BUAI)

Para as tíbias intactas, a BUAI média foi de 55,65 dB/MHz (variação: 41,96 – 64,31 dB/MHz), de 56,15 dB/MHz (variação: 51,01 – 65,17 dB/MHz) e de 57,05 dB/MHz (variação: 49,48 – 64,72 dB/MHz), e para as operadas foi de 95,20 dB/MHz (variação: 86,75 – 104,21 dB/MHz), de 75,60 dB/MHz (variação: 66,37 – 87,53 dB/MHz) e de 69,57 dB/MHz (variação: 45,88 – 87,51 dB/MHz), nos Grupos 30, 60 e 90, respectivamente, ficando também evidente que a atenuação diminuiu

Tabela 4 – Resultados obtidos para a variável BUAC (dB/MHz)

Grupos		Grupo I		Grupo II		Pvalor
		Média	DP	Média	DP	
Gel	130 vs O30	44,22	9,51	75,05	14,24	<0,01
	160 vs O60	45,5	6,13	49,85	13,06	0,05
	190 vs O90	65,31	6,25	75,54	6,45	<0,01
Intacta	30 vs 60	44,22	9,51	45,5	6,13	0,8
	30 vs 90	44,22	9,51	65,31	6,25	<0,01
	60 vs 90	45,5	6,13	65,31	6,25	<0,01
Operada	30 vs 60	75,05	14,24	49,85	13,06	<0,01
	30 vs 90	75,05	14,24	75,54	6,45	0,92
	60 vs 90	49,85	13,06	75,54	6,45	<0,01

com a consolidação da osteotomia e seus valores se aproximam paulatinamente daqueles das tíbias intactas. As diferenças foram significantes nas comparações entre as tíbias intactas e as operadas em todos os períodos de observação ($p \leq 0,01$), para todas as comparações. Para as tíbias operadas, as diferenças foram significantes na comparação entre os Grupos 30 e 60 e entre 30 e 90 ($p \leq 0,01$), mas não entre 60 e 90 ($p=0,19$), ao passo que para as tíbias intactas as diferenças não foram significantes em nenhuma comparação (30 e 60, $p=0,92$; 30 e 90, $p=0,76$; 60 e 90, $p=0,85$). (Tabela 5)

Tabela 5 – Resultados obtidos para a variável BUAI (dB/MHz)

	Grupos	Grupo I		Grupo II		Pvalor
		Média	DP	Média	DP	
Água	130 vs O30	55,65	8,51	95,2	6,96	<0,01
	160 vs O60	56,15	5,55	75,6	9,19	<0,01
	190 vs O90	57,05	5,2	69,57	13,32	<0,01
Intacta	30 vs 60	55,65	8,51	56,15	5,55	0,92
	30 vs 90	55,65	8,51	57,05	5,2	0,76
	60 vs 90	56,15	5,55	57,05	5,2	0,85
Operada	30 vs 60	95,2	6,96	75,6	9,19	<0,01
	30 vs 90	95,2	6,96	69,57	13,32	<0,01
	60 vs 90	75,6	9,19	69,57	13,32	0,19

Relação linear (regressão linear) VTC versus BUAC e VTI versus BUAI

Foi calculada a relação linear (regressão linear) entre as VTC e BUAC e entre as VTI e BUAI, e testadas as significâncias como um todo. Observou-se que houve uma forte relação negativa e significativa, ou seja, a atenuação de banda larga diminui na razão inversa do aumento da velocidade de propagação do ultra-som, com o progredir da consolidação da osteotomia. (Figuras 2 e 3)

DISCUSSÃO

O processo de consolidação das fraturas em humanos e animais é usualmente avaliado por meio de técnicas radiográfica, sejam convencionais, de densitometria óssea ou de tomografia computadorizada, que são obtidas por meio de radiações ionizantes, de conhecidos efeitos deletérios sobre os tecidos.^{3,17,18} Aliado a isso está, primeiro, o fato de que o calo ósseo só é visível ao exame radiográfico se estiver suficientemente calcificado, nenhuma imagem

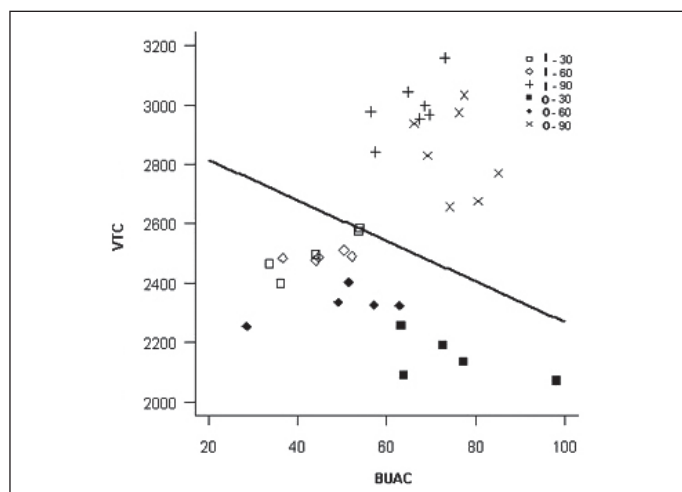


Figura 2 – Relação linear (regressão linear) entre as VTC (m/s) e BUAC (dB/MHz). Coeficiente de inclinação: -6,82 ($p \leq 0,01$). Intactas (I), Operadas (O).

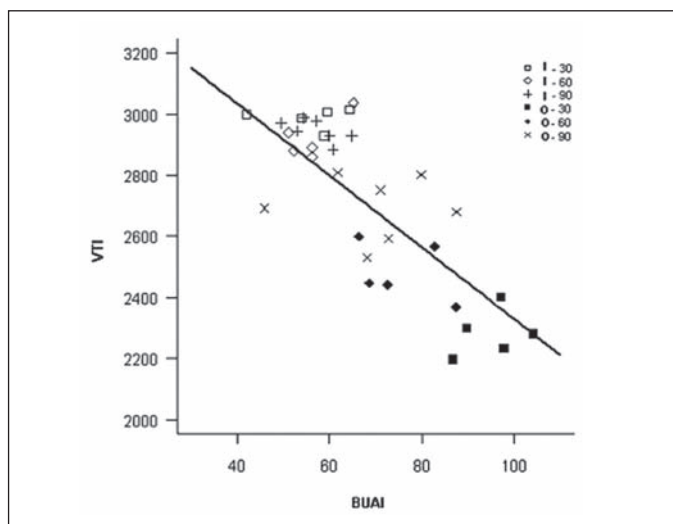


Figura 3 – Relação linear (regressão linear) entre as VTI (m/s) e BUAI (dB/MHz). Coeficiente de inclinação: -11,73 ($p \leq 0,01$). Intactas (I), Operadas (O)

sendo observada antes disso; segundo, a consolidação óssea nem sempre envolve a formação de um calo ósseo, sendo, portanto, um processo quase invisível, como ocorre nas fraturas diafisárias rigidamente fixadas e nas fraturas epifisárias e metafisárias, de consolidação endosteal. Sendo assim, um recurso que pudesse ser empregado nas fases precoces da consolidação, antes que se forme um calo ósseo, e que de preferência não envolvesse o uso de radiação ionizante, seria de grande utilidade, particularmente quando muitas avaliações sucessivas se façam necessárias. Aqui estaria um nicho para o emprego do ultra-som quantitativo, ou ultra-sonometria, com essa finalidade, pois dentro de certos parâmetros, o ultra-som é um agente físico totalmente destituído de efeitos deletérios sobre os tecidos biológicos.

A ultra-sonometria já é utilizada para o diagnóstico da osteoporose, por meio de equipamentos específicos, que poderiam ser adaptados para a avaliação da consolidação de fraturas, com vantagem de ser sensível e de baixo custo, mas não seria destinado a substituir os métodos convencionais, atuando apenas como complementar, contribuindo para diminuir a necessidade do uso de radiação ionizante, particularmente em mulheres grávidas e crianças. Entretanto, são poucas investigações relatadas na literatura especializada sobre o uso da ultra-sonometria para avaliar a evolução de fraturas, tendo sido esse, portanto, o principal motivo para a realização do presente trabalho, focado na avaliação na correlação entre a VPUS e a BUA. Em trabalho anteriormente publicado, realizado num modelo de osteotomia transversal mediodiafisária da tíbia de ovelhas, os autores da presente investigação relataram os resultados da medida apenas da VPUS, num prazo de até 60 dias, tendo demonstrado que esse parâmetro se aproxima paulatinamente dos valores medidos no osso intacto conforme evolui o processo de consolidação da osteotomia. Agora, utilizando modelo idêntico, o prazo de estudo foi estendido para até 90 dias, período em que já há um adiantado processo de remodelação do calo ósseo, e associaram a análise da atenuação de banda larga (BUA), que é outro parâmetro de possível utilização clínica.

Um dos problemas intrínsecos ao desenvolvimento de um trabalho dessa natureza é o equipamento utilizado. Em períodos um pouco mais remotos, foram utilizados equipamentos destituídos de tecnologia digital e de processamento de sinais por computador, com os quais os resultados são suscetíveis de erros de medida e de cálculo.^{10,11} Mais recentemente, ensaios clínicos foram conduzidos em humanos utilizando um equipamento comercial disponível, desenvolvido para o estudo da osteoporose (SoundScan 2000® - Myriad Ultrasound Systems Ltd., Rehovot, Israel), mas já com tecnologia digital, tendo sido demonstrado o aumento progressivo da VPUS

com o avançar do processo de consolidação de fraturas da tíbia.^{12,19} O aparelho utilizado no presente experimento foi desenvolvido inicialmente para avaliação da osteoporose e convalidado em estudos prévios por De Matos⁵, mas, sendo relativamente simples e versátil, foi facilmente adaptado para a avaliação da consolidação de fraturas por Barbieri et al.⁹ São inúmeras as vantagens da sua utilização, pois é de tecnologia digital, está conectado a um computador que permite armazenamento e análise comparativa dos dados obtidos e tem os transdutores móveis, capazes de serem adaptados a diversos tipos de superfícies, podendo utilizar tanto a água como o gel para acoplamento, dependendo da exigência da análise. A técnica de ultra-som utilizada por Gerlanc et al.¹¹, Saulgozis et al.¹² e Siegel, Anast e Fields¹⁰, foi a da transmissão sobre a superfície cortical (utilizando um gel de acoplamento), o sinal ultra-sônico sendo introduzido num determinado ponto de uma das faces do osso e sendo captado num outro ponto da mesma face. Barbieri et al.⁹ utilizaram da técnica onde os transdutores eram colocados em lados opostos do osso em estudo, com os seus centros alinhados, de modo que o sinal ultra-sônico emitido de um dos lados do osso era captado do outro, no sentido transversal ao eixo do osso, atravessando não apenas a cortical, mas também a medula e todo calo ósseo e permitindo a avaliação de cada osso como um todo e não somente da cortical da tíbia. Os autores ainda relatam que devido às diferenças de diâmetro da região de interesse, a condução dos pulsos ultra-sônicos foi avaliada com o osso em duas posições. Ainda mais, foi preferida a transmissão aquática do ultra-som, com as tíbias inteiramente mergulhadas num tanque cheio de água, porque esta é o melhor meio de propagação das ondas, que atingem integralmente o osso, atravessam-no e saem pelo lado oposto ao da entrada, chegando ao transdutor de captação. No atual estudo, utilizamos a mesma metodologia empregada por Barbieri et al.⁹, mas realizou-se também a medida pela transmissão direta, com um gel de acoplamento, pois para futura aplicabilidade *in vivo* a técnica de transmissão aquática torna-se inviável. Para tanto, empregou-se neste estudo, além da transmissão sobre a superfície cortical, a técnica transversal, a qual aplica-se da mesma forma utilizada para inserção em água, porém neste caso, fazendo-se uso do gel de acoplamento. Conforme especificado por Hill⁷, o principal parâmetro escolhido para análise foi a velocidade de propagação do ultra-som através do osso, por ser considerada a propriedade fundamental da propagação acústica nos tecidos, mas diferentemente dos trabalhos citados, optou-se por utilizar também a BUA. Os resultados obtidos neste trabalho mostraram claramente que a velocidade de propagação do ultra-som aumentou progressivamente, juntamente com o avançar da consolidação da osteotomia, numa nítida tendência de se aproximar daquela observada nas tíbias intactas. Além disso, as diferenças entre os grupos operados ao longo do tempo foram significantes do ponto de vista estatístico

na VTI. Na VL e VTC, algumas diferenças entre os grupos operados foram significantes. Praticamente todas as diferenças entre os grupos operados e intactos foram significantes.

Com relação à atenuação do ultra-som (BUA), os resultados mostraram uma diminuição progressiva, juntamente com o avançar da consolidação, com uma tendência de aproximação aos valores obtidos nas tíbias intactas, no que se refere a BUA. Além disso, foram encontradas diferenças significantes entre os grupos operados e os intactos e, do mesmo modo, algumas diferenças entre os grupos operados foram significantes. Para BUAC os resultados foram confusos e não significantes; contudo, mostraram uma diminuição progressiva (com oscilações), juntamente com o avançar da consolidação, com uma discreta tendência de aproximação aos valores obtidos nas tíbias intactas.

Ao lado disso, foram relacionadas as VT *versus* BUA (inserção e contato). Foram encontradas fortes relações negativas com resultados significantes para ambas as relações. Esses resultados mostram que quanto maior a velocidade de propagação do ultra-som no calo ósseo, menos o ultra-som é atenuado.

Esses achados sugerem que as variáveis velocidade do ultra-som e atenuação do ultra-som são dependentes da constituição do calo ósseo, o qual é, de início, predominantemente fibroso (fibrocartilagem) e, portanto, com menor capacidade de transmissão de ondas mecânicas, como as do ultra-som, atenuando-as com maior intensidade e, devido à natureza fibrocartilaginosa do calo. Com o passar do tempo, a fibrocartilagem é substituída por osso esponjoso e, finalmente, por osso cortical, fazendo com que a velocidade de condução e a atenuação do ultra-som, tendam àquelas medidas na tíbia intacta, lembrando que apenas Saulgozis et al.¹² trabalharam também com atenuação (BUA).⁹⁻¹²

Não foram realizadas medidas de BUA longitudinalmente, pois os sinais obtidos nesta posição foram imprecisos para tais cálculos. O que não acontece para os cálculos de velocidade, que estão relacionados com o tempo de chegada do sinal ultra-sônico.

A continuidade de novos estudos, principalmente no que diz respeito às situações clínicas (*in vivo*), será de total valia para comprovar a grande aplicabilidade da ultra-sonometria como método auxiliar, seguro, de baixo custo e livre de radiações ionizantes na avaliação do processo da cicatrização óssea.

CONCLUSÃO

O método de avaliação da consolidação óssea através da medida quantitativa da velocidade de propagação e atenuação do ultra-som, em situações *in vitro*, conforme desenvolvido neste trabalho, mostrou-se factível e de fácil aplicação, permitindo detectar pequenas diferenças até entre curtos períodos de observação, com diferenças significantes entre boa parte das comparações. O método tem potencial para desenvolvimento também em situações clínicas *in vivo*.

REFERÊNCIAS

1. Lee SC, Coan BS, Bouxsein ML. Tibial ultrasound velocity measured in situ predicts the material properties of tibial cortical bone. *Bone*. 1997;21:119-25.
2. Lequin MH, Van Rijn RR, Robben SGF, Hop WCJ, Van Kuijk C. Normal values for tibial quantitative ultrasonometry in caucasian children and adolescents (aged 6 to 19 anos). *Calcif Tissue Int*. 2000;67:101-5.
3. Markel MD, Chao EYS. Noninvasive monitoring techniques for quantitative description of callus mineral content and mechanical properties. *Clin Orthop Relat Res*. 1993;(293):37-45.
4. Sievänen H, Cheng S, Ollikainen S, Uusi-Rasi K. Ultrasound velocity and cortical bone characteristics in vivo. *Osteoporos Int*. 2001;12:399-405.
5. Castro CHM, Pinheiro MM, Szejnfeld VL. Prós e contras da ultra-sonometria óssea de calcâneo – artigo de revisão. *Rev Assoc Med Bras*. (on line) 2000. Jan-Mar (Acesso em: 10 Jan 2003). Disponível em: http://www.amb.org.br/ramb/jan_mar00/jan_mar.htm.
6. De Matos PS. Desenvolvimento e caracterização do sistema de ultra-som para avaliação da velocidade e atenuação em tecido ósseo [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2000.
7. Hill CR. *Physical principles of medical ultrasonics*. Chichester: Ellis Horwood; 1986.
8. Njeh CF, Kuo CW, Langton CM, Atrah HI, Boivin C. M. Prediction of human femoral bone strength using ultrasound velocity and BMD: an in vitro study. *Osteoporos Int*. 1997;7:471-7.
9. Barbieri G, Barbieri CH, De Matos PS, Pelá CA, Mazzer N. Ultrasonometric evaluation of bone healing: experimental study using a model of diaphyseal osteotomy of sheep tibiae. *Ultrasound Med Biol*. 2006;32:875-82.
10. Siegel IM, Anast GT, Fields T. The determination of fracture healing by measurement of sound velocity across the fracture site. *Surg Gynecol Obstet*. 1958;107:327-32.
11. Gerlanc M, Haddad D, Hyatt GW, Langlois JT, St Hilaire P. Ultrasonic study of normal and fractured bone. *Clin Orthop Relat Res*. 1975;(111):175-80.
12. Saulgozis J, Pontaga I, Lowet G, Van Der Perre G. The effect of fracture and fracture fixation on ultrasonic velocity and attenuation. *Physiol Meas*. 1996;17:201-11.
13. Cattermole HC, Cook JE, Fordham JN, Muckle DS, Cunningham JL. Bone mineral changes during tibial fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*. 1997;(339):190-6.
14. Ulivieri FM, Bossi E, Azzoni R, Ronzani C, Trevisan C, Montesano A et al. Quantification by dual photonabsorptometry of local bone loss after fracture. *Clin Orthop Relat Res*. 1990;250:291-6.
15. Mclean RA, Sanders WL, Sroug WW. A unified approach to mixed linear models. *Am Statistician*. 1991; 45:54-64.
16. Littell RC, Milliken GA, Sroug WW, Wolfinger RD. *Sas system for mixed models*. Cary: SAS Institute; 1996.
17. Bail HJ, Kolbeck S, Krummrey G, Weiler A, Windhagen HJ, Hennies K et al. Ultrasound can predict regenerate stiffness in distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res*. 2002;(404):362-7.
18. Malizos KN, Papachristos AA, Protopappas VC, Fotiadis DI. Transosseous application of low-intensity ultrasound for the enhancement and monitoring of fracture healing process in a sheep osteotomy model. *Bone*. 2006;38:530-9.
19. Njeh CF, Kearton JR, Hans D, Boivin CM. The use of quantitative ultrasound to monitor fracture healing: a feasibility study using phantoms. *Med Eng Phys*. 1998;20:781-6.