



Efeito do ultra-som terapêutico contínuo em placas epifisárias de coelhos

Andersom Ricardo Fréz¹, Déborah Ariza¹, José Roberto Leonel Ferreira², Éder Paulo Belato Alves³, Gláucia Ritter Breda⁴, Lígia Aline Centenaro⁴, Tiago Kijoshi Ueda⁴ e Gladson Ricardo Flor Bertolini⁵

RESUMO

Devido aos efeitos terapêuticos, o ultra-som tem se tornado ferramenta indispensável no tratamento fisioterapêutico de alterações causadas por lesões e em diversas doenças, porém seu uso em pacientes pediátricos é controverso por possíveis distúrbios e danos à placa epifisária. O objetivo deste estudo é verificar se o ultra-som contínuo apresenta efeitos de alteração na placa de crescimento da tíbia de coelhas. Oito coelhas da raça Nova Zelândia com dois meses de idade foram submetidas a um tratamento usando ultra-som terapêutico de forma contínua com dose de 1W/cm² na região lateral da articulação do joelho direito por 5min, durante 10 dias com dois dias de intervalo após a 5ª aplicação. A articulação do joelho esquerdo foi utilizada como controle. A análise histológica mostrou uma alteração na espessura da cartilagem epifisária, sendo que no lado tratado o tamanho foi 24,40% maior do que no controle ($p < 0,0001$), enquanto a análise radiológica não apresentou diferença entre os membros. Conclui-se que o ultra-som terapêutico na forma utilizada produz alterações histológicas significativas na espessura da cartilagem no lado tratado, sugerindo uma aceleração no metabolismo da placa.

ABSTRACT

Effect of continuous therapeutic ultrasound in rabbit growth plates

The therapeutic efficiency of ultrasound has become an indispensable tool of physical therapy treatment in cases of alteration by lesions and in many kinds of sickness. However, in pediatric cases the use of ultrasound is controversial due to possible disturbance and damage to the growth plate. The aim of this study is to find out if the continuous ultrasound presents alteration effects on the growth plate of female rabbits. Eight New Zealand female rabbits with two months of age were tested. They were treated by continuous therapeutic ultrasound with doses of 1 W/cm² in the lateral region of the right knee joint for five minutes, during 10 days, with an interval of two days after five applications. The left knee joint was used as a control. The histological analysis showed an alteration in the thickness of the growth plate on the treated side 24.40% bigger than in the left knee joint of the control ($p < 0.0001$). On other hand, the radiological analysis did not show any difference between the limbs. The conclusion was that the thera-

Palavras-chave: Ultra-som terapêutico. Placa epifisária.

Keywords: Ultrasound therapy. Growth plate.

Palabras-clave: Ultrasonografía terapéutica. Placa epifisaria.

peutic ultrasound produced significant histological alterations in the cartilage thickness on the treated side according to the manner it was used in the experiment. Such fact suggests an acceleration in the growth plate metabolism.

RESUMEN

Efectos de la ultrasonografía terapéutica continua en placas epifisarias de conejos

Debido a los efectos terapéuticos, la ultrasonografía se ha convertido en una herramienta indispensable al tratamiento fisioterapêutico de las alteraciones causadas por lesiones y en diversas enfermedades, a pesar de esto su uso en pacientes pediátricos es controversial por los posibles distúrbios y daños a la placa epifisaria. El objetivo de este estudio es verificar si la ultrasonografía continua presenta efectos de alteración en la placa de crecimiento de la tibia de conejas. Ocho conejas de la raza Nueva Zelanda con 2 meses de edad fueron sometidas a un tratamiento usando ultrasonografía terapéutica de forma continua con dosis de 1W/cm² en la región lateral de la articulación de la rodilla derecha por 5 min, durante 10 días con 2 días de intervalo después de la 5ª aplicación. La articulación de la rodilla izquierda fue utilizada como control. El análisis histológico reportó una alteración en la espesura del cartilago epifisario, en el lado tratado el tamaño fue de 24,40% mayor del que en el control ($p < 0,0001$); mientras que el análisis radiológico no presentó ninguna diferencia entre los miembros. Por tanto, se concluye que la ultrasonografía terapéutica en la forma utilizada produce alteraciones histológicas significativas en la espesura del cartilago en el lado tratado, lo que sugiere una aceleración en el metabolismo de la placa.

INTRODUÇÃO

O ultra-som destaca-se como uma forma terapêutica que apresenta evidências clínicas para uso em lesões de tecidos moles com o objetivo de acelerar a cicatrização⁽¹⁻³⁾, diminuir a rigidez articular, reduzir dor e espasmo muscular⁽⁴⁾, aumentar a síntese de colágeno⁽⁵⁾ e regeneração da inervação periférica⁽⁶⁾.

Contudo, muitos relatos sobre sua aplicação no sistema músculo-esquelético têm sido focados na consolidação de fraturas⁽⁴⁾, apresentando bons resultados na formação^(7,8) e consolidação do calo ósseo, tanto em modelos animais, como em humanos^(7,9,10). Além disso, o ultra-som pode aumentar a densidade de osteoblastos⁽¹¹⁾, estimular a secreção de matriz celular^(12,13) e de fatores de crescimento envolvidos na consolidação de fraturas⁽¹⁴⁾.

Todos esses efeitos fazem com que o ultra-som terapêutico seja selecionado para o tratamento de alterações causadas por lesões e para diversas doenças. Mas existem algumas controvérsias sobre seu uso em pacientes pediátricos, pois alguns estudos indicam possíveis distúrbios e danos à placa epifisária^(4,15), os quais

1. Fisioterapeuta Graduado pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) – Campus de Cascavel.
2. Médico Radiologista, Docente da Disciplina de Radiologia e Diagnóstico por Imagem da UNIOESTE.
3. Docente da Disciplina de Histologia da UNIOESTE.
4. Acadêmico de Fisioterapia da UNIOESTE.
5. Docente da Disciplina de Eletrotermofototerapia e Supervisor de Estágio em Fisioterapia Ortopédica e Traumatológica da UNIOESTE.

Recebido em 20/6/05. Versão final recebida em 27/9/05. Aceito em 4/1/06.

Endereço para correspondência: Gladson Ricardo Flor Bertolini, Rua Luiz Vilwolk, 125, B, Nova Cidade – 85803-177 – Cascavel, PR. E-mail: gladson_ricardo@uol.com.br; gladson_ricardo@ibest.com.br

podem levá-las a uma fusão prematura, com conseqüente discrepância no comprimento dos membros ou um crescimento desigual em um lado do osso⁽¹⁶⁾.

Por ser um recurso eficaz em muitos casos na prática clínica, acredita-se na necessidade de estudos para um amadurecimento do uso ou não do ultra-som terapêutico em regiões de ossificação endocondral, visto que a literatura não é conclusiva com relação aos possíveis efeitos deletérios^(15,17,18).

O objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos do tratamento com ultra-som terapêutico contínuo sobre a epífise de crescimento da tibia de coelhas da raça Nova Zelândia durante a fase de desenvolvimento, através da análise histológica; e, após a fase inicial de crescimento, verificar se há alterações na tibia através de exame radiológico.

MÉTODOS

O presente trabalho caracteriza-se como um trabalho experimental com análise qualitativa e quantitativa. Foram utilizadas oito coelhas da raça Nova Zelândia com dois meses de idade. Os animais foram mantidos em gaiolas, sendo oferecidas ração padronizada e água potável *ad libitum*. Todas receberam a aplicação do ultra-som terapêutico na região lateral de epífise de crescimento da tibia direita; a pata posterior esquerda foi utilizada como controle.

O equipamento de ultra-som utilizado foi o modelo *Avatar II* da marca KLD, com cabeçote de 1MHz e área de radiação efetiva (ERA) de 4cm². O mesmo foi previamente calibrado. Os parâmetros utilizados foram: dose de 1,0W/cm² (média espacial e média temporal – SATA), durante 5min, de forma subaquática (imersão em água), em emissão contínua, utilizando como recipiente para a aplicação uma bacia plástica sem revestimento para absorver o ultra-som e água tratada como meio de condução. Os animais tiveram seus membros posteriores direitos tricotomizados no primeiro e sexto dia de terapia.

Os procedimentos ocorreram em 10 terapias, realizadas diariamente, com intervalo de dois dias após a 5ª terapia, simulando o atendimento realizado na prática fisioterapêutica com humanos. Os animais foram contidos manualmente durante a terapia.

Após 10 dias da última terapia, quatro animais foram sacrificados. Os membros posteriores foram desarticulados nos quadris e tornozelos, e o fêmur e a tibia, limpos das partes moles, mantendo-se apenas a união pelos ligamentos e cápsula articular do joelho, e mantidos em formol a 10%.

Para a confecção das lâminas, as tibias foram separadas dos fêmures e serradas transversalmente na região diafisária. Em seguida, o segmento proximal foi submetido ao processamento histológico. Inicialmente, a tibia foi fixada em uma solução ácida (ácido nítrico) para descalcificação. Em seguida, o tecido foi embebido em parafina, cortado longitudinalmente e corado pela hematoxilina-eosina. Procedeu-se à montagem de três lâminas histológicas por epífise de crescimento; após captura digital das imagens, verificou-se a altura das epífises, ou seja, a espessura das mesmas, e em cada lâmina foram feitas nove medidas nas regiões lateral, intermedial e medial; o programa utilizado para realizar as medidas foi o *Image-Pro-Plus 3.0.1*. E para análise estatística utilizou-se o teste *t* pareado do programa *Prism 2.01*.

Aos quatro meses de idade, os quatro animais restantes foram avaliados através de exames radiológicos; buscando observar alguma alteração epifisária e/ou discrepância significativa entre o comprimento do membro tratado e o controle. Para o exame radiológico foi utilizado o aparelho da marca Siemens, modelo *Tridoros 812E*. Os parâmetros utilizados foram: 150mA, t = 0,02s e kV 49, Emic Limex, e incidência ântero-posterior. A análise foi realizada por dois médicos radiologistas, membros do Colégio Brasileiro de Radiologia, ambos com 20 anos de experiência na área. Inicialmente foi realizada uma análise comparativa do membro inferior

direito e esquerdo. Essa foi realizada sem o conhecimento prévio, dos médicos radiologistas, de qual membro era o objeto de estudo. Posteriormente foram notificados sobre a metodologia e o objetivo do trabalho, sendo realizada uma nova análise.

RESULTADOS

Os valores obtidos na análise histológica mostraram que, no lado controle, o tamanho das epífises de crescimento foi em média de 393,359 ± 117,934µm e o lado tratado apresentou espessura de 489,354 ± 147,386µm, tendo variação significativa de mais 24,40% no lado tratado (p < 0,0001) (gráfico 1).

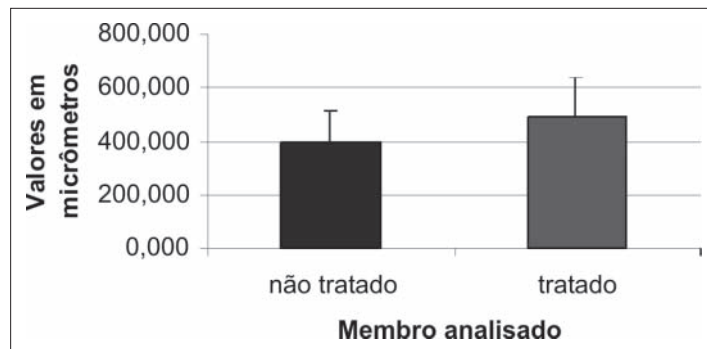


Gráfico 1 – Comparação entre os valores obtidos, na análise histológica, da espessura das epífises no lado não tratado e lado tratado

Na análise radiológica o laudo médico discriminou: tecidos moles com atenuação habitual dos raios X; trabeculado ósseo com distribuição e densidade homogênea, sem áreas de osteopenia visíveis pelo método; superfícies articulares lisas e regulares com espaços preservados; epífises de crescimento simétricas com forma e densidade habituais. Não houve evidência radiológica de áreas de desmineralização óssea. Após a explicação sobre os métodos do trabalho, houve nova avaliação dos radiologistas, os quais ficaram em dúvida sobre os espaços das epífises, porém atribuíram tais dúvidas a uma discreta assimetria de posicionamento.

DISCUSSÃO

O propósito deste estudo foi determinar se o ultra-som terapêutico pode causar alterações na placa de crescimento e alterações clinicamente detectáveis ao exame radiológico. Para Yang *et al.*⁽¹⁹⁾ e Gebauer *et al.*⁽²⁰⁾, o estímulo do ultra-som para a formação do calo ósseo é devido ao aumento na síntese de proteínas da matriz extracelular na cartilagem, alterando possivelmente a maturação de condrócitos e a formação de osso endocondral. Parvizi *et al.*⁽¹²⁾ atribuem a aceleração na consolidação de fraturas à estimulação na síntese de matriz celular proteoglicana. Reher *et al.*⁽⁵⁾ atribuem o estímulo de formação óssea à síntese de colágeno; mas Li *et al.*⁽¹¹⁾ atribuem a aceleração à síntese de prostaglandina E₂.

Zhang *et al.*⁽¹³⁾ aplicaram ultra-som pulsado de baixa intensidade por 20min, durante sete dias, em cultura óssea de esterno de embriões de galinha e concluíram que a aceleração na formação óssea ocorre pelo aumento na hipertrofia de condrócitos diretamente na diferenciação terminal, sem causar hipertrofia na cartilagem hialina. Contudo, Nolte *et al.*⁽¹⁷⁾, utilizando os mesmos parâmetros, mas em cultura de células de fetos de ratos, observaram aumento na calcificação endocondral após o 7º dia de aplicação e a análise histológica apresentou condições saudáveis, semelhantes às do controle. Atribuíram a ossificação ao efeito direto nos osteoblastos e calcificação da cartilagem.

Spadaro e Albanese⁽²¹⁾ estudaram o efeito do ultra-som de baixa intensidade em ossos longos de ratos em crescimento, durante quatro semanas, com aplicação diária de 20min. Os resultados mostraram que o ultra-som não interferiu no crescimento do fêmur e da tibia como também não propiciou aumento da densidade mineral óssea.

Wiltink *et al.*⁽¹⁵⁾, utilizando fragmentos metatarsais de fetos de camundongos, tratados com ultra-som 1MHz, pulsado 100Hz (2ms: 8ms), com 0,77W/cm² (média espacial e pico temporal – SATP) observaram aumento no comprimento da zona proliferativa da cartilagem de crescimento e ausência de alterações na região de cartilagem hipertrófica, concluindo que havia proliferação sem estimular a diferenciação celular.

Para a realização deste trabalho o coelho foi selecionado por apresentar um tamanho que facilitou o manuseio e posicionamento do cabeçote de ultra-som. A região proximal da tibia foi selecionada por ter localização cutânea, facilitando o posicionamento do transdutor; e a forma de aplicação do ultra-som foi subaquática devido à maior facilidade para manuseio do cabeçote na região do membro posterior do animal, além do fato de que a impedância acústica entre a água e o tecido mole é pequena, ocorrendo pouca reflexão⁽²²⁾.

No presente estudo pode-se observar ação deletéria do ultra-som, pois ocorreu ação deste sobre a placa epifisária, aumentando sua espessura, levando a indícios de aumento do metabolismo na placa com provável proliferação celular.

Esses dados concordam com os achados histológicos de Lyon *et al.*⁽⁴⁾, que utilizando ultra-som contínuo, 1MHz, 2,2W/cm², por 20min, em coelhas da raça Nova Zelândia, obtiveram um aumento significativo na espessura da cartilagem. Porém, na análise radiológica desses autores ocorreram alterações no contorno da metafise, linha da epífise indistinta e platô tibial em forma de cunha causando angulação em varo, fato este não apontado no presente estudo.

No presente trabalho os radiologistas não encontraram sinais radiológicos sugestivos ou característicos de possíveis alterações ósseas visíveis pelo método. Durante a reavaliação ficaram em dúvida sobre os espaços das epífises, que foi atribuída à discreta assimetria de posicionamento.

REFERÊNCIAS

1. Karnes JL, Burton HW. Continuous therapeutic ultrasound accelerates repair of contraction-induced skeletal muscle damage in rats. *Arch Phys Med Rehabil* 2002; 83:1-4.
2. Shomoto K, Takatori K, Morishita S, Nagino K, Yamamoto W, Shimohira T, et al. Effects of ultrasound therapy on calcificated tendonitis of the shoulder. *J Jpn Phys Ther Assoc* 2002;5:7-11.
3. Zeqiri B, Hodnett M. New method for measuring the effective radiating area of physiotherapy treatment heads. *Ultrasound Med Biol* 1998;24:761-70.
4. Lyon R, Liu XC, Meier J. The effects of therapeutic vs. high-intensity ultrasound on the rabbit growth plate. *J Orthop Res* 2003;21:865-71.
5. Reher P, Elbeshir ELI, Harvey W, Meghji S, Harris M. The stimulation of bone formation in vitro by therapeutic ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 1997;23:1251-8.
6. Crisci AR, Ferreira AL. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates the regeneration of the sciatic nerve after neurotomy in rats. *Ultrasound Med Biol* 2002;28: 1335-41.
7. Busse JW, Bhandari M, Kulkarni AV, Tunks E. The effect of low-intensity pulsed ultrasound therapy on time to fracture healing: a meta-analysis. *CMAJ* 2002;166: 437-41.
8. Warden SJ, Favaloro JM, Bennell KL, Mcmeeken JM, Ng KW, Zajac JD, et al. Low-intensity pulsed ultrasound stimulates a bone forming response in UMR-106 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;3:443-50.
9. Haar G. Therapeutic ultrasound. *Eur J Ultrasound* 1999;9:3-9.
10. Rodriguez O, Monreal R. Low-intensity pulsed ultrasound therapy for the acceleration of bone fracture repair. *Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica* 2000;650-655. Florianópolis, 2000.
11. Li JGR, Chang WHS, Lin JCA, Sun JS. Optimum intensities of ultrasound for PGE₂ secretion and growth of osteoblasts. *Ultrasound Med Biol* 2002;26:683-90.

Ao correlacionar com a prática clínica, os resultados apontam que o ultra-som terapêutico, aplicado com os presentes parâmetros, não deveria ser utilizado para tratamento em locais com epífise de crescimento aberta, pois o exame histológico revelou alterações significativas demonstrando estimulação das epífises e, apesar de os laudos apresentados na avaliação radiológica não terem apontado alterações visíveis, a continuidade desses exames com o animal adulto poderia apontar deformidades, fato negligenciado no presente estudo.

No presente estudo verificaram-se como restrições o pequeno número de animais utilizados para análise histológica e radiológica; além disso, não foram avaliadas outras formas de apresentação do ultra-som, ou seja, variações na densidade de potência da saída, na frequência base (1 ou 3Mhz) e na forma de entrega (contínuo ou pulsado).

CONCLUSÕES

Conclui-se que o ultra-som terapêutico de 1MHz, com dose em 1W/cm² SATA, quando utilizado na forma contínua, não produz alterações detectáveis pelo exame radiológico em coelhas aos quatro meses de idade, mas quando é feita uma análise histológica são verificadas alterações significativas na espessura da cartilagem no lado tratado, sugerindo uma aceleração no metabolismo da placa. Acredita-se que há necessidade de outros estudos para um maior conhecimento das respostas morfológicas e histológicas na placa epifisária e, considerando correlação entre estudos em animais com estudos em humanos, buscar dose segura para tratamento de pacientes pediátricos, assegurando inexistência de possíveis efeitos deletérios.

AGRADECIMENTOS

À Empresa Presmam – Comércio e Manutenção Ltda., pela calibração de equipamento de ultra-som terapêutico utilizado no presente estudo.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.
