



## 20º Congresso de Iniciação Científica

### EFEITOS DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO 1 MHZ NO MÚSCULO SADIO DE RATOS IDOSOS

#### Autor(es)

---

CÁSSIO PEDRO VIANA DE OLIVEIRA

#### Orientador(es)

---

ADRIANA PERTILLE

#### Apoio Financeiro

---

FAPIC/UNIMEP

#### 1. Introdução

---

Considerando o aumento da população acima de 60 anos e a diversidade de programas de atividade física voltados para o envelhecimento saudável, é notório o número de idosos que frequentam clínicas de fisioterapia, para tratamento de lesões ou dores musculoesqueléticas, decorrentes de atividade física excessiva ou mal orientada.

Dentre os recursos fisioterapêuticos mais utilizados, o ultrassom terapêutico (UST) é comumente aplicado nos distúrbios do sistema musculoesquelético, como na aceleração do reparo tecidual de lesões musculares (DYSON, 1987; WILKIN et al., 2004; MATHEUS et al., 2008). A possibilidade de usar diferentes frequências entre 1 e 3 MHz é importante na medida em que as frequências mais altas (3 MHz) são absorvidas intensamente, sendo indicada para tecidos superficiais, enquanto que as frequências mais baixas (1 MHz) penetram profundamente, devendo ser usadas para os tecidos profundos (DOCKER, 1987).

Autores sugerem que os efeitos benéficos do UST possam ser obtidos com baixas intensidades (0,5 W/cm<sup>2</sup>), tempos menores de aplicação (cinco e seis minutos) (CARVALHO et al., 2006; PIEDADE et al., 2008), ciclo de trabalho 1:5 (2ms on e 8ms off, 20%) (CARVALHO et al., 2006) e modo pulsado (DYSON, 1982).

Experimentos realizados com este recurso demonstram que a sua interação com os tecidos biológicos provoca alterações fisiológicas, que podem ser benéficas ou não (LOPES et al., 2005). Sabe-se que diante da escassez da literatura sobre os efeitos do UST em tecidos saudáveis, muitos profissionais fisioterapeutas acabam realizando aplicações infundadas de métodos e parâmetros (DE BEM et al., 2010). A grande parte dos estudos que avaliam a aplicação de recursos terapêuticos em lesões musculares é realizada em jovens ou adultos, principalmente os que utilizam animais. Entretanto, sabe-se que o prejuízo da função muscular é maior no idoso, afetando sensivelmente sua qualidade de vida (SILVA et al., 2006).

Diante da necessidade do fisioterapeuta estar provido de informações sobre a aplicabilidade e efetividade das modalidades terapêuticas que utiliza e a importância da investigação dos fatores que permitem uma boa qualidade de vida na velhice, este projeto propõe uma análise do efeito do UST no tecido muscular sadio de animais idosos.

#### 2. Objetivos

---

Avaliar os efeitos da aplicação do UST no músculo sadio de ratos jovens e idosos.

### 3. Desenvolvimento

---

Foram utilizados 30 ratos da linhagem Wistar, adquiridos no Biotério Central da UNIMEP e mantidos no Biotério da Faculdade de Ciências da Saúde (FACIS-UNIMEP), sob condições ideais de bioterismo. Os animais foram divididos em: Jovens (J)- formado por animais com 2 meses (n=15); Idosos (I) - formado por animais com 18 meses (n=15), e esses divididos em: Sham (JS e IS), ultrassom pulsado (JP e IP), ultrassom contínuo (JC e IC), para o grupo controle (JCT e ICT) foi utilizada a pata contralateral dos animais. Este projeto faz parte de outro trabalho desenvolvido pelo grupo intitulado “Avaliação da regeneração muscular em animais idosos após tratamento com ultrassom e laser de baixa intensidade”, aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar protocolo nº 012/2010.

Todos os animais foram submetidos ao procedimento de aplicação do UST na região do músculo tríceps sural, na pata posterior direita. O equipamento utilizado foi Sonacel IBRAMED®, frequência de 1 MHz, cabeçote com área efetiva de radiação (ERA) de 1 cm<sup>2</sup>, intensidade 1,0 W/cm<sup>2</sup> contínuo ou pulsado (20%).

Cada sessão teve duração de 5 minutos, utilizando como meio de contato gel hidrossolúvel. As aplicações foram realizadas de segunda a sexta-feira (5 vezes por semana, por 2 semanas), no período matutino, totalizando 10 sessões.

No 11º dia após o início das aplicações, os animais foram anestesiados, eutanasiados através da perfusão cardíaca de 60 mL de solução tampão, seguida da retirada dos músculos gastrocnêmio (fibras brancas) e sóleo de ambas as patas. Os músculos foram pesados e fixados em suportes de madeira com tragacanth gum, imersos em isopentano à -80°C por 40 segundos e imediatamente colocados em nitrogênio líquido à -159°C e mantidos em Biofreezer à -70°C. As amostras foram encaminhadas ao departamento de Anatomia do Instituto de Biologia da UNICAMP, onde o grupo de pesquisa mantém parceria para utilização do criostato. Para obtenção dos cortes, os músculos foram descongelados por aproximadamente 30 minutos até atingirem a temperatura de -23°C, seccionados transversalmente utilizando criostato (Microm-HS505E) e corados com Hematoxilina e Eosina (HE) ou Tricrômico de Massom (TM).

As lâminas foram observadas ao microscópio óptico com câmera acoplada, com objetiva de 20X e conectado a um computador com software Image Pro-Plus® 6.2 (Media Cybernetics).

Nos cortes corados com HE foram analisadas as áreas de secção transversa de 150 fibras musculares de cada animal, e nas lâminas coradas com TM foram analisadas 15 imagens aleatórias por animal. A quantidade de tecido conjuntivo foi quantificada com o auxílio de uma grade com 192 intersecções. Para o cálculo da porcentagem de fibrose no músculo foi considerado o número de intersecções localizadas sob o tecido conjuntivo com relação ao número total de intersecções da grade.

Para a análise estatística utilizou-se o teste Shapiro-Wilk para verificar a distribuição dos dados. Constatada a normalidade, utilizou-se o teste ANOVA seguido do teste Tukey para as comparações entre os grupos. Os dados são apresentados em valor médio e desvio padrão. O processamento dos dados foi realizado pelo software BioEstat®, versão 5.0. Adotou-se um nível de significância de 5%.

### 4. Resultado e Discussão

---

O peso corporal dos animais idosos foi em média 125% maior que dos animais jovens. Quando analisada a proporção do peso do músculo em relação ao peso corporal, nota-se redução na massa muscular dos animais idosos, caracterizando o processo de sarcopenia. Entretanto, apenas no músculo sóleo dos grupos S, P e C essa diferença foi significativa (Figura 1).

Não foi encontrada área de inflamação/regeneração muscular durante a análise histológica dos grupos estudados, assim como não foram encontrados núcleos centralizados, que caracterizam fibras em processo de regeneração.

Na tabela 1 nota-se o aumento da área de secção transversa (AST) nos animais idosos, quando comparado aos respectivos grupos nos animais jovens ( $p < 0,05$ ). A aplicação do UST não alterou a AST do músculo sóleo. No músculo gastrocnêmio observou-se diferença estatística entre os grupos JS e JP quando comparados ao JCT, entretanto eles não diferem do JC.

A quantidade de tecido conjuntivo nos animais idosos foi significativamente ( $p < 0,001$ ) maior em todos os grupos estudados quando comparados aos jovens, o que indica o aumento da fibrose nesses animais. No músculo gastrocnêmio do grupo IC, que sofreu aplicação do UST modo contínuo, observou-se maior quantidade de tecido conjuntivo, entretanto esse aumento não foi significativo. No músculo sóleo, a fibrose no grupo IP foi maior ( $p < 0,05$ ) quando comparado ao grupo IC, entretanto eles são iguais aos demais grupos de animais idosos (Figura 2).

Os resultados não evidenciam efeitos do UST 1 MHz com intensidade de 1 W/cm<sup>2</sup> no tecido muscular sadio de animais idosos, pois não foram observadas diferenças significativas na área de secção transversa ou na quantidade de fibrose dos músculos gastrocnêmio (fibras brancas) e sóleo, como também não ficou evidenciada a presença de áreas de inflamação ou fibras em processo de regeneração.

O envelhecimento leva à redução do número e do volume das fibras musculares, em especial das fibras brancas (tipo II) que apresentam o metabolismo glicolítico (MINAMOTO, 2005). Neste estudo observou-se uma tendência do músculo gastrocnêmio branco na redução da massa muscular, entretanto, apenas os grupos IS, IP e IC do músculo sóleo mostraram redução significativa.

A aplicação do UST de 1 MHz no músculo vasto lateral sadio de coelhos adultos foi analisada por Lopes et al. (2005). Os animais receberam 10 aplicações consecutivas do UST na pata direita, com intensidade máxima de 3 W/cm<sup>2</sup>, sendo um grupo na modalidade

pulsado e outro na modalidade contínuo. O músculo vasto lateral esquerdo foi utilizado como controle. Os resultados não mostraram diferença entre a área média das células musculares nos dois grupos quando comparado aos respectivos controles.

Nesse estudo comparamos a aplicação do UST de 1 MHz com intensidade de 1 W/cm<sup>2</sup> nos modos pulsado e contínuo em animais de diferentes idades. Observou-se que nos animais jovens a área de secção transversa foi similar no músculo sóleo e no músculo gastrocnêmio branco os grupos sham e UST pulsado apresentaram a área maior que o controle, mas não diferiram do grupo UST contínuo. Os dados não podem sugerir um efeito da aplicação do UST, pois no grupo sham o equipamento permaneceu desligado. Nos animais idosos não foi observada diferença na área de secção transversa dos grupos analisados, evidenciando que o UST não interferiu no metabolismo das células musculares saudáveis.

De Bem et al. (2010) avaliaram as possíveis alterações histológicas e morfológicas do tecido sadio (pele) de ratos Wistar adultos irradiados com diferentes intensidades de UST. Os resultados revelaram aumento na espessura da epiderme, que ocorreu provavelmente pelo estímulo na mitose celular, além de aumento das fibras colágenas localizadas na derme. A maior parte das alterações ocorreu nos grupos irradiados com intensidades mais elevadas.

No presente estudo evidenciou-se o aumento da fibrose nos músculos de animais idosos em decorrência do processo natural de envelhecimento. No músculo gastrocnêmio notou-se aumento da fibrose nos grupos que receberam a aplicação do UST, entretanto, tal resultado não foi significativo. Já no músculo sóleo, o grupo que recebeu a aplicação do UST pulsado mostrou aumento na fibrose, quando comparado ao grupo contínuo, entretanto, esses grupos não diferem no controle.

## 5. Considerações Finais

---

A aplicação do UST de 1 MHz, 1 W/cm<sup>2</sup> no modo pulsado ou contínuo não mostrou alteração na área de secção transversa, sinais de inflamação ou aumento do tecido conjuntivo (fibrose) nos músculos gastrocnêmio fibras brancas e sóleo de animais jovens e idosos. Entretanto, destaca-se que o músculo do animal idoso apresenta alterações morfológicas, como a redução da massa muscular e o aumento do tecido conjuntivo, que devem ser consideradas pelo profissional fisioterapeuta na escolha dos parâmetros do UST.

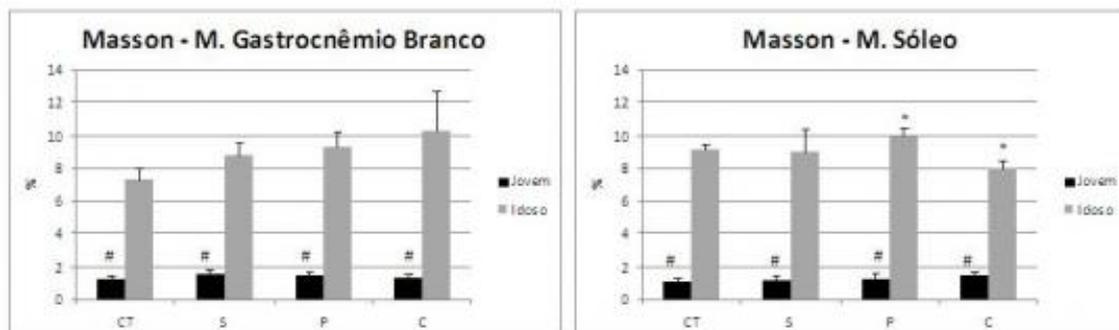
## Referências Bibliográficas

---

- CARVALHO, P.D.E.T.; SILVA, I.S.; REIS, F.A.; BELCHIOR, A.C.; AYDOS, R.D.; FACCO, G.G.; DOURADO, D.M. Histological study of tendon healing in malnourished Wistar rats treated with ultrasound therapy. *Acta Cir Bras.* v.4, p.13-7, 2006.
- DE BEM, D.M.; MACIEL, C.D.; ZUANON, J.A.; NETO, C.B.; PARIZOTTO, N.A. Análise histológica em tecido epithelial sadio de ratos Wistar (in vivo) irradiados com diferentes intensidades do ultrassom. *Rev. Bras. Fisioter.* v.14, n.2, p.114-20, 2010.
- DOCKER, M.F. A review of instrumentation available for therapeutic ultrasound. *Physiotherapy.* v.73, n.4, p.154-5, 1987.
- DYSON, M. Non-thermal cellular effects of ultrasound. *Br J Cancer Suppl.* v.5, p.165-71, 1982.
- DYSON M. Mechanisms involved in therapeutic ultrasound. *Physiotherapy.* v.73, n.3, p.116-20, 1987.
- LOPES, L.G.; BERTOLINI, S.M.M.G.; MARTINS, E.E.R.; GEWEHR, P.M.; LOPES, M.S. Análise morfológica de tecido muscular de coelhos submetidos a ultra-som pulsado e contínuo de 1 MHz I. *Fisioterapia e Pesquisa.* v.12, n.3, p.5-21, 2005.
- MATHEUS, J.P.C.; OLIVEIRA, F.B.; GOMIDE, L.B.; MILANI, J.G.P.O.; VOLPON, J.B.; SHIMANO, A.C. Efeitos do ultra-som terapêutico nas propriedades mecânicas do músculo esquelético após contusão. *Rev. Brás. Fisiot.* v.12, n.3, p.241-7, 2008.
- MINAMOTO, V.B. Classificação e adaptações das fibras musculares: uma revisão. *Fisioterapia e Pesquisa.* v.12, n.3, p.50-5, 2005.
- PIEDEDE, M.C.; GALHARDO, M.S.; BATTLEHNER, C.N.; FERREIRA, M.A.; CALDINI, E.G.; DE TOLEDO, O.M. Effect of ultrasound therapy on the repair of gastrocnemius muscle injury in rats. *Ultrasonics.* v.48, n.5, p.403-11, 2008.
- SILVA, T. A. A.; et al. Sarcopenia associada ao envelhecimento: aspectos etiológicos e opções terapêuticas. *Rev. Bras. Reumatol.* v.46, n.6, p.391-397, 2006.
- WILKIN, L.D.; MERRICK, M.A.; KIRBY, T.E.; DEVOR, S.T. Influence of therapeutic ultrasound on skeletal muscle regeneration following blunt contusion. *Int J Sports Med.* v.25, n.1, p.73-7, 2004.

## Anexos

---

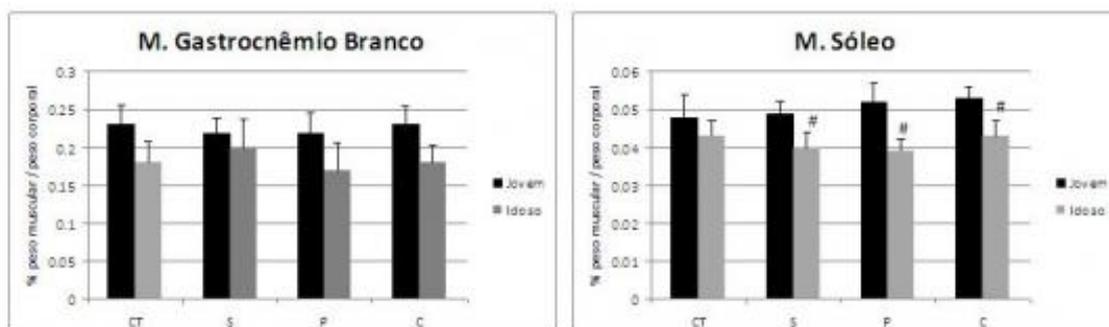


**Figura 2:** Porcentagem de fibrose nos animais jovens e idosos. CT: controle; S: Sham; P: UST pulsado; C: UST contínuo. # difere do idoso; \* diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 1:** Média e desvio padrão da AST dos músculos gastrocnêmio (fibras brancas) e sóleo de animais jovens e idosos. JCT: controle jovem; JS: Sham jovem; JP: UST pulsado no animal jovem; JC: UST contínuo no animal jovem; ICT: controle idoso; IS: Sham idoso; IP: UST pulsado no animal idoso; IC: UST contínuo no animal idoso.

Grupo	Gastrocnêmio ( $\mu\text{m}$ ) (Fibras Brancas)	Sóleo ( $\mu\text{m}$ )
JCT	1.892 $\pm$ 179	1.816 $\pm$ 34
JS	2.167 $\pm$ 97 <sup>a</sup>	1.829 $\pm$ 49
JP	2.185 $\pm$ 126 <sup>a</sup>	1.840 $\pm$ 45
JC	1.969 $\pm$ 197	1.803 $\pm$ 47
ICT	3.632 $\pm$ 578 <sup>b</sup>	2.917 $\pm$ 324 <sup>b</sup>
IS	3.534 $\pm$ 132 <sup>b</sup>	2.785 $\pm$ 87 <sup>b</sup>
IP	3.181 $\pm$ 447 <sup>b</sup>	2.817 $\pm$ 79 <sup>b</sup>
IC	3.158 $\pm$ 367 <sup>b</sup>	2.815 $\pm$ 51 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> difere do CT jovem; <sup>b</sup> difere do respectivo grupo no animal jovem ( $p < 0,05$ )



**Figura 1:** Porcentagem do peso muscular proporcional ao peso corporal dos animais jovens e idosos. CT: controle; S: Sham; P: UST pulsado; C: UST contínuo. # difere do jovem  $p < 0,05$ .