

Artigo original**Efeitos in vivo das ondas sônicas de baixa frequência no processo cicatricial*****In vivo effects of low frequency sonic waves in soft tissue repair process***

Patrícia Froes Meyer, D.Sc.*, Ana Cristina Gomes Lustosa**, Jeane Macedo de Morais**, Maria Goretti Freire de Carvalho, D.Sc.*, Juliana Lima Cavalcante**, Oscar Ariel Ronzio, D.Sc.***

.....
*Docente da Universidade Potiguar, **Universidade Potiguar, Natal RGN, ***Docente, Universidad Maimonides, Buenos Aires

Resumo

A fisioterapia tem um importante papel no processo de cicatrização, tanto na aceleração como também para melhorar a qualidade. O objetivo desta pesquisa é de analisar em animais os efeitos da utilização de ondas sônicas de baixa frequência no processo cicatricial. Foram utilizados 12 ratos de pesagem entre 250 e 300 g, todos do sexo feminino e linhagem wistar do tipo *rattus norvegicus* albino. Os animais foram divididos em quatro grupos de três animais: grupo controle, o grupo I que recebeu 3 aplicações, o grupo II que recebeu 7 aplicações e o grupo III que recebeu dez aplicações de 5 minutos de ondas sônicas de 3333,33 Hz. Os resultados foram obtidos através da análise morfológica descritiva analisando-se cortes histológicos, examinados em microscópio óptico e avaliando-se a presença ou ausência de inflamação aguda e crônica, epitelização, tecido de granulação, cicatrização, crosta, fechamento da ferida e necrose. Os dados obtidos mostram que os grupos submetidos ao tratamento obtiveram uma maior rapidez na finalização do processo cicatricial e uma melhor qualidade da cicatrização em relação ao grupo controle. Entretanto devem-se realizar estudos complementares para se obter maiores conhecimentos acerca dos efeitos terapêuticos das ondas sônicas de baixa frequência no processo de cicatrização.

Palavras-chave: som, cicatrização de feridas, fisioterapia.

Abstract

Physical therapy has an important role in soft tissue repair process, for improving its quality and velocity. The purpose of this work was to analyze the effects of sonic wave's application in soft tissue repair process in animals. Twelve albino female wistar *rattus norvegicus*, 250-300 g, were used. The animals were divided into 4 groups (n = 3). One was considered Control Group. The Group I received 3 treatments, the Group II 7 and the Group III 10 sessions of sonic waves at 3333,33 Hz during 5 minutes. The results were obtained by a morphologic analysis of histological samples with an optic microscope. The presence or not of chronic and acute inflammation, epithelium formation, granulation tissue, repaired soft tissue, crust, wound closure, and necrosis were analyzed. The obtained data show that the treatments groups reach faster soft tissue reparation and a better quality in relation with the control group. More researches are necessary to corroborate the sonic wave's low frequency effects on repair process.

Key-words: sound, wound healing, physical therapy.

Recebido em 10 de março de 2010; aceito em 17 de junho de 2010.

Endereço para correspondência: Patrícia Froes Meyer, Avenida Governador Silvío Pedrosa, 200/1301, 59014-100 Natal RN, Email: patricia.

patricia.froes@gmail.com

Introdução

A fisioterapia tem um importante papel no processo de cicatrização, lançando de recursos terapêuticos que podem acelerar o processo cicatricial, prevenindo e diminuindo as aderências. O uso do ultrassom no processo de cicatrização é muito difundido dentro desta área. Este equipamento está formado por um gerador de corrente em alta frequência, conectado a uma cerâmica piezoelétrica, produzindo uma onda mecânica não audível de 0,8 a 3 MHz [1,2]. Suas ondas são capazes de produzir efeitos terapêuticos térmicos e não térmicos [3]. Sua ação térmica é indicada para patologias de partes moles (contraturas musculares, tendinites, bursites, calcificações, miosite ossificante, espasmos musculares, dores musculoesqueléticas e neuralgias pós-herpética). A ação não térmica está relacionada ao tratamento de feridas, cicatrização, pós-cirúrgico de tendões, consolidação de fraturas ósseas e reinervação de lesões nervosas [4], mas, de acordo com os trabalhos de Backer, Robertson & Duck [5], as evidências em relação aos efeitos biofísicos do ultrassom em dores e lesões de partes moles ainda são insuficientemente comprovadas, pois grande parte das pesquisas é *in vitro* e alguns destes efeitos não ocorrem *in vivo*.

Outro tipo de agente físico recentemente incorporado à fisioterapia são as ondas de som audível, pouco utilizadas no Brasil, pois não existem equipamentos fabricados aqui e ainda é necessário conhecer mais a respeito de seus mecanismos de ação para poder aproveitar suas qualidades terapêuticas. Um equipamento pode produzir uma onda sonora de 46 até 3333,33 Hz. Estas vibrações sonoras podem ser moduladas ou não com ciclos *on-off*. O emissor do equipamento necessita de gel como substância de acoplamento. A onda sonora é captada pelos aminoácidos e proteínas que fazem oscilar estes elementos, mobilizando-os do meio intersticial para o linfático, facilitando sua absorção [6].

De acordo com Reed [7], seguindo os princípios da biorressonância, moléculas formadas por aminoácidos e proteínas da linfa movimentam-se por meios harmônicos criados pelo sistema de ondas que começam a oscilar até desagregarem. Em todo processo de cicatrização, as proteínas têm uma importante contribuição para a síntese de colágeno, remodelagem da ferida e resposta imunológica [8].

Portanto, este trabalho busca investigar se o uso das ondas sônicas de baixa frequência em uma incisão cirúrgica irá acelerar o processo cicatricial, analisando o tempo de resposta da cicatriz com a aplicação do equipamento. A ideia de se utilizar ondas sônicas audíveis no processo cicatricial baseou-se na literatura que afirma que estas ondas produzem efeito piezolétrico que faz vibrar as estruturas cristalinas, induzindo microcorrentes que favorecem a orientação das moléculas permitindo melhorar o metabolismo e refazendo o que foi destruído pelos radicais livres, normalizando o pH para acelerar o processo cicatricial [7].

De acordo com Capponi e Ronzio [6], o equipamento de ondas sônicas audíveis poderia facilitar o trabalho dos profissionais, pois melhoraria o desconforto ao paciente e maior rapidez na cura, que provavelmente promoverá uma melhor qualidade da cicatriz.

Material e métodos

Esta pesquisa é do tipo experimental verdadeira, qualitativa que utilizou 12 ratos de pesagem entre 250 e 300 g, todos do sexo feminino e linhagem wistar do tipo *rattus norvegicus* albino, cultivados no Biotério-Departamento de Biologia da Universidade Potiguar.

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos e em cada animal foi realizada uma incisão cirúrgica sem sutura. O Grupo I (n = 3) recebeu ondas sônicas diariamente em três dias consecutivos, o Grupo II (n = 3) recebeu tratamento em sete dias consecutivos e o Grupo III (n = 3) em dez dias consecutivos. O Grupo Controle (n = 3) não foi submetido à terapia de ondas sônicas (Tabela I).

Os ratos foram mantidos em gaiolas apropriadas (forradas com maravalha trocadas diariamente), receberam alimentação balanceada e água à vontade. O ambiente foi mantido em temperatura média de 28°C, com controle de luz.

Para o tratamento foi utilizado um aparelho de ondas sônicas de baixa frequência Biorressonância® (protótipo cedido pelo Laboratório de Agentes Físicos da Universidade Maimonides, Buenos Aires, Argentina) com seus parâmetros mensurados através de osciloscópio marca Velleman modelo Digital PC Scope PCS 8031 de 12 MHz. As fotos foram tiradas com

Tabela I - Distribuição dos animais.

Grupo	Procedimentos	N Total	Período de sacrificio / N		
			3 dias	7 dias	10 dias
Controle	GC I	3	N = 1		
	GCII			N = 1	
	GC III				N = 1
Grupo I	Incisão + 3 dias de terapia	3	N = 3		
Grupo II	Incisão + 7 dias de terapia	3		N = 3	
Grupo III	Incisão + 10 dias de terapia	3			N = 3

uma câmara fotográfica digital Sony 7.2 megapixels de uso particular e a análise foi feita com um microscópio óptico Olympus.

Para a realização da incisão cirúrgica, no dorso dos ratos, foi feita a sedação com Zoletil 50 por via intramuscular, no quadríceps esquerdo, sendo a dosagem calculada de acordo com o peso do animal (50,0-75,0 mg/kg). Aguardou-se 10 minutos e realizou-se a tricotomia e assepsia do dorso com a clorexidina a 2%. Após 48 horas nove ratos foram submetidos à terapia durante 5 minutos em 3333,33Hz. Os animais foram acomodados em um dispositivo acrílico para contenção, em seguida dois transdutores foram posicionados em cada lado da cicatriz acoplados com gel.

Após o sacrifício em câmara de CO₂ foi coletado, mediante bisturi, um fragmento da pele do dorso da área correspondente à cicatriz que, foram colocados em frascos apropriados e devidamente identificados, contendo 20 ml de solução de formol a 10% e fixadas durante 24 horas. As amostras foram encaminhadas ao laboratório de patologia para processamento histológico de rotina. Foram emblocados em parafina, cortados em micrótomo rotativo com quatro micrômetros de espessura e corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina (HE). Depois da obtenção das lâminas foram escolhidos aleatoriamente três campos a fim de focar todos os eventos regenerativos (como: inflamação aguda, inflamação crônica, epitelização, tecido de granulação, cicatriz, crosta, ferida aberta e necrose) que pudessem fornecer subsídios para comparação entre os resultados obtidos de cada grupo teste e controle e para obtenção de imagens que pudessem diferenciar os grupos submetidos a tratamento distintos. Estes eventos regenerativos foram quantificados e qualificados através de uma estimativa pelo avaliador cego, patologista que definiu o número médio de estruturas para lâminas.

Resultados

Análise histológica

Foi feita uma análise morfológica descritiva analisando cortes histológicos e avaliando a presença ou ausência de necrose, inflamação aguda ou crônica, crosta, tecido de granulação, cicatrização, integridade da regeneração epidérmica, deste modo foram obtidos os seguintes resultados.

O Grupo I e o Grupo Controle sacrificados com três dias evidenciaram ausência de cicatriz, presença de tecido de granulação e inflamação crônica. No Grupo I a inflamação aguda, epitelização completa e a presença de crosta e necrose foram evidenciadas, porém, isso não ocorreu no grupo controle. Foi observado também que o Grupo I obteve um caso de ferida cirúrgica fechada, enquanto no grupo controle a ferida cirúrgica ainda permanecia aberta (Tabela II).

No grupo II e no Grupo Controle evidenciou-se presença de tecido de granulação discreto, cicatriz e epitelização, bem como ausência de inflamação aguda, ferida cirúrgica aberta, crostas e necrose. Entretanto no grupo controle foi observada presença de inflamação crônica com granulação e epitelização (Tabela III).

O grupo III e o Grupo Controle não apresentaram inflamação aguda, tecido de granulação, crosta, ferida aberta e necrose, apenas apresentaram epitelização e cicatriz. No grupo submetido à terapia, dois casos foram negativos para inflamação crônica, já o grupo controle apresentou-se positivo para o tecido de granulação e para inflamação crônica (Tabela IV).

Discussão

A cicatrização constitui um fenômeno químico, físico e biológico que ocorre após lesão de qualquer natureza, possuidora de várias fases que se superpõem e se relacionam reciprocamente, constituindo um processo harmônico, único

Tabela II - Dados obtidos na análise da pele de ratos no Grupo I e o Grupo Controle I sacrificados com três dias.

Dados Grupo	Indiv.	Inflam. Aguda	Inflam. Crônica	Epitelização	Tecido de granulação	Cicatriz	Crosta	Ferida aberta	Necrose
G I	1	+ m	+ m	Marg +/-	+	-	+	+	+
	2	-	+	+ t	+	-	-	-	-
	3	+	+	-	+	-	+	+	+
GC I	1	-	+	-	+	-	-	+	-

Referências: + = Positivo; - = Negativo; m: Marg.; t = .????

Tabela III - Dados obtidos na análise da pele de ratos no Grupo I e o Grupo Controle I sacrificados com sete dias.

Dados Grupo	Indiv.	Inflam. Aguda	Inflam. Crônica	Epitelização	Tecido de granulação	Cicatriz	Crosta	Ferida aberta	Necrose
G II	1	-	-	+ c	+ d	+ (>)	-	-	-
	2	-	-	+ c	+ d	+	-	-	-
	3	-	-	+	+	+	-	-	-
GC II	1	-	+ c/ gran	-	+ d	+	-	-	-

Referências: + = Positivo; - = Negativo; c/gran = Presença de tecido de granulação; + c = ; + d = .????

Tabela IV - Dados obtidos na análise da pele de ratos no Grupo I e o Grupo Controle I sacrificados com dez dias.

Grupo	Dados Individ.	Inflam. Aguda	Inflam. Crônica	Epitelização	Tecido de granulação	Cicatriz	Crosta	Ferida aberta	Necrose
G III	1	-	-	+	-	+	-	-	-
	2	-	+ c/ gran	+	-	+	-	-	-
	3	-	-	+	-	+	-	-	-
GC III	1	-	D + c/ gran	+	-	+	-	-	-

Referencias: + = Positivo; - = Negativo; + c/gran = Presença de tecido de granulação; D = ????

e contínuo. Das fases da cicatrização, destaca-se a de fibroplasia, notada 48 horas após a execução da lesão e caracterizada pela invasão de fibroblastos que se multiplicam, proliferam e passaram a secretar as proteínas características do tecido em reparação [9].

Foi visto através dos resultados das lâminas que o grupo submetido à terapia, com três aplicações, mostrou resultados significativos comparado ao grupo controle. A presença de crosta se sobressaiu no Grupo 1, além de apresentar necrose em dois animais. Na necrose, de acordo com Flemming & Cullum [10], o tecido destruído é fagocitado e logo depois surgem os fenômenos de cicatrização ou de regeneração, tudo depende da extensão da lesão e do órgão acometido. O processo inflamatório, portanto, é um fenômeno essencialmente dinâmico, razão pela qual seu aspecto morfológico se modifica com o tempo.

De acordo com Cotran *et al.* [11], o processo de reparação inicia-se logo no início da inflamação. Os fibroblastos e as células endoteliais começam a proliferar para formar (em três a cinco dias) o tipo de tecido especializado (tecido de granulação) característico da cicatrização. Sem a inflamação, as infecções não seriam sustentadas e as feridas jamais cicatrizariam.

Já no Grupo I tratado, o estímulo das ondas sônicas pode ter sido facilitador do preenchimento rápido por sangue coagulado que contém hemácias e fibrina (proteína filamentar). A desidratação do coágulo de superfície, quando a lesão é na pele ou em uma mucosa, forma crosta de fibrina na sua superfície, que nada mais é do que fibrina dissecada recobrimdo o fundo da úlcera. Comparando a pele lesada dos achados percebe-se a presença de crosta no grupo tratado, facilitada pela aproximação das bordas da cicatriz estimulada pela presença do tecido cicatricial.

O Grupo II tratado com sete aplicações também se sobressaiu ao grupo controle em relação ao processo inflamatório crônico que em todos os casos tratados já estava finalizado. Segundo Borges [12] a fase de cicatrização é caracterizada por diminuição de capilares, remodelação do colágeno, contração da cicatriz e finalização do processo inflamatório.

Conclusão

Os dados obtidos na análise histológica mostram que os grupos submetidos ao tratamento com ondas sônicas de baixa frequência obtiveram uma maior rapidez no processo

cicatricial e uma melhor qualidade da cicatrização em relação ao grupo controle, demonstrando resultados positivos na utilização de ondas sônicas de baixa frequência. A importância destes achados está na descoberta de mais uma opção de tratamento dentro da fisioterapia dermato-funcional.

Entretanto deve-se ter o conhecimento das características do aparelho utilizado, a dosimetria correta e o número de aplicações mais efetivas para o tipo de ferida e espécie, necessitando, portanto da realização de estudos complementares.

Agradecimentos

A Universidade Potiguar e ao Prof. Dr. Romano Capponi pela ajuda no desenvolvimento do equipamento.

Referências

- Williams AR. Production and transmission of ultrasound. *Physiotherapy* 1987;3:113-16.
- Borrego PD, Torrico JMF. Ultrasonido: actualización en patologías musculoesqueléticas. *Rehabilitación* 2002;36(5):303-8.
- Johns LD. Non thermal effects of therapeutic ultrasound: the frequency resonance hypothesis. *J Athl Train* 2002;37(3):293-99.
- Brown SL, Hill RP, Heinzl L, Hunt JW. Radiofrequency capacitive heaters: the effect of coupling medium resistivity on power absorption along a mouse leg. *Phys Med Biol* 1993;38:1-12.
- Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *Phys Ther* 2001;81(7):1351-8.
- Capponi R, Ronzio O. Avances en fisioterapia: agentes físicos [CD ROM]. Buenos Aires: Universidad Maimonides; 2006.
- Reed BV. Effects of high voltage pulsed electrical stimulation on microvascular permeability to plasma proteins. *Phys Ther* 1988;68:491-5.
- Oberinger M, Baum HP, Jung V, Welter C, Frank J, Kuhlmann M *et al.* Differential expression of heat shock protein 70 in well healing and chronic human wound tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;3(214):1009-14.
- Tognini JRF, Goldenberg S, Simões MJ, Sauer L, Melo RL, Ortiz PLA. Efeito do diclofenaco de sódio na cicatrização da parede abdominal de ratos. *Acta Cir Bras* 1998;(3)13:52-9.
- Flemming K, Cullum N. Therapeutic ultrasound for venous leg ulcers. *Cochrane Database Syst Rev* 2000(23): CD001180.
- Cotran RS, Kumar V, Stanley RL. *Patologia estrutural e funcional*. 5ª ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 1996.
- Borges FS. *Modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas*. São Paulo: Phorte; 2006.