

Efeitos de ondas ultrassônicas e ácidos graxos essenciais na cicatrização de músculo gastrocnêmio de ratos wistar

(Ultrasonic effects and essential fatty acids in the healing of the gastrocnemius muscle of rats)

OLSSON, Débora Cristina^{2*}; AMARAL, Andressa Dias do¹; TIBOLA, Rafael Teis¹; LOCATELLI, Gabriela Maria¹, VIEIRA, Francieli Jaqueline¹; ROSSI, Kaue¹; ALBRING, Caren Lis¹; MARCHEZAN, Manoela Piva¹; STEDILLE, Fernanda¹; MOREIRA Marina Prazeres¹; ALBRETCH, Rafael¹; MENDES, Ricardo Evandro²

1 Discente Curso de Medicina Veterinária – IFC-Concórdia, SC.

2 Professor Adjunto do Instituto Federal Catarinense-Concórdia – IFC

*Autor para correspondência: debora.olsson@ifc.br

Artigo enviado em: 21/07/2017, aceito para publicação em 22/08/2017

DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/revcivet.v5i1.38312>

RESUMO

Para avaliar a cicatrização de feridas do músculo gastrocnêmio de ratos submetidos à lesão iatrogênica, utilizou-se a terapia com ultra-som terapêutico (UST) e fonoforese no modo pulsado com óleo cicatrizante composto por ácidos graxos essenciais (AGE). Foram utilizadas 64 ratas, separadas em quatro grupos experimentais com 16 animais por grupo. A cicatrização do músculo gastrocnêmio foi avaliada por esteriometria, sendo considerada a proporção volumétrica dos constituintes tissulares e celulares de amostras obtidos por biópsia às 24, 48, 96 e 144 horas de pós-operatório. Vinte e quatro horas após a intervenção cirúrgica iniciou-se a aplicação de UST, fonoforese, e AGE nos grupos distintos sobre a ferida. Os resultados obtidos com a aplicação de UST no modo pulsado e em função fonoforese às 144 horas mostraram menor proporção volumétrica de células polimorfonucleares (PMN) e o grupo que recebeu fonoforese apresentou maior proporção de fibroblastos. Esses resultados sugerem que a modalidade fonoforese auxilia na cicatrização de feridas musculares. Na prática clínica, os ácidos graxos essenciais influenciam o processo de cicatrização positivamente, assim, há necessidade de realização de pesquisas com maior rigor metodológico comparando as fórmulas disponíveis contendo ácidos graxos e sua influência no processo cicatricial em diversos tipos de tecidos.

Palavras-chave: cicatrização, fonoforese, lesão iatrogênica, triglicerídeos.

ABSTRACT

In order to evaluate the healing of wounds of the gastrocnemius muscle of rats submitted to injury, therapeutic ultrasound therapy and pulsed mode phonophoresis with healing oil composed of essential fatty acids were used. Sixty-four female rats were used, separated in 4 experimental groups with 16 animals in each group. Healing was evaluated by stereometry, considering the volumetric proportion of the material in cellular and tissue samples, obtained from the gastrocnemio wall biopsies at 24, 48, 96 and 144hours after surgery. Ultrasound, phonophoresis, and oil application on the surgical site was made 24hours after the intervention. Results obtained with the application of ultrasound in the pulsed and in the phonophoresis function at 144hours showed a larger volumetric proporcion of polymorphonuclear cells and the group that received phonophoresis had a larger proportion of fibroblasts. These results show that the phonophoresis application assists in the healing of muscular wounds. Therefore, it is necessary to conduct studies of higher methodological rigor, comparing the different formulas available with fatty acids and their effects on the healing process.

Key-words: healing, phonophoresis, iatrogenic injury, triglycerides.

INTRODUÇÃO

O músculo é um tecido biológico portador de plasticidade, com alto grau de remodelamento frente a diversos estímulos, com funções relacionadas à possibilidade de movimento e locomoção (ABREU *et al.*, 2013). Dentre os músculos esqueléticos, o músculo gastrocnêmio auxilia na manutenção da postura e realização dos movimentos, com capacidade de desenvolver uma grande tensão em curto espaço de tempo (MORET *et al.*, 2013). Lesões nesses músculos são frequentes e ocorrem por uma variedade de mecanismos, como lacerações e contusões, por forças diretas e indiretas, muitas vezes exercida pela tensão do próprio músculo (ZAMMIT *et al.*, 2006).

O mecanismo de cicatrização muscular ocorre logo após uma lesão e/ou inflamação, visando restaurar o equilíbrio e a integridade

funcional do tecido. A regeneração acontece em três fases distintas (TOUMI e BEST, 2006), a primeira imediatamente após a lesão até aproximadamente três a cinco dias e compreende os processos inflamatórios, necrose de células musculares danificadas e fagocitose do tecido traumatizado (WORRELL *et al.*, 1994). A segunda fase ocorre alguns dias após a injúria muscular, sendo caracterizada pela cicatrização tecidual e proliferação de células satélites (WANNER *et al.*, 2017). Na terceira, há formação de fibrose e remodelamento do tecido muscular e sua cicatrização que acontecem por volta do décimo dia (ZAMMIT *et al.*, 2006).

Quando se trata de lesão muscular, quanto maior a duração do processo inflamatório, menor será a possibilidade de cicatrização (ABREU *et al.*, 2013), por isso buscam-se recursos terapêuticos que diminuam a ação inflamatória, acelerem a velocidade de cicatrização e melhorem a qualidade da

cicatrização. Dentre as terapias adjuvantes o ultra-som terapêutico (UST) é uma modalidade de tratamento físico amplamente utilizado na fisioterapia humana e veterinária para tratar lesões em diversos tecidos (KORSTJENS *et al.*, 2004; OLSSON *et al.*, 2006). O recurso utiliza vibrações mecânicas que produzem efeitos fisiológicos benéficos, dentre eles a efeitos térmicos e não térmicos emitindo ondas contínuas e pulsadas, respectivamente (LOW e REED, 2001). As ondas ultrassônicas estimulam a cicatrização e o alívio da dor pelo aumento do fluxo sanguíneo e a permeabilidade das membranas que ativam a formação de fibroblastos e colágeno, e conseqüentemente reduz o estresse celular proporcionando um ambiente livre de toxinas, diminuindo a inflamação (BENJABOONYANUPAP *et al.*, 2015).

A combinação de UST associado com aplicação tópica de fármacos institui a modalidade terapêutica chamada fonoforese. Esse método facilita a penetração dos princípios ativos de medicamentos tópicos aos tecidos principalmente músculos e articulações (KORSTJENS *et al.*, 2004), além de prevenir efeitos colaterais, pois o fármaco é absorvido no local a ser tratado evitando biotransformação hepática (PELIZZARI, 2011).

Outra possibilidade de tratamento adjuvante para cicatrização dérmica é a utilização de produtos tópicos à base de ácidos graxos essenciais (AGE) que em sua ação formam uma barreira protetora sobre a ferida e atuam nos fatores inibidores da inflamação, ou seja, atuando como antagonistas endógenos dos leucotrienos, uma vez que inibem a adesão leucocitária no endotélio vascular e, conseqüentemente, a migração dessas células ao

sítio inflamatório (SILVA e SILVA, 2013). Esses produtos estimulam a capacidade cicatricial por possuírem aptidão de modificar a reação inflamatória e imunológica acelerando o processo de granulação tecidual (PEREIRA e BACHION, 2005).

Desta forma, este estudo teve por objetivo investigar o uso de terapias adjuvantes não invasivas para tratamento de ferida iatrogênica através de ondas ultrassônicas e óleo a base de AGE, no processo de cicatrização muscular.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se 64 ratos Wistar, machos, com 120 dias de idade e peso corporal de $0,3\text{kg}\pm 0,35\text{kg}$, mantidos em biotério climatizado, alimentados com ração balanceada e água *ad libidum*. Os animais foram separados em quatro grupos experimentais, de forma randomizada, com 16 animais: Grupo lesão controle, sem tratamento (GLC); Grupo lesão e tratamento com UST pulsado (GLU); Grupo lesão tratada com óleo à base de ácidos graxos essenciais-AGE (GLO) e Grupo lesão tratada com fonoforese (GLUO).

Para a indução da ferida cirúrgica os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (75mg/kg) e diazepam (5mg/kg) via intraperitoneal, mantidos em anestésico inalatório Isoflurano em máscara com fluxo de oxigênio a 100% ao efeito. O membro pélvico direito de cada animal foi tricotomizado e após antissepsia com álcool-iodo-álcool a pele foi seccionada expondo o músculo gastrocnêmio. A incisão cirúrgica foi realizada com bisturi e lâmina 15 e o músculo demarcado com uma régua vazada estéril para efetuar um corte

padronizado em 3mm de largura com 3mm de profundidade. A síntese muscular dérmica foi realizada com fio poliglactina 910, 4-0 em sutura padrão simples contínua. No pós-operatório imediato utilizou-se cloridrato de tramadol (2mg/kg) em dose única.

Para todos os grupos, os protocolos de tratamento realizados por um único cirurgião, iniciaram no pós-operatório imediato e foram repetidos a cada 12 horas, por 5 minutos, durante seis dias consecutivos. Para o tratamento das lesões com UST, modalidade pulsada, utilizou-se o aparelho com transdutor de 1Megahertz (MHz), (ERA 3,5 cm²), intensidade 1 (Watts por centímetro quadrado) Wcm² e como carreador foi usado gel acoplante composto por polímero carboxivinílico, neutralizante, conservante e água purificada. O transdutor foi movimentado em círculos em um ângulo de 90° perpendicular a lesão.

Para o tratamento dos animais do grupo controle (GLC), foi aplicado topicamente na ferida, gel hidrossolúvel acoplante em movimentos circulares com transdutor ultrassônico sem sonificação. No grupo GLU os animais receberam gel acoplante hidrossolúvel e tratamento com UST pulsado com sonificação. Nos animais do grupo GLO foi aplicado óleo comercial com AGE (Dersani®) composto por triglicerídeos, ácidos cáprico e caprílico, óleo de girassol clarificado, lecitina, palmitato de retinol, acetato de tocoferol e alfa-tocoferol, aplicado diretamente na ferida, agindo por cinco minutos. No grupo fonoforese (GLUO) o óleo foi aplicado topicamente na ferida, seguido de movimentos circulares do transdutor do UST pulsado com sonificação.

Para análise morfométrica a colheita de material foi realizada por biópsia muscular da

região tratada de acordo com os grupos, realizada às 24h, 48h, 96h e 144 horas após a intervenção cirúrgica. Aleatoriamente foram escolhidos quatro animais por grupo em cada tempo, submetidos ao mesmo protocolo anestésico usado para indução cirúrgica, que foi aprofundada até o óbito dos animais. Os fragmentos foram analisados: por histomorfometria, avaliando os constituintes celulares e tissulares: polimorfonucleares (PMN), mononucleares (MN), fibroblastos e angiogênese.

As amostras dos fragmentos do músculo gastrocnêmio, de cada animal, foram fixados em formalina tamponada a 10%, pH 7,2 e processadas segundo as técnicas rotineiras. Os cortes histológicos foram realizados com espessura de 5µ, com cortes distanciados entre si no mínimo a cada 50µ. De cada espécime colhido, foram confeccionadas seis lâminas histológicas, sendo três coradas em Hematoxilina-Eosina e três em tricômico de Masson. As lâminas foram examinadas ao microscópio óptico nos aumentos de 100X, 200X e 400X (PROPHET *et al.*, 1994).

Para determinar a média da proporção volumétrica de cada constituinte tissular, foram analisados 15 campos em cada uma das três lâminas, que construíram os dados numéricos para a formação da média por espécime, totalizando 45 campos microscópicos. Os cortes histológicos foram avaliados por esteriometria para determinar em cada tratamento dentro do tempo, a proporção volumétrica de PMN, MN, fibroblastos e de angiogênese. A esteriometria foi realizada com objetiva de 40 vezes e ocular de 10 vezes dotada de retículo ocular com 400 pontos, equidistantes.

Na análise estatística foram mensuradas variáveis quantitativas de dos constituintes celulares e tissulares. Foi comprovada a normalidade dos valores mediante a prova de Shapiro e Wilk. Os dados que não seguiram a anormalidade aplicaram-se a prova não paramétrica H de Kruskal-Wallis, e, para os que seguiram a anormalidade aplicou-se diretamente a análise de variância simples ($P \leq 0,05$).

COMITÊ DE ÉTICA EXPERIMENTAL

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal (CEUA) do Instituto Federal Catarinense - Campus Concórdia, seguindo os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) com protocolo número 23/2014.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O mecanismo de regeneração muscular apresenta uma sequência de eventos que se inicia pela degeneração da fibra lesada, observada entre 6 horas e 24 horas pós-lesão, ativação de células-satélite com intensa inflamação entre 24 e 48 horas, também observada neste estudo, representada pela presença de PMN e MN, além da intensificação de fibroblastos entre as primeiras 24 e 36 horas depois de instalada uma lesão (OLSSON *et. al.*, 2006; FREITAS, 2006). O fibroblasto estimula a produção de colágeno,

regula o crescimento da fibra muscular e das células-satélites, que se diferenciam em mioblastos e sequencialmente produzem as proteínas musculares específicas para finalizar o processo de reparação, sendo que no terceiro dia, nos grupos tratados em relação ao controle verificou-se intensa proporção volumétrica de fibroblastos. Todo esse mecanismo é dependente de uma nova angiogênese, que fica aumentada no 3º até o 12º dia pós-lesão (DIONÍSIO e VOLPON, 1999),

Neste trabalho a análise histológica relacionou os efeitos cicatrizantes e terapêuticos das ondas ultrassônicas, comparando o modo fonoforese com óleo cicatrizante a base de AGE (Dersani®) na estimulação de alterações biológicas durante o processo de regeneração muscular. A quantidade de proporção volumétrica de PMN e MN comparadas entre todos os grupos de tratamento apresentaram-se maior no grupo controle (GLC) nas primeiras 24 horas (Fig. 1) diminuindo sensivelmente nos grupos tratados com ultra-som (GLU), AGE (GLO) e fonoforese (GLUO), entretanto, a diminuição mais importante foi observada para as MN a partir das 24 horas e para PMN, a partir das 48h, sendo mais significativa essa diminuição às 144 horas ($p \leq 0,05$) (Fig.1). Em todos os tratamentos foi observada uma intensidade inflamatória até as primeiras 24 horas, não sofrendo influência significativa entre os grupos ($p \leq 0,05$).

Efeitos de ondas ultrassônicas e ácidos graxos essenciais na cicatrização de músculo gastrocnêmio de ratos wistar

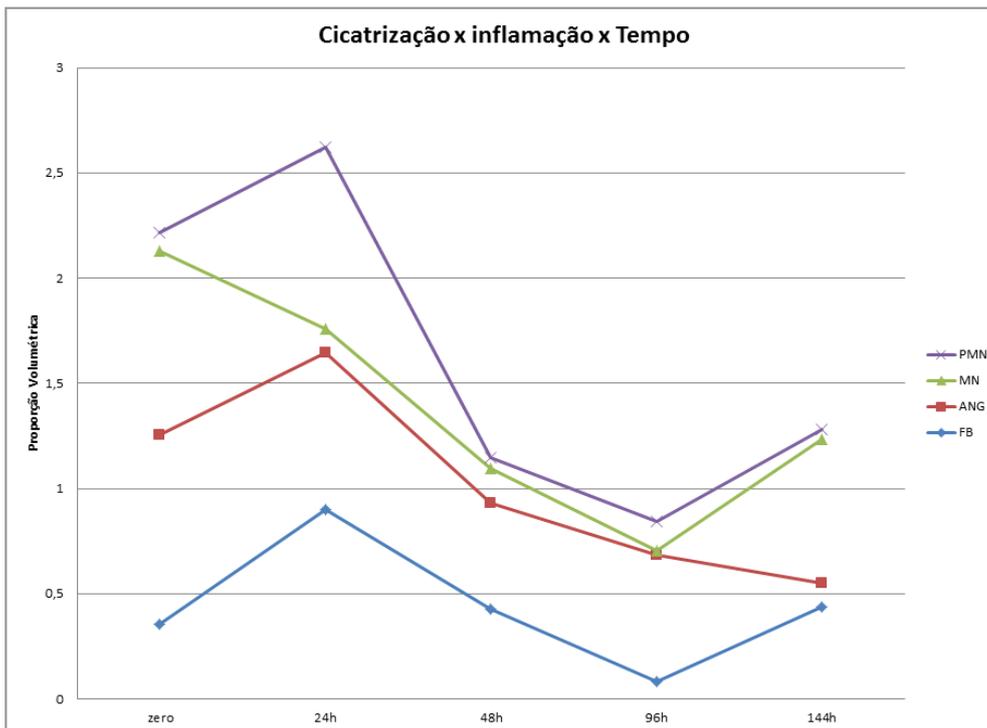
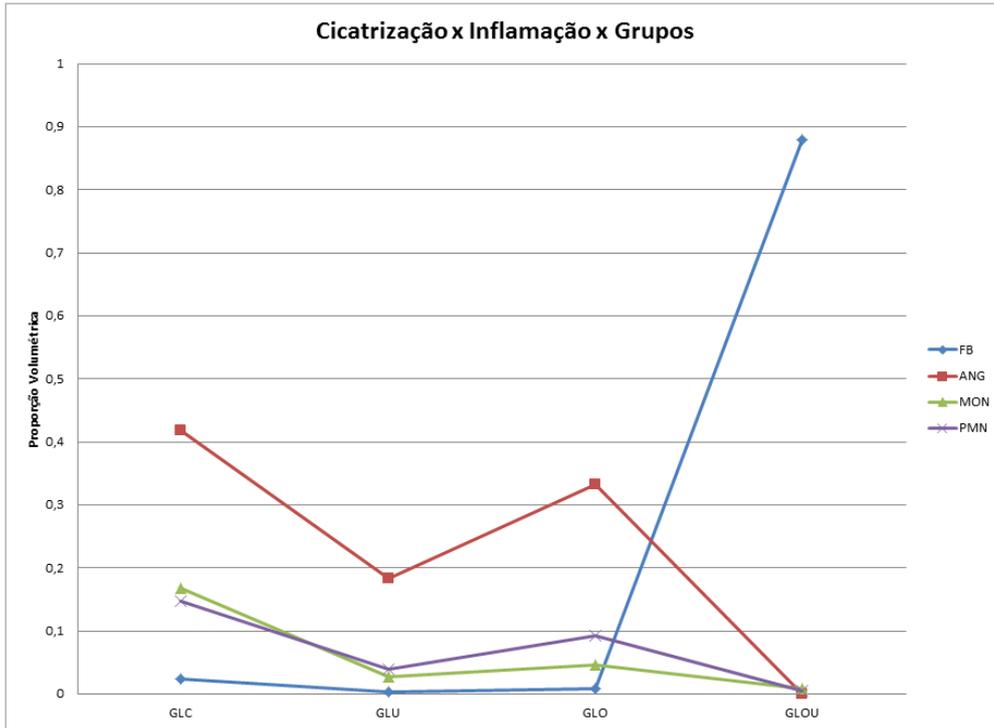


Fig.1. Proporção volumétrica de células polimorfonucleares (PMN); células mononucleares (MN); angiogênese (ANG); fibroblastos (FB), nos tratamentos GLC, GLU, GLO e GLUO, nos tempos zero, 24, 48, 96 e 144 horas.

Nos grupos que receberam sonificação por ondas ultrassônicas (GLU) e fonoforese (GLUO), a menor quantidade de PMN foi observada as 96 horas e 144 horas (Fig.1). A partir das 48 horas ocorreu uma diminuição gradativa na proporção volumétrica comparada ao grupo controle (GLC) e ao grupo que recebeu somente óleo a base de ácidos graxos essenciais (GLO). No GLO a diminuição de PMN foi observada principalmente quando comparada ao grupo controle, mas não teve tanto destaque como nos outros dois tratamentos GLU e GLUO. Segundo Rantanen *et al.* (1999), cerca de 6 horas após uma injúria, a margem da ferida já contém fagócitos e por volta das 24 horas, há um predomínio de PMN, diminuindo nas 48 horas seguintes (Fig.1), o que está de acordo com os resultados verificados no presente experimento para os tratamentos estimulados por ondas ultrassônicas com ou sem fonoforese. Estes resultados mostram que a aplicação do UST no modo pulsado com ou sem função fonoforese estimula precocemente a quimiotaxia para PMN e consequentemente diminuiu o tempo do processo inflamatório.

O tratamento com UST acelera o processo inflamatório sendo assim, um facilitador anti-inflamatório (OLSSON *et al.*, 2006). Este fator foi constatado neste estudo durante a regeneração muscular devido o estímulo acelerado na formação de miofibrilos e proliferação de fibroblastos (GROUNDS, 1991). A irradiação ultrassônica foi iniciada 24 horas após a produção da lesão iatrogênica, período que consiste, ainda, na fase aguda da reparação tecidual. Durante o mecanismo fisiológico agudo de reparação, o UST apresenta função protetora por meio da neutralização das substâncias químicas irritativas liberadas durante o

mecanismo cicatricial como as espécies reativas do oxigênio (ERO), e pelo estímulo precursor da cicatrização e recuperação subsequente (FREITAS *et al.*, 2006).

Os AGE são capazes de modificar as reações inflamatórias e imunológicas alterando as funções leucocitárias por meio da atração e aceleração do processo cicatricial (MAGALHÃES *et al.*, 2008). Neste estudo o grupo em que se utilizou somente AGE (GLO) apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação ao grupo controle (GLC) referente a diminuição de células inflamatórias PMN e MN, entretanto, essa diferença quando comparada com os outros tratamentos não mostrou resultados equivalentes ($p \geq 0,05$) a uma resposta anti-inflamatória observada até as 144 horas (Fig.2C). Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Cavazana *et al.* (2009) que ao comparar os efeitos dos AGE com açúcar em feridas tratadas por segunda intenção não observaram efeitos positivos à diminuição da reação inflamatória durante o pós-operatório.

O grupo fonoforese (GLUO) apresentou uma diminuição na proporção volumétrica de PMN e MN na fase aguda (Fig. 2A), dessa forma, considerou-se que o estímulo mecânico proporcionado pelas ondas ultrassônicas ativou as vias de transdução de sinais envolvidos na cicatrização alterando a atividade de neutrófilos e macrófagos na fase inflamatória acelerando o mecanismo (OLSSON *et al.*, 2006; PELLIZARI *et al.*, 2012). O efeito positivo da fonoforese pode ser explicado pela intensidade e frequência de ondas potencializadas pela ação do fármaco que estimularam o metabolismo celular beneficiando o efeito anti-inflamatório do referido grupo experimental. Estes resultados são confirmados por Olsson *et al.* (2006) e Tassinari *et al.* (2011),

que concluem a redução do tempo de reação inflamatória quando aplicado o UST e seus benefícios no modo pulsado em modalidade fonoforese da atividade das ondas biomecânicas.

Na verificação da proporção volumétrica de fibroblastos, entre os tratamentos; comparativamente com o grupo controle (GLC) observa-se maior quantidade ($p \leq 0,05$) nos grupos tratados com óleo a base de ácidos graxos (GLO) e grupo tratado somente com ondas ultrassônicas pulsadas (GLU), com maior destaque o grupo GLU a partir das 96 horas ($p \leq 0,05$) (Fig.1 e Fig.2B). O tratamento com ondas ultrassônicas pulsadas interferiu positivamente no processo de reparo quanto à presença de fibroblastos e na rápida remodelagem da ferida cirúrgica. Corroborando com a publicação de Romo e McLaughlin (2003), os fibroblastos começam a migrar para as margens da ferida em torno das 48 horas quando aumenta em número, tornando-se ativados, com início da síntese dos componentes da matriz extracelular, relação verificada nos resultados desta pesquisa.

Os produtos à base de AGE para tratamento de feridas tendem a aumentar a resposta imune acelerando o processo inflamatório consequentemente estimulando o processo de cicatrização por meio da angiogênese e da regeneração (MANHEZI *et al.*,

2008), no entanto, nesse estudo não foi observado aceleração do processo inflamatório somente pelo uso de ácidos graxos essenciais, contrariando Moch *et al.* (1990), que estudaram os efeitos de AGE e concluíram ser um poderoso mediador pró-inflamatório, causando grade acúmulo de PMN e macrófagos, assim como severas mudanças histológicas durante a formação do tecido de granulação.

A intensidade de 1Wcm^2 , frequência de 1MHz e tempo de cinco minutos na ação pulsada aplicados com intervalos de 12 horas, nestes tratamentos, produziram efeitos tissulares positivos na produção de fibroblastos, da neoangiogênese e na diminuição do tempo inflamatório, não sendo observados danos celulares, quando comparados ao grupo controle (GLC) (Fig. 2D). Segundo BYL *et al.* (1993) e Fernandes *et al.* (2003), dependendo da intensidade, tempo e frequência das aplicações pode haver danos teciduais, retardando a cicatrização. Resultados positivos sobre a cicatrização de feridas produzidas em suínos também foram verificados por BYL *et al.* (1993), ao utilizarem a frequência de 1MHz, intensidade de 0,5W por três dias. Os autores observam aumento significativo na força de contração e taxa de cicatrização do grupo tratado e não verificaram danos celulares.

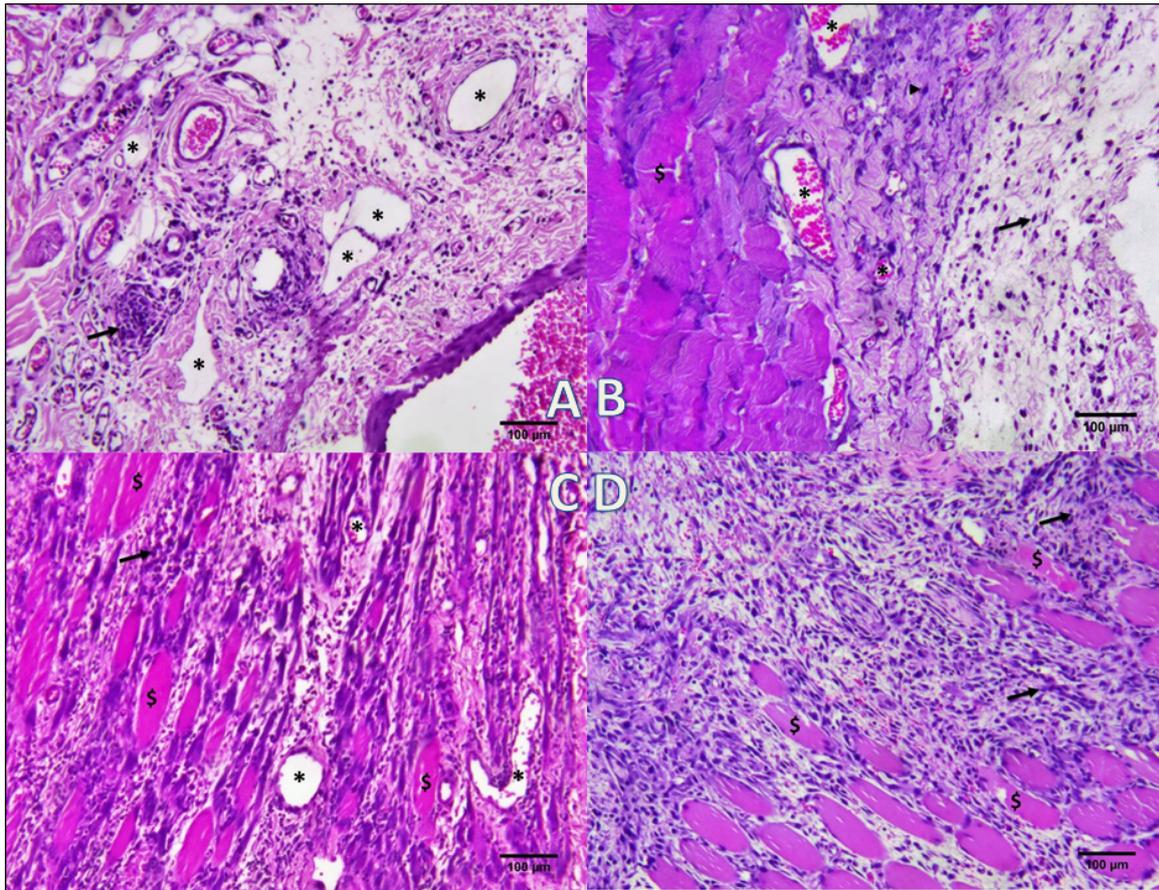


Fig. 2. Fotomicrografia de pele de rato. A) Grupo GLUO: Moderado infiltrado inflamatório de neutrófilos, linfócitos e macrófagos multifocal (seta) associado a moderada neovascularização (*) e fibroplasia moderada difusa. B) Grupo GLU: Fotomicrografia de pele de rato. Discreto infiltrado inflamatório de neutrófilos, linfócitos e macrófagos superficial (seta) associado a moderada neovascularização (*) e fibroplasia moderada focalmente extensa (cabeça da seta). Fragmentação de fibras musculares multifocais (\$). C) Grupo GLO: Fragmentação, degeneração e eosinofilia de fibras muscular severa difusa (\$) associado a intenso infiltrado inflamatório de predominantemente de neutrófilos entremendo as fibras musculares (seta) e pequena quantidade de vasos sanguíneos (*). D) Grupo GLC Intenso infiltrado inflamatório de neutrófilos, linfócitos e macrófagos entremendo as fibras muscular (seta) e discreta fibroplasia. Fragmentação e degeneração de fibras musculares multifocais (\$). Hematoxilina e Eosina (H&E), Obj. 10X.

Analisando todos os grupos em relação ao controle, a proporção volumétrica da angiogênese foi significativa no grupo GLUO, mas comparando aos tempos relacionados, não se apresentou expressiva até às 48 horas, aumentando sua proporção a partir das 96 horas (Fig.1), mas sem apresentar formação precoce de novos vasos sanguíneos ($p \leq 0,05$). Esse resultado

poderia estar relacionado com a precocidade da resolução do processo cicatricial, uma vez que a resposta inflamatória teve menor tempo de duração nesse mesmo tratamento. Esses achados estão de acordo com o estudo desenvolvido por Shweiki *et al.* (1992), ao verificarem que, na privação de oxigênio, as células liberam fatores angiogênicos e ocorre a formação de novos

capilares, porém com a diminuição do processo inflamatório, esses capilares regridem ou desaparecem.

A angiogênese é essencial para o processo de reparação por garantir um abundante suporte de O₂ para a área lesada e a remoção do CO₂ e outros metabólitos (OLSSON *et al.*, 2006). A presença de oxigênio também é fundamental para a hidroxilação dos aminoácidos lisina e prolina e para a formação do colágeno e sua maturação (SHWEIKI *et al.*, 1992). Verificou-se os grupos GLC, GLU, GLO e GLUO, a intensidade da angiogênese foi semelhante nos tempos 48, 96 e 144 horas, com um aumento significativo em relação ao tempo zero (Fig.1). De acordo com Mandelbaum *et al.* (2003), os AGE promovem a angiogênese no entanto, neste experimento não foi observada estímulo neovascular significativo nos grupos que receberam ou não tratamento com ácidos graxos essenciais.

Estes resultados diferem daqueles observados por Koecke (2003), ao trabalhar com reparo de tendões, e Fernandes *et al.* (2003), ao estudarem os efeitos de UST na regeneração muscular, os quais concluíram que, na avaliação histológica, a angiogênese foi pronunciada, provavelmente essa observação se deva à dosimetria, às estruturas anatômicas e ao tempo de irradiação, uma vez que pequenas variações na frequência, potência, tempo e forma de aplicação podem gerar resultados diferentes (BYL *et al.*, 1993; FERNANDES *et al.*, 2003).

A rápida capacidade cicatricial neste trabalho foi verificada pela expressiva ativação da fibroplasia, que está presente na fase de proliferação celular, e que é extremamente importante na formação do tecido de granulação, incluindo fibroblastos, células inflamatórias e

componentes neovasculares (OLSSON *et al.*, 2006). Estas características foram verificadas de forma precoce e significativa no presente experimento, quando da aplicação de UST pulsado (GLU) e no grupo que recebeu AGE isoladamente (GLO), entretanto, quando na modalidade fonoforese essa diferença não foi observada.

De acordo com BYL *et al.* (1993), o aumento da fibroplasia com a aplicação de UST pulsado na frequência de 1MHz, intensidade 1,5W cm², evidencia aumento nos níveis de fibroblastos, hidroxiprolina e colágeno, quando utilizados uma intensidade menor. A proporção volumétrica de fibroblastos foi similar nos três tratamentos GLC, GLO e GLU a partir das 48 horas até as 144 horas, sendo que no tratamento GLU e GLO as proporções de fibroblastos foram mais significativas ($p \leq 0,05$) quando comparado aos outros grupos (Fig.1). O grupo GLUO apesar de apresentar aumento na produção de fibroblastos, essa proporção não foi tão expressiva comparativamente ($p \geq 0,05$) e apresentou-se inferior ao grupo GLC.

O uso da fonoforese pode ser indicado somente como meio adjuvante anti-inflamatório, resultados esses confirmados nesta pesquisa, corroborando com Olsson *et al.* (2006) e Pelizzari (2011) que concluíram que em feridas cirúrgicas a aplicação do UST em modo pulsado, reduz o tempo da reação inflamatória e acelera o tempo da cicatrização, favorecendo precocemente a regeneração de tecidos. Embora fosse esperado que a maior proporção volumétrica de fibroblastos estivesse associada ao grupo fonoforese, devem-se levar em consideração as observações de Rodland *et al.* (1990) ao verificarem que a ativação de fibroblastos se faz por diversos fatores, incluindo

o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), que expõe receptores para outros fatores de crescimento por estímulo vascular, o que não foi observado de forma significativa nos grupos tratados por não expressarem aumento significativo na produção da neoangiogênese.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nas condições em que foram realizados os experimentos permitem concluir que em feridas cirúrgicas produzidas no músculo gastrocnêmio, a aplicação do ultra-som no modo pulsado e na modalidade fonoforese, com doses na frequência de 1MHz e intensidade de 1Wcm² reduz o tempo da reação inflamatória e acelera a cicatrização, favorecendo precocemente a reparação tecidual, sendo seus efeitos superiores a aplicação tópica de óleo a base de ácidos graxos essenciais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, V.G.C.; CORREA, G.M.; SILVA, T.M.; FONTOURA, H. S. ; CARA, D.C. ; PILÓ-VELOSO, D.; ALCÂNTARA, A. F.C. Anti-inflammatory effects in muscle injury by transdermal application of gel with *Lychnophora pinaster* aerial parts using phonophoresis in rats. **BioMedCentral Complementary & Alternative Medicine**, v.13, n.270, p. 2-8, 2013.
- MANHEZI, A. C.; BACHION, M. M., PEREIRA, A. L. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n.5, p. 620-629, 2008.
- BENJABOONYANUPAP, D.; PAUNGMALI; PIRUNSAN, U. Effect of Therapeutic sequence of hot pack and ultrasound on physiological response over trigger point of upper trapezius. **Asian Journal of Sports Medicine**, v.6, n.3, p.57-61, 2015.
- BYL, N.N.; Mc K.A.; WONG, T. Incisional wound healing: a controled study of low and high dose ultrasound. **Journal Orthopaedic and Sports Physical Therapy**, v.18, n.5, p.619-628, 1993.
- DIONÍSIO, V.C.; VOLPON, J. B. Ação do ultra-som terapêutico sobre a vascularização pós-lesão muscular experimental em coelhos. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 4, n. 1, p. 19-25, 1999.
- FERNANDES, M.A.L.; ALVES, G.E.S.; SOUZA, J.C.A. Efeito do ultra-som terapêutico em tendinite experimental de equinos: estudo clínico, ultrassonográfico e histopatológico de dois protocolos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.1, p.27-34, 2003.
- FREITAS, L.S.; FREITAS, T.P.; SILVEIRA, P.C.; ROCHA, L.G.; PINHO, R.A.; STRECK, E.L. Effect of therapeutic pulsed ultrasound on parameters of oxidative stress in skeletal muscle after injury. **International Federation for Cell Biology**, v.31, n.5, p.482-488, 2006.
- GROUND, M. D. Towards understanding skeletal muscle regeneration. **Pathology-Research and Practice**, v.187, p. 1-22, 1991.
- KOEKE, P.U. **Estudo comparativo da eficácia da fonoforese, do ultra-som terapêutico e da aplicação tópica de hidrocortisona no tratamento do tendão de rato em processo de reparo tecidual**. 2003. 164f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Escola de Engenharia de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- KORSTJENS, C.M.; NOLTE, P.A.; BURGER, E.H.; ALBERS, G.H.; SEMEINS,

- C.M.; AARTMAN, I.H.; GOEI, S.W.; KLEIN-NULEND, J. Stimulation of bone cell differentiation by low-intensity ultrasound: a histomorphometric in vitro study. **Journal of Orthopaedic Science**, v.22, n.3, p.495-500, 2004.
- LOW, J.; REED, A. **Eletroterapia explicada-princípios e prática**. São Paulo: Elsevier Brasil, 2009. ed. 4, p. 120–175.
- MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte II. *Anais Brasileiro de Dermatologia*, v.78, n.5, p.525-42,2003.
- MOCH, D.; SCHEWE, T.; KÜHN, H.; SCHMIDT, D.; BUNTROCK, P. The linoleic acid metabolite 9Ds-hydroxy-10,12(E,Z)-octadecadienoic acid is a strong proinflammatory mediator in an experimental wound healing model of the rat. **Biomedica Biochimica Acta**, v.49, n.4, p.201-07, 1990.
- MORET, D. G.; CASTOLDI, R. C.; ARAÚJO, R. G.; SPAGNOL, A. R.; PAPOTI, M.; CAMARGO FILHO, J. C. S.; MALHEIRO, O. C. M. Morphological analysis of muscle of rats submitted to a protocol of concurrent training. **Revista Brasileira Ciência Esporte**, v. 35, n. 3, p. 587-597, 2013.
- OLSSON, D.C.; MARTINS, V.M.V.; MARTINS, E.; MAZZANTI, A. Estimulação ultra-sônica pulsada e contínua no processo cicatricial de ratos submetidos à celiotomia. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p.865-872, 2006.
- PELIZZARI, C. **Fonoforese e eletroestimulação neuromuscular em cães: uma contribuição para a fisioterapia veterinária**. 2011. 54f. Tese (Doutorado em medicina veterinária) Curso de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.
- PEREIRA, A. L.; BACHION, M. M. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61 n.5, p 620-629, 2008.
- PROPHET, E. B.; MILLS, B. **Laboratory methods in histotechnology**. Washington: American Registry of Pathology. 1994, p. 278.
- RANTANEN, J.; THORSSON, O.; WOLLMER, P.; HURME, T.; KALIMO, H. Effects of therapeutic ultrasound on the regeneration of skeletal myofibres after experimental muscle injury. **American Journal of Sports and Medicine**, v.27, n.1, p.54-59, 1999.
- RODLAND, K.D.; MULDOON, L.L.; MAGUN, B.E. Cellular mechanisms of TGF-β action. **Journal Investigation Dermatology**, v.94, p.27-33, 1990.
- SILVA, E.R.; SILVA, F.E. Efeitos tópicos dos Ácidos Graxos Essenciais (AGE) – Ômega 3 E 6 aplicados em feridas abertas: uma revisão bibliográfica. 2013. 37f. Conclusão de Curso (Bacharel em Enfermagem) Curso de Enfermagem da Faculdade Integradas-Brasília.
- SHWEIKI, D., SHWEIKI, D.; ITIN, A.; SOFFER, D.; KESHET, E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia – initiated angiogenesis. **Nature**, n.359, p.843-845, 1992.
- TASSINARY, J.A.; BIANCHETTI, P.; REMPEL, C. Avaliação dos efeitos do ultrassom terapêutico sobre a cafeína e verificação da liberação em sistema de difusão vertical. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p.1539-1543, 2011.
- TOUMI H; BEST TM. The inflammatory response: friend or enemy for muscle injury? **British Journal Sport Medicine**, p. 284-286. 2006.

Efeitos de ondas ultrassônicas e ácidos graxos essenciais na cicatrização de músculo gastrocnêmio de ratos wistar

WANNER, R.; GEY, M.; ABAEI, A.; WARNECKE, D.; DE ROY, L.; DÜRSELEN, L.; RASCHE, V.; KNÖLL, B. Functional and Molecular Characterization of a Novel Traumatic Peripheral Nerve-Muscle Injury Model. **Neuromolecular Medicine**, p.1-18, 2017.

WORRELL, T.W.; SMITH, T.L.; WINEGARDNER, J. Effect of hamstring

stretching on hamstring muscle performance. **Journal Orthopaedic Sports Physical Therapy**, v.20, n.3, p.154-159, 2006.

ZAMMIT, P.S.; PARTRIDGE, T.A.; YABLONKA-REUVENI, Z. The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold. **Journal Histochemical Cytochemical**, v.54, n.11, p.1177-1191, 2006.