

Comparación de la terapia de ultrasonido continuo y pulsado en la hiperalgesia de rodilla en ratas Wistar

Comparison of continuous and pulsed ultrasound therapy in knee hyperalgesia of Wistar rats

Publicado originalmente en la Revista Dor. São Paulo, 2014 oct-dic;15(4):287-9

Gladson Ricardo Flor Bertolini¹, Josinéia Gresele Coradini², Regina Inês Kunz², Bruno Pogorzelski Rocha², Lígia Inez da Silva³

1. *Universidad de São Paulo, Escuela de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil.*
2. *Universidad Estatal de Oeste de Paraná, Departamento de Fisioterapia, Cascavel, PR, Brasil.*
3. *Universidad Federal de Paraná, Departamento de Fisioterapia, Curitiba, PR, Brasil.*

RESUMEN

Objetivos: Entre los electro-agentes, el ultrasonido es uno de los más comunes, sin embargo, no hay evidencia suficiente de los efectos benéficos con los parámetros utilizados actualmente. El objetivo de este estudio fue comparar el efecto de la terapia de ultrasonido continuo y pulsado sobre la hiperalgesia experimental y edema en rodillas de ratas Wistar.

Métodos: Se dividieron 18 ratas en tres grupos: grupo de control (GC); tratado con ultrasonido pulsado 50% (GUP); y ultrasonido continuo (GUC). Para lograr la lesión, los animales fueron inmovilizados manualmente y 100 µl de solución de formalina al 5% se inyectaron en el espacio tibiofemoral derecho. Para la evaluación de la nocicepción se utilizó el filamento de Von Frey digital en el lado medial de la articulación, hasta la retirada del miembro. El edema se evaluó con un calibre tomando en cuenta la medición medio lateral de la rodilla. Las evaluaciones se llevaron a cabo previo a la lesión (EV1), después de 15 (EV2), 30 (EV3) y 60 (EV4) minutos de la lesión. Después de EV2, el tratamiento se inició con ultrasonido con 0,4 W / cm² (SATA), pulsado o continuo.

Resultados: El GC tuvo hipernocicepción, sin retorno a la línea de base. El GUP ha vuelto a la línea de base a partir de EV3 y para el ultrasonido continuo en EV4. Los tres grupos mostraron un comportamiento similar para el edema, con inicio en EV2, sin reducción.

Conclusión: El ultrasonido terapéutico fue efectivo para disminuir la nocicepción y la forma pulsada mostró resultados mas tempranos, sin embargo, ambas formas de aplicación no tuvieron relación con la formación y mantenimiento del edema agudo.

Palabras clave: Edema; Medición del dolor; Terapia de ultrasonido

ABSTRACT

Backgrounds and Objectives: Among electro agents ultrasound is one of the most common, however, there is insufficient evidence of the beneficial effects with the parameters currently used. The aim of this study was to compare the effect of continuous and pulsed ultrasound therapy on experimental hyperalgesia and edema in knees of Wistar rats.

Methods: 18 rats were divided into three groups: CG- control group; GUP - treated with pulsed ultrasound 50%; and GUC - continuous ultrasound. To accomplish the lesion, animals were manually restrained and 100µL of 5% formalin solution were injected into the right tibiofemoral space. For assessment of nociception digital Von Frey filament was used on the medial side of the joint, until clinching. Edema was evaluated with mid-lateral knee caliper. Assessments occurred in the preinjury

(EV1), after 15 (EV2), 30 (EV3) and 60 (EV4) minutes of the injury. After EV2, treatment was initiated with ultrasound with 0.4W/cm² (SATA), pulsed or continuous.

Results: The CG had hypernociception, with no return to baseline. GUP has returned to baseline as from EV3 and for continuous ultrasound in EV4. All three groups showed similar behavior for edema, with onset in EV2, without reduction.

Conclusion: Therapeutic ultrasound was effective to decrease nociception, and the pulsed form showed early results, however, both forms of application had no effect on the formation and maintenance of acute edema.

Keywords: Edema; Pain measurement; Ultrasound therapy

INTRODUCCIÓN

Entre los agentes electro-térmicos utilizados en fisioterapia, el ultrasonido es una de las terapias más comunes y, el equipamiento necesario suele estar ampliamente disponible en el entorno clínico. Sin embargo, a pesar de su frecuente uso, los estudios de revisión han demostrado que no hay evidencia suficiente para apoyar los efectos beneficiosos del ultrasonido con los parámetros actualmente utilizados en la práctica clínica.^{1,2}

Se atribuyen a este recurso efectos anti-inflamatorios, que después serían responsables de la analgesia, debido al aumento de la temperatura local.

Sin embargo, en la actualidad se han presentado importantes efectos no térmicos, que estarían mediados por las concentraciones de sodio y calcio en las células, lo que produciría efectos analgésicos directos al modificar los umbrales de despolarización celular y de activación, pudiendo ser la base de estimulación para liberación local de opioides endógenos.³

Los estudios reportan resultados contradictorios del ultrasonido terapéutico en diferentes tipos de lesiones, teniendo entre las variables estudiadas de dolor, tales como síndromes de choque,^{4,5} torsiones de tobillo⁶, lumbalgia^{7,8} y osteoartritis de rodilla.⁹ Sin embargo, la diversidad de parámetros clínicos y de investigación es extrema², por lo que son útiles los ensayos controlados para probar diferentes parámetros de tratamiento por ultrasonido, como diferentes dosis, frecuencias y ciclos de trabajo, así como ultrasonido continuo y pulsado que han presentado diferentes resultados, incluso cuando se utiliza la misma intensidad temporal y espacial media (SATA).¹⁰

El objetivo de este estudio fue evaluar y comparar los efectos del ultrasonido terapéutico en diferentes presentaciones de hiperalgesia y edema inducidos por inyección de formalina al 5% en rodillas de ratas Wistar.

MÉTODOS

Dieciocho ratas Wistar, con un peso de $436,0 \pm 33,0$ g, se mantuvieron en jaulas de polipropileno con acceso libre al agua y a los alimentos, con ciclo de luz/oscuridad controlado de 12 horas y temperatura ambiente controlada (24 ± 1 °C). Los animales se dividieron aleatoriamente en tres grupos:

- GC - animales sometidos a inducción de hiperestesia de rodilla derecha y no tratados;
- GUP - animales sometidos a inducción de hiperestesia de rodilla derecha y tratados con ultrasonido terapéutico pulsado 5:5;
- GUC - animales sometidos a inducción de hiperestesia de rodilla derecha y tratados con ultrasonido terapéutico continuo.

Los animales fueron contenidos manualmente y 100 µl de formalina al 5% se inyectaron en el espacio de la articulación tibio-femoral derecha, con el objetivo de inducir sinovitis, con hiperestesia y edema.

Evaluación de nocicepción

El filamento de Von Frey digital Insight® se utilizó para evaluar la nocicepción. El ensayo se realizó con animales sujetos manualmente y se aplicó el filamento a la cara medial de la articulación tibio-femoral de la pata posterior derecha. La punta de polipropileno de filamento se aplicó perpendicularmente al área, con un aumento gradual de la presión y la prueba se interrumpió con la retirada del miembro para registrar el umbral de retirada. Antes de la prueba, los animales fueron entrenados con el equipamiento, durante tres días, con el objetivo de familiarizarse con el mismo. El día posterior al último entrenamiento se recogieron los valores umbral de retirada, en momentos previos a la lesión (EV1), 15 (EV2), 30 (EV3) y 60 (EV4) minutos después de la irritación química.

Evaluación del edema

Se evaluó el diámetro de las rodillas derechas con el calibre colocado medio-lateralmente en la región interlineal de la articulación. Esta evaluación se realizó en momentos similares a los momentos del umbral de retirada.

Protocolos de tratamiento

El tratamiento se inició después de la segunda evaluación, es decir, 15 minutos después de la inducción de hiperalgesia. El GC no fue sometido a ninguna intervención terapéutica, sólo simulación. El tratamiento consistió en el uso transcutáneo de ultrasonido (Ibra-med®) con frecuencia de 1MHz, 0,4V/cm² (SATA), en la interlinea articular de la rodilla, con movimientos lentos y circulares. El GUP recibió ultrasonido pulsado (0.8W/cm² - SATP), con modulación de 5ms encendido y 5ms apagado, es decir, 50% de ciclo activo; y el GUC recibió ultrasonido continuo. Después de la última evaluación los animales fueron sacrificados.

Análisis estadístico

La normalidad de los datos se verificó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. A continuación, los datos se analizaron por ANOVA unidireccional (para comparación entre grupos) y ANOVA con medidas repetidas (comparación dentro de los grupos). En todos los casos, el nivel de significación fue del 5%.

Este estudio se llevó a cabo de acuerdo con las normas internacionales sobre ética de experimentos con animales, previa aprobación por el Comité de Ética para el Uso Animal, UNIOESTE, bajo el dictamen 4412/2012.

RESULTADOS

Los resultados han demostrado que ha habido hipernocicepción en el GC sin regresar a los valores basales, diferentemente de lo observado para los grupos tratados. El GUP regresó a los niveles basales a partir de EV3 y el GUC a partir de EV4 (Tabla 1]. No se han observado diferencias significativas en la comparación entre grupos.

Tabla 1. Valores en gramos, obtenidos con el filamento Von Frey digital, para los tres grupos en diferentes momentos de evaluación

	EV1	EV2	EV3	EV4
GC	344.6±53.0a	246.0±38.6b	205.0±47.2bc	155.1±53.5c
GUP	304.9±87.1 ^a	157.8±66.7b	182.2±38.8ab	257.9±64.1ab
GUC	354.6±108.3a	234.0±100.5b	202.3±55.9b	248.6±128.0ab

GC: grupo control.
 GUP: grupo ultrasonido terapéutico pulsado.
 GUC: grupo ultrasonido terapéutico continuo.
 Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas dentro del mismo grupo.

Para el edema, los tres grupos tuvieron un comportamiento similar, con formación de edema en EV2 sin reducción posterior (Tabla 2).

Tabla 2. Valores en milímetros obtenidos con el calibre para los tres grupos en diferentes momentos de evaluación

	EV1	EV2	EV3	EV4
GC	12.60±0.14a	14.00±0.49b	14.11±0.52b	13.60±0.42b
GUP	12.37±0.38a	13.88±0.16b	13.68±0.21b	13.56±0.28b
GUC	12.15±0.53a	13.93±0.69b	14.04±0.21b	13.76±0.25b

GC: grupo control.
 GUP: grupo ultrasonido terapéutico pulsado.
 GUC: grupo ultrasonido terapéutico continuo.
 Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas dentro del mismo grupo.

DISCUSIÓN

El ultrasonido es una herramienta muy popular para tratar los problemas músculo-esqueléticos, sin embargo existe la necesidad de una mayor cantidad de estudios sobre sus efectos beneficiosos. Una encuesta con 207

fisioterapeutas norteamericanos especializados en fisioterapia ortopédica, ha demostrado que esta terapia se utiliza principalmente para procesos inflamatorios, también con el objetivo de disminuir el dolor. Se observó que el 75% de las respuestas apuntaban a ultrasonido continuo para alivio del dolor, con sólo 17,1% con ciclos de pulso de 50%, siendo la mayoría de las dosis entre 1 y 2W/cm², a pesar de los indicios que indican utilidad de las intensidades más bajas para el tratamiento de estos cuadros,^{1,2} es decir, existe la necesidad de estudios que evalúen las intensidades más bajas y las distintas formas de liberación del ultrasonido.

En nuestro estudio, el modelo de irritación tiene como característica principal dos etapas de comportamiento nociceptivo separadas por una etapa de inactividad alrededor del quinto al décimo minuto después de la inyección de formalina.¹¹ Por lo tanto, decidimos realizar la primera evaluación 15 minutos después de la lesión, evitando evaluar durante el período de reposo, con nuevas evaluaciones 30 y 60 minutos posteriores, con el objetivo de observar el comportamiento del edema y la nocicepción a lo largo de una hora después de la lesión.

La evaluación con el filamento de Von Frey proporciona medidas nociceptivas sensibles, objetivas y cuantitativas,¹² y la medición de la formación de edema con el calibre también ha sido documentada en la literatura,¹³ Teniendo en cuenta la experiencia de los evaluadores y que los animales fueron entrenados antes de las evaluaciones, los datos presentados son confiables, demostrando que no ha habido cambios en la formación de edema con el uso de ultrasonido, no produciendo aumento ni disminución, ya que se ha utilizado durante la etapa de irritación aguda. Esto es diferente de lo que se ha reportado en un estudio de traumatismo de tendón en ratas, donde se ha observado un aumento del edema evaluado a las 2 y 8 horas posteriores al trauma, con disminución significativa 24 horas después. También mencionan que la nocicepción evaluada por el tiempo de retirada, ha demostrado la disminución de la hipernocicepción 8 horas después en el GUP y sólo 24 horas después en el GUC.¹⁴ A pesar de ser diferentes tiempos, el patrón fue similar a nuestro estudio en el que las dos terapias utilizadas han producido disminución del umbral nociceptivo 20 minutos después para los que recibieron ultrasonido pulsado y 60 minutos después del ultrasonido continuo.

En un trabajo que utilizó similares tipos de lesión y evaluación a nuestro estudio, se observó que los animales sometidos a ultrasonido continuo habían aumentado el umbral nociceptivo 2 horas después de la irritación química, y que esta respuesta se modificó en el grupo que había recibido naloxona antes de la lesión. Estos hallazgos sugieren, que la vía para el efecto analgésico mediado por ultrasonido podría

ser la liberación de opioides endógenos, después de irritación química.³ También se destaca que, con los parámetros utilizados similares al GUC de nuestro estudio, los efectos térmicos por ultrasonido pueden descartarse, es decir, los llamados efectos no térmicos fueron responsables de los cambios en el umbral del dolor en ambos estudios.

Un estudio diferente, con evaluación, tipo de lesión y tratamiento de ultrasonido similar a nuestro estudio, con el objetivo de evaluar los efectos acumulativos de láser de baja intensidad, ha observado que la aplicación aislada de este recurso fue mejor que el láser o la asociación de técnicas.¹⁵ En un estudio previo que comparó ultrasonido pulsado y continuo, en animales sometidos al modelo experimental de ciática, el ultrasonido fue efectivo para disminuir el dolor evaluado por el tiempo de retirada y de forma similar a nuestro estudio, el ultrasonido pulsado tuvo resultados analgésicos más precoces.¹⁰ Es decir, en relación al efecto analgésico, no sólo la dosis final parece ser importante, teniendo en cuenta que el ultrasonido pulsado tuvo resultados positivos más tempranos, el pico temporal (SATP) puede influir en la acción de este recurso y debe ser el foco de futuras investigaciones. La limitación de este estudio fue la falta de evaluación molecular del proceso inflamatorio, motivando la realización de más estudios en el futuro.

CONCLUSIÓN

El ultrasonido terapéutico fue eficaz para disminuir la nocicepción y el ultrasonido pulsado tuvo resultados más precoces en comparación con el ultrasonido continuo; sin embargo, ambos tipos de aplicaciones no tuvieron efecto en la formación y mantenimiento del edema agudo.

REFERENCIAS

1. Warden SJ. A new direction for ultrasound therapy in sports medicine. *Sports Med.* 2003;33(2):95-107.
2. Wong RA, Schumann B, Townsend R, Phelps CA. A survey of therapeutic ultrasound use by physical therapists who are orthopaedic certified specialists. *Phys Ther.* 2007;87(8):986-94.
3. Martignano CC, Silva LI, Meireles A, Rocha BP, Rosa CT, Bertolini GR. Avaliação do ultrassom sobre a hiperalgesia e o edema em joelhos de rato Wistar e interferências de um inibidor de opioides endógenos. *Fisioter Bras.* 2013;14(4):289-93.
4. Yildirim MA, Ones K, Celik EC. Comparison of ultrasound therapy of various durations in the treatment of subacromial impingement syndrome. *J Phys Ther Sci.* 2013;25(9):1151-4.
5. Alexander LD, Gilman DR, Brown DR, Brown JL, Houghton PE. Exposure to low amounts of ultrasound energy does not improve soft tissue shoulder pathology: a systematic review. *Phys Ther.* 2010;90(1):14-25.
6. Van den Bekerom MP, van der Windt DA, Ter Riet G, van der Heijden GJ, Bouter LM. Therapeutic ultrasound for acute ankle sprains. *Eur J Phys Rehabil Med.* 2012;48(2):325-34.
7. Fiore P, Panza F, Cassatella G, Russo A, Frisardi V, Solfrizzi V, et al. Short-term effects of high-intensity laser therapy versus ultrasound therapy in the treatment of low back pain: a randomized controlled trial. *Eur J Phys Rehabil Med.* 2011;47(3):367-73.
8. Licciardone JC, Minotti DE, Gatchel RJ, Kearns CM, Singh KP. Osteopathic manual treatment and ultrasound therapy for chronic low back pain: a randomized controlled trial. *Ann Fam Med.* 2013;11(2):122-9.
9. Luksurapan W, Boonhong J. Effects of phonophoresis of piroxicam and ultrasound on symptomatic knee osteoarthritis. *Arch Phys Med Rehabil.* 2013;94(2):250-5.
10. Ciena AP, Cunha NB, Moesch J, Mallmann JS, Carvalho AR, Moura PJ de, et al. Efeitos do ultrassom terapêutico em modelo experimental de ciatalgia. *Rev Bras Med Esporte.* 2009;15(6):424-7.
11. Martins MA, de Castro Bastos L, Tonussi CR. Formalin injection into knee joints of rats: pharmacologic characterization of a deep somatic nociceptive model. *J Pain.* 2006;7(2):100-7.
12. Vivancos GG, Verri WA Jr, Cunha TM, Schivo IR, Parada CA, Cunha FQ, et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37(3):391-9.
13. Gould D, Yousaf N, Fatah R, Subang MC, Chernajovsky Y. Gene therapy with an improved doxycycline-regulated plasmid encoding a tumour necrosis factor-alpha inhibitor in experimental arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2007;9(1):R7.
14. Bertolini GR, Silva TS, Ciena AP, Artífion EL. Comparação do ultrassom pulsado e contínuo no reparo tendíneo de ratos. *Fisioter Pesq.* 2012;19(3):242-7.
15. Coradini JG, Mattjie TF, Bernardino GR, Peretti AL, Kakhata CM, Errero TK, et al. [Comparison of low level laser, ultrasonic therapy and association in joint pain in Wistar rats]. *Rev Bras Reumatol.* 2013;54(1):7-12. English, Portuguese.