



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA
AMAZÔNIA OCIDENTAL

CINTHYA KELLY BASTOS FREIRE NOGUEIRA

**ESTUDO TÉRMICO NA INTERFACE MÚSCULO-OSSO EM CORPOS DE
PROVA E TECIDO SUÍNO *EX VIVO* NA PRESENÇA DE IMPLANTE
METÁLICO APÓS APLICAÇÃO DE ULTRASSOM TERAPÊUTICO**

RIO BRANCO, AC

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA
AMAZÔNIA OCIDENTAL

CINTHYA KELLY BASTOS FREIRE NOGUEIRA

**ESTUDO TÉRMICO NA INTERFACE MÚSCULO-OSSO EM CORPOS DE
PROVA E TECIDO SUÍNO *EX VIVO* NA PRESENÇA DE IMPLANTE
METÁLICO APÓS APLICAÇÃO DE ULTRASSOM TERAPÊUTICO**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde na Amazônia
Occidental, para obtenção do título
de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Luís
Eduardo Maggi

Coorientador: Prof. Dr. Wagner
Coelho de Albuquerque Pereira

RIO BRANCO, AC

2021

*“Os que se encantam com a prática sem a ciência
são como os timoneiros que entram no navio
sem timão nem bússola,
nunca tendo certeza do seu destino.”*

Leonardo da Vinci

DEDICATÓRIA

A **DEUS** em primeiro lugar que me capacitou e me trouxe até aqui;

Aos meus filhos **RAFAEL, DANIEL, HEITOR E GUSTAVO** que são os bens mais preciosos da minha vida;

Ao meu esposo **WILMAR** pelo apoio e incentivo em todos os momentos, até quando pensei em desistir;

À minha querida mãe **TELMA** que sempre confiou e nunca desistiu de mim;

Ao meu amado Pai **ORLANDO** por todo investimento nos meus estudos.

AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental e à Universidade Federal do Acre por oferecerem o melhor na formação de mestres;

Ao meu orientador Prof. Dr. Luís Eduardo Maggi e Coorientador Prof. Dr. Wagner Coelho, que me ajudaram muito, tiveram paciência nos momentos de dificuldades e desânimo, me guiando rumo ao conhecimento e auxiliando em tudo que precisei para finalizar esta pesquisa;

Aos alunos de graduação em Fisioterapia Wesley, Caroline, Carolina, Clisna e Aline que estiveram comigo durante a fase inicial do projeto piloto com compromisso e responsabilidade, sendo meu braço direito e esquerdo durante toda esta etapa;

À colega Vanessa que me ajudou na segunda etapa do trabalho.

À minha pastora Valéria Rigamonte que me incentivou muito no momento de aflição e desânimo;

A todos vocês, o meu MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O ultrassom terapêutico (UST) apresenta efeitos biológicos classificados como térmicos e não térmicos. Os efeitos térmicos objetivam alcançar temperaturas entre 40° a 45°C por cerca de 5 a 10 min, para poder produzir alterações fisiológicas benéficas. Todavia, quando a temperatura ultrapassa os 45°C, surge a hipertermia, na qual os efeitos de necrose tecidual e queimaduras são inerentes. Várias pesquisas realizadas com o objetivo estudar o campo e o efeito térmico do ultrassom terapêutico em implantes metálicos foram aplicadas em *phantoms*, animais *in vivo* e *ex vivo*. Vale ressaltar que na literatura, os pesquisadores, em sua maioria, normalmente colocam o cabeçote do ultrassom parado em uma determinada região de estudo. Contudo, na clínica, é orientado que este cabeçote esteja em movimento, circular, em oito ou em varredura linear. Outra questão a ser abordada é o uso do UST em implantes metálicos, havendo controvérsia na literatura. Diante do exposto, é importante atuar em uma linha de pesquisa que envolva desde os *phantoms*, passando por tecido *ex vivo*, animais vivos e alcance seres humanos, seguindo os mesmos parâmetros e com semelhança à clínica fisioterapêutica. O objetivo deste trabalho é analisar o campo térmico na interface músculo-osso em corpos de prova e tecido suíno *ex vivo* na presença ou não de implante metálico após aplicação de ultrassom terapêutico. A principal conclusão é que o músculo sofreu menor aumento de temperatura, quando em presença do implante metálico quando comparado ao músculo sem a presença de implante. Esse fato é uma boa indicação de que o tratamento por diatermia em pacientes com implantes metálicos, pode ser usado na clínica terapêutica, pelo menos nas doses e com placa metálica como aqui usada. Mesmo no pior cenário de parâmetros e tipo de varredura o IM não aqueceu acima de 45°C. As causas das lesões celulares podem ter sido pelo modo estacionário e ausência da rede capilar. Não foi possível diagnosticar com certeza se o uso do UST contribuiu para a formação das lesões físicas celulares encontradas nas fibras do tecido *ex vivo*. Próxima etapa inclui o uso de placas de outras dimensões com varreduras do cabeçote variadas.

Palavras-chave: Aquecimento; Ultrassom Terapêutico; Implante metálico.

ABSTRACT

Therapeutic ultrasound has biological effects classified as thermal and non-thermal. The thermal effects aim to reach temperatures between 40 ° to 45 ° C for about 5 to 10 min, in order to produce beneficial physiological changes. However, when the temperature exceeds 45 ° C, hyperthermia appears, in which the effects of tissue necrosis and burns are inherent. Several studies carried out with the objective of studying the field and the thermal effect of therapeutic ultrasound in metallic implants were applied to phantoms, animals in vivo and ex vivo. It is noteworthy that in the literature, the majority of researchers normally place the ultrasound head in a determined region of study. However, in the clinic, it is advised that this head is in motion, circular, in eight or in a linear scan. Another issue to be addressed is the use of UST in metallic implants, with controversy in the literature. In view of the above, it is important to act in a line of research involving from phantoms, through ex vivo tissue, live animals and reaching human beings, following the same parameters and similar to the physiotherapy clinic. The objective of this work is to analyze the thermal field at the muscle-bone interface in specimens and swine tissue ex vivo in the presence or not of a metallic implant after application of therapeutic ultrasound. The main conclusion is that the muscle underwent a lower temperature increase when in the presence of the metallic implant when compared to the muscle without the presence of an implant. This fact is a good indication that treatment by diathermy in patients with metal implants, at least in doses and with a metal plate as used here. Even in the worst scenario of parameters and type of scan, the IM did not heat above 45 ° C. The causes of cell injuries may have been due to the stationary mode and the absence of the capillary network. It was not possible to diagnose with certainty whether the use of UST contributed to the formation of physical cellular lesions found in the fibers of EX VIVO tissue. Next step includes the use of plates of other dimensions with varied head scans.

Keywords: Heating; Therapeutic Ultrasound; Metallic implant.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - FENÔMENOS GERADOS DURANTE A INCIDÊNCIA DA ONDA ULTRASSÔNICA..... 16
- FIGURA 2 – ZONA DE FRESNEL NA QUAL A INTENSIDADE TENDE A SER MAIOR.
..... 18
- FIGURA 3 – ILUSTRAÇÃO DA DISPOSIÇÃO DOS *PHANTOMS* DE GORDURA E MÚSCULO E DO OSSO SOBRE UM SUPORTE DE COBRE..... 22
- FIGURA 4 – (4A) ILUSTRAÇÃO DO PROCEDIMENTO PARA REGISTRAR AS IMAGENS ANTES E APÓS APLICAÇÃO DO UST, NESTE CASO, DO OSSO. (4B) ESQUEMA DO APARATO EXPERIMENTAL. 23
- FIGURA 5 – ESQUEMA DO CORTE NO PERNIL E INSERÇÃO DO IM. 24
- FIGURA 6 - MONTAGEM EXPERIMENTAL: A - APLICAÇÃO DO ULTRASSOM NA AMOSTRA DENTRO DO BANHO TÉRMICO CONTROLADO. B - CÂMERA INFRAVERMELHA REGISTRANDO AS IMAGENS TÉRMICAS. C - ANÁLISE DE IMAGEM TÉRMICA EM UM PC COM O SOFTWARE FLIR TOOLS..... 25
- FIGURA 7 - SOFTWARE FLIR TOOLS..... 26
- FIGURA 8 - FOTOS INFRAVERMELHA (ESQUERDA) E ÓTICA (DIREITA) TIRADAS COM A CÂMERA INFRAVERMELHA APÓS AQUECIMENTO ESTÁTICO COM ULTRASSOM, POR 10 MIN. E $1 \text{ W} / \text{CM}^2$. EI1 - REGIÃO ÓSSEA. EI2 REGIÃO MUSCULAR SUPERIOR AO METAL. EI3 METAL. EI4 PELE E L - LOCAL DA BIÓPSIA SEM IRRADIAÇÃO DO UST..... 27
- FIGURA 9 – IMAGEM TERMOGRÁFICA EVIDENCIANDO TODO O ESPAÇO NO QUAL FOI FEITO O CÁLCULO DA MÉDIA DA TEMPERATURA ESPACIAL. ... 28

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO DO SOM DE ACORDO COM A FREQUÊNCIA	14
TABELA 2 – PROPRIEDADES ACÚSTICAS PARA DIFERENTES TECIDOS BIOLÓGICOS	16
TABELA 3- PROTOCOLOS USADOS NO EXPERIMENTO I.	21
TABELA 4 – TEMPERATURA MÉDIA ESPACIAL NA INTERFACE MÚSCULO/OSSO DO EXPERIMENTO I.	30

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1	ULTRASSOM	14
2.2	FENÔMENOS RELACIONADOS AO ULTRASSOM.....	15
2.3	ULTRASSOM TERAPÊUTICO NOS TECIDOS BIOLÓGICOS	17
2.4	ULTRASSOM SOBRE IMPLANTE METÁLICO	17
3	MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1	EXPERIMENTO I (<i>Phantoms</i>).....	20
3.2	EXPERIMENTO II (tecido suíno <i>ex vivo</i>).....	24
3.2.1	Aplicação do ultrassom.....	24
3.2.2	Aquisição de imagens térmicas	25
3.2.3	Análise histopatológica	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1	EXPERIMENTO I (<i>phantom</i> com e sem implante metálico).....	27
4.2	EXPERIMENTO II (tecido de suíno <i>ex vivo</i> com implante metálico) 33	
5	CONCLUSÃO	40
6	REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

A descoberta do efeito piezoelétrico, em 1880, viabilizou a tecnologia para geração e recepção de ondas ultrassônicas. O ultrassom foi utilizado primeiramente na medicina e como prática terapêutica em 1939 pelo alemão R. Pholman no tratamento de mialgia, neuralgia e algia nas costas. Aplicando o ultrassom terapêutico durante 10 minutos por 10 dias, alcançou progresso na redução dos sintomas, para isso utilizou frequência de 800 kHz e intensidade de 4 a 5 W/cm², somente posteriormente iniciaram-se os estudos e prática do ultrassom como método diagnóstico (ERDOGAN, 2009). Atualmente o ultrassom é usado amplamente em medicina, tanto para diagnóstico quanto para terapia.

O ultrassom terapêutico (UST) apresenta efeitos biológicos classificados como térmicos e não térmicos (GARAVELLO *et al.*, 1997; BAKER *et al.*, 2001). Os efeitos térmicos são produzidos por ondas mecânicas que vibram de modo contínuo (ALENCAR, 2004), objetivando alcançar temperaturas entre 40° a 45°C por cerca de 5 a 10 min (DE SÁ, 2009), este tempo é suficiente para produzir alterações fisiológicas benéficas (OLIVEIRA, 2013). Todavia, quando a temperatura assume valores maiores que 45°C, surge a hipertermia, na qual os efeitos de necrose tecidual e queimaduras são inerentes (SELLANI *et al.*, 2016; ZOHDI and KRONE, 2017).

Os efeitos não térmicos são produzidos por uma vibração mecânica intervalada (pulsos ultrassônicos), permitindo assim que ocorra a dispersão do calor (AGNE, 2013), de forma que a temperatura máxima induzida no tecido é inferior a 40 °C (FUIRINI and LONGO, 2002).

O UST, ao longo dos mais de 60 anos de estudos e aplicações clínicas, se tornou um dos agentes eletrofísicos mais divulgados e utilizados na prática terapêutica (BAKER *et al.*, 2001b). Sua presença é marcante na maioria dos setores de fisioterapia do mundo (SELLANI *et al.*, 2016), sendo largamente aplicado em alterações musculoesqueléticas (SUN *et al.*, 2016) entre elas: osteointegração, lesões do sistema tegumentar de difícil cicatrização (OLIVEIRA, 2013), analgesia, redução de espasmo muscular (AGNE, 2013), tratamento de processos inflamatórios (AREIAS, 2015).

Os efeitos do ultrassom terapêutico nos tecidos biológicos podem ser reversíveis ou não, dessa forma é muito importante o conhecimento a respeito das indicações e contraindicações desta terapia (DE SÁ, 2009). Entretanto ainda há muita controvérsia quanto às indicações e contraindicações da utilização do ultrassom terapêutico sobre glândulas mamárias, epífise óssea e implantes metálicos (IM), sendo este último o foco deste trabalho.

A termografia por infravermelho vem sendo utilizada recentemente como ferramenta para avaliar as variações de temperatura em *phantoms* e/ou tecido biológico *ex vivo* (REIS et al., 2012a; REIS et al., 2012b; SANTOS et al., 2012). Esta apresenta algumas vantagens sobre os outros instrumentos de termometria, como, por exemplo, maior sensibilidade, softwares e câmeras avançadas (ANDRADE FILHO, 1999), além de apresentar uma resolução térmica de 0,1°C (GARCIA, 2004), permitindo analisar não somente pontos específicos, mas a imagem como um todo. Tem sido amplamente utilizada nas pesquisas referentes ao estudo do aquecimento promovido pelo ultrassom terapêutico de forma não invasiva (SANTOS *et al.*, 2012; ANDRADE FILHO, 1999; REIS et al., 2012a; REIS et al., 2012b).

No caso específico da irradiação com UST de tecidos com implantes metálicos, o ponto mais relevante é identificar se o aquecimento produzido por UST nas interfaces músculo/implante e implante/osso é maior do que na interface músculo/osso, a qual, sabidamente é uma interface que tende a aquecer mais que os resto do tecido irradiado (REIS, 2012b).

Diante do exposto, é importante atuar em uma linha de pesquisa que envolva desde os materiais mimetizadores de tecido biológico (*phantoms*), passando por tecido *ex vivo*, modelos animais e alcance seres humanos, seguindo os mesmos parâmetros e com semelhança à clínica fisioterapêutica. Atualmente, o que se percebe são trabalhos que utilizam metodologia próprias, sem muita relação com os outros, utilizando, por exemplo, cabeçote estacionário, valores de intensidade e tempo de irradiação aleatórios, gerando inconsistência e dúvidas quanto ao melhor ou mais adequado parâmetro do UST, em tecido com implante metálico.

Para tanto, o objetivo desta dissertação é, estudar o campo térmico na interface músculo-osso em corpos de prova mimetizadores de tecido biológico (*phantoms* ultrassônicos) e em tecido suíno *ex vivo*, em ambos os casos com e sem a presença de implante metálico. No caso do tecido suíno, foi verificar se ocorreu lesão em nível histológico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ULTRASSOM

Os agentes eletrofísicos têm sido largamente utilizados dentro da clínica fisioterapêutica com o objetivo de produzir calor, gerando efeitos benéficos em uma variedade de doenças traumato-ortopédicas. Entre os principais agentes eletrofísicos têm-se ondas eletromagnéticas e mecânicas. Para este estudo será enfatizado ondas mecânicas como agente terapêutico.

As ondas mecânicas necessitam de um meio para se propagar, diferente da onda eletromagnética que se propaga até mesmo no vácuo, um exemplo importante de onda mecânica é o som. Esta onda mecânica se propaga por meio da vibração das partículas do meio, com uma velocidade depende da elasticidade, da densidade e da temperatura deste meio. Quando a frequência é superior a 20 kHz, classifica-se esta onda como ultrassom, Tabela 1 (OLIVEIRA, 2013).

Tabela 1 – Classificação do som de acordo com a frequência

INTERVALOS DE FREQUÊNCIA AUDÍVEIS	INFRASSOM	SOM	ULTRASSOM
Seres Humanos	Abaixo de 20Hz	Entre 20 e 20.000 Hz	Acima de 20.000 Hz
Cães	Abaixo de 10Hz	Entre 10 e 40.000 Hz	Acima de 40.000 Hz

Fonte: Rodrigues e Borges (2017).

A onda sonora mais importante utilizada em fisioterapia é o ultrassom terapêutico e é gerada a partir de uma corrente elétrica, a qual excita uma cerâmica piezoelétrica, esta por sua vez, vibra produzindo ondas mecânicas com frequência variando conforme a espessura do cristal (KITCHEN, 2003). Normalmente a cerâmica utilizada é a base de zirconato-titanato de chumbo a qual é conhecida como PZT (AREIAS, 2015).

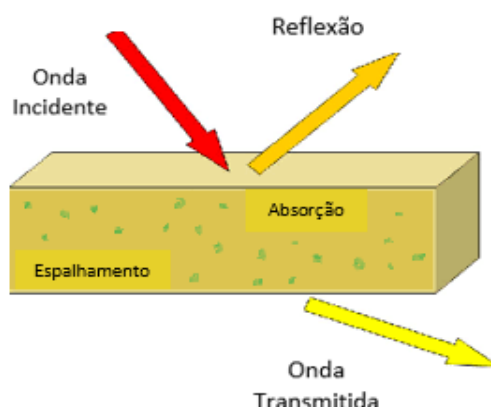
2.2 FENÔMENOS RELACIONADOS AO ULTRASSOM

Quando uma onda mecânica incide na interface de tecidos biológicos, podem ocorrer fenômenos como: refração, reflexão, difração, espalhamento e absorção, sendo estas duas últimas, formas de atenuação (AREIAS, 2015; OLIVEIRA, 2013).

A refração, é um fenômeno que ocorre quando a onda sonora passa de um meio para outro e, se a incidência não for perpendicular, ocorre um desvio em relação à trajetória da onda incidente, podendo também diminuir ou aumentar sua velocidade. Na interface incidente, parte da onda é refletida e parte transmitida, dependendo do quão diferente sejam as impedâncias acústicas dos meios. Já o espalhamento ocorre quando há partículas com diâmetros menores ou da ordem do comprimento da onda, desviando a onda para todas as direções. A absorção ocorre ao longo da propagação em que parte da energia mecânica é transformada em calor (FISH, 1990; RODRIGUES & BORGES, 2017). A absorção somada ao espalhamento são os principais fenômenos que contribuem para a atenuação da onda.

Conforme a onda vai sendo transmitida os fenômenos mais proeminentes são a reflexão nas interfaces e a atenuação, ou seja, a intensidade da onda vai diminuindo ao longo da propagação (Figura 1). A atenuação é composta pelos coeficientes de absorção e espalhamento. Sendo o primeiro a razão entre a energia absorvida e a energia incidente, a segunda é definida como a razão entre a energia mecânica refletida não especular e a energia total refletida. Todos os tecidos têm um coeficiente de atenuação (AREIAS, 2015).

Figura 1 - Fenômenos gerados durante a incidência da onda ultrassônica



Fonte: Autoria própria

Além do coeficiente de atenuação, é importante ressaltar que a impedância (“resistência” do meio à passagem da onda) é importante para compreender como as ondas ultrassônicas se comportarão no tecido biológico. A Tabela 2 apresenta algumas propriedades ultrassônicas, típicas de gordura, músculo e osso.

Tabela 2 – propriedades acústicas para diferentes tecidos biológicos

PROPRIEDADES ACÚSTICAS DOS TECIDOS BIOLÓGICOS			
Tecido	Velocidade do ultrassom (m/s)	Coeficiente de Atenuação (dB/cm a 1 MHz)	Impedância (kg/m²·s)
Gordura	1465	0,29 – 0,50	1,37x10 ⁶
Músculo	1580	0,74 – 1,50	1,65 – 1,74x10 ⁶
Osso	3500	4,60 – 12,50	3,75 – 7,38x10 ⁶

Fonte: adaptado de Oliveira (2013).

Sabe-se que a interface músculo-osso é a que sofre maior aquecimento e a reflexão, assim como a absorção influenciam de forma significativa para que este fato ocorra, pois, ao passar do tecido muscular para o ósseo ocorre maior depósito de energia no primeiro meio (AREIAS, 2015; OLIVEIRA, 2013; ZOHDI *and* KRONE, 2017; DE SÁ, 2009).

2.3 ULTRASSOM TERAPÊUTICO NOS TECIDOS BIOLÓGICOS

O equipamento de ultrassom utilizado em reabilitação divide-se em: ultrassom convencional, ultrassom pulsado de baixa intensidade (LIPUS) e ultrassom para limpeza e desbridamento (OLIVEIRA, 2013). O ultrassom convencional caracteriza-se por apresentar um feixe não focalizado, cabeçote aplicador circular, com frequências de 1 e 3 MHz, além de intensidade até 2 W/cm^2 (ALENCAR, 2004; DE SÁ, 2009).

Dependendo da configuração usada nos aparelhos de ultrassom terapêutico (modo de aplicação, contínuo ou pulsado), é possível gerar um dos seguintes efeitos: térmicos ou não térmicos. O efeito térmico está relacionado à elevação da temperatura tecidual e é resultante do coeficiente de absorção dos tecidos (tecidos com maior composição proteica geram mais calor, como, por exemplo, o músculo gera mais calor que a gordura) e a vascularização local (tecido mais vascularizado dissipa mais o calor do que o menos vascularizado).

As respostas fisiológicas produzidas pela elevação da temperatura tecidual gerada pela aplicação do UST são (efeito térmico): aumento do metabolismo celular, aumento do fluxo sanguíneo local, melhora na extensibilidade de estruturas com colágeno como tendões, redução da rigidez articular, redução de processo inflamatório, diminuição da dor, de espasmos musculares e de aderências (KITCHEN, 2003). Os efeitos não térmicos ocorrem sem gerar mudanças importantes de temperatura no tecido e devem-se a mecanismos como cavitação, correntes acústicas e ondas estacionárias. As principais respostas aos efeitos não térmicos são: aumento da permeabilidade da membrana celular, aumento da síntese de colágeno e da atividade enzimática, redução da atividade elétrica e regeneração no tecido, reparo ósseo (ANDRADES, 2013).

2.4 ULTRASSOM SOBRE IMPLANTE METÁLICO

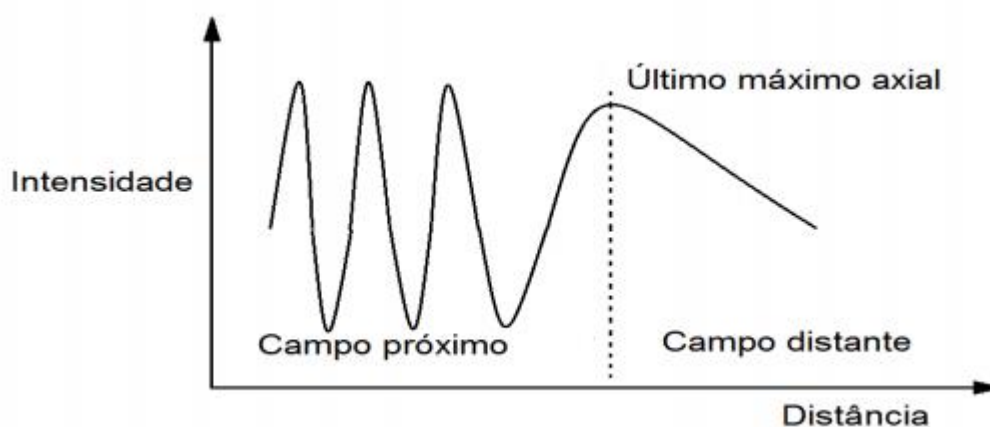
Quanto ao uso do ultrassom terapêutico na fisioterapia, vários autores (KITCHEN, 2003; COSTA, 2009; ANDRADES, 2013) mencionaram que os fisioterapeutas e até mesmo a própria literatura diverge em relação a aplicação de UST sobre implantes metálicos. A preocupação está relacionada à reflexão da

onda ultrassônica no metal, pois ela pode superaquecer as estruturas próximas, gerando dor e queimaduras.

Várias pesquisas, realizadas com o objetivo estudar o campo e/ou o efeito térmico do UST em implantes metálicos, foram aplicadas em *phantoms* (SUN *et al.*, 2016; COSTA, 2009), animais *in vivo* (GARAVELLO, 1997) e *ex vivo* (ANDRADES, 2013). Esses estudos não conseguiram provar que o implante metálico ofereceria um perigo iminente, ainda que tivessem submetido os tecidos a pior situação possível. Em geral coloca-se o cabeçote do ultrassom fixo em uma determinada região sobre o tecido biológico ou *phantom*. Contudo, na clínica, é sabido e orientado que este cabeçote esteja em movimento, circular, em oito ou em varredura linear (DEMMINK *and* HELDERS, 2003).

A movimentação é importante para evitar o que se chama de *hot spot*, ou seja, pontos de aquecimento presentes devido à zona de Fresnel (campo próximo) do feixe ultrassônico no qual a intensidade é maior, Figura 2 (KITCHEN, 2003). De Sá (2009) confirmou com seu estudo que o melhor protocolo para a movimentação do cabeçote ultrassônico (estático ou dinâmico), é o movimento dinâmico circular com velocidade de 2 cm/s, pois a temperatura tecidual ficou dentro da faixa de temperatura que induz as respostas fisiológicas desejadas. Esses resultados foram obtidos utilizando-se a frequência de 1 MHz e a intensidade acústica nominal de 2 W/cm².

Figura 2 – Zona de Fresnel na qual a intensidade tende a ser maior.



Fonte: Oliveira (2013).

Quando se buscam informações sobre a aplicação de ultrassom em tecidos biológicos com presença de IM verificou-se que El' Piner (1966) citou um estudo de Gersten publicado em 1958. Nesse trabalho foi observado que o tecido ósseo apresentou maior aquecimento, quando comparado com o IM, porém os equipamentos de ultrassom daquela época não alcançavam as mesmas intensidades que os equipamentos produzidos atualmente. Não foi possível identificar a intensidade, frequência e tempo de aplicação empregados no estudo supracitado em decorrência do trabalho ser antigo e não estar disponível na íntegra.

Utilizam-se, em pesquisas, corpos de prova, conhecidos como *phantoms*, que mimetizam propriedades acústicas e térmicas do tecido biológico humano. Esses materiais começaram a ser empregados na década de 80 para auxiliar em testes de calibragem de aparelhos de ultrassom (DE MATHEO, 2016), bem como têm sido utilizados para estudar os parâmetros mais adequados no uso do UST sobre osso com IM, o que facilita muito sua aplicação clínica, pois torna-se desnecessário o uso de voluntários e os riscos dos efeitos lesivos da hipertermia.

Em decorrência das discrepâncias metodológicas nos estudos referentes ao tema, o mais cientificamente coerente seria a realização de trabalho que siga um mesmo método em *phantoms*, tecido *ex vivo*, modelos animais e seres humanos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A fim de facilitar a compreensão do texto, chamaremos de Experimento I o estudo realizado com *phantoms* e de Experimento II a investigação feita com amostra de pernil de suíno *ex vivo*. O experimento I é formado por dois subgrupos: Ps e Pi, *Phantoms* sem e com implante metálico, respectivamente. O Experimento II foi chamado de Ei, representando tecido suíno *ex vivo* com implante metálico, sendo este experimento realizado com uma única amostra.

Em todos os experimentos, o aparelho de UST foi configurado para operar no modo contínuo. Entretanto, no Experimento II a intensão foi criar o pior cenário para verificar o aquecimento nas interfaces, para tanto o cabeçote foi posicionado estático com intensidade e tempo mais altos ($2\text{W}/\text{cm}^2$, 10 minutos), a frequência de 1 MHz.

3.1 EXPERIMENTO I (*Phantoms*)

Os parâmetros usados no aparelho de UST (frequência de 1 MHz, varredura linear do cabeçote aplicador), durante a aplicação ultrassônica em *phantoms* estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3- Protocolos usados no experimento I.

TEMPO APLICAÇÃO	IMPLANTE METÁLICO	INTENSIDADE
5 MIN	SEM IMPLANTE	1,0 W/cm ²
		1,5 W/cm ²
		2,0 W/cm ²
	COM IMPLANTE	1,0 W/cm ²
		1,5 W/cm ²
		2,0 W/cm ²
10 MIN	COM IMPLANTE	1,0 W/cm ²
		1,5 W/cm ²
		2,0 W/cm ²
	SEM IMPLANTE	1,0 W/cm ²
		1,5 W/cm ²
		2,0 W/cm ²

Fonte: autoria própria

Foi confeccionado um *phantom* para mimetizar a camada de gordura e outro para mimetizar a camada de músculo, ambos com dimensões de 13 x 8 x 2 cm. Para a confecção do phantom de músculo, inicialmente, 3% de pó de grafite foi adicionado a um béquer contendo 110 ml de PVCP (Policloreto de Vinila), e em seguida, mistura foi colocada em um pirex da marca Marinex com dimensões 13 x 8 x 5 cm. O passo seguinte consistiu no acondicionamento do pirex em um micro-ondas, e o aquecimento da mistura por um período de 30 segundos com a potência do micro-ondas ajustada para 50%. Esse procedimento para aquecer a mistura foi realizado 7 vezes, sempre mexendo o líquido manualmente entre os intervalos a fim de homogeneizar a temperatura, evitando que a mistura ultrapassasse 160°C (DE MATHEO, 2016). O osso de costela bovina foi adquirido em um açougue, sendo limpo para retirada dos tecidos aderidos, e em seguida lavado com detergente neutro. Selecionaram-se duas amostras da costela com cerca de 13 X 4 cm, sendo que, em uma delas, foi implantada uma placa metálica de liga de titânio com dois parafusos fixado nas extremidades. Este material foi doado pelo centro cirúrgico do Hospital das Clínicas, Rio Branco - AC.

O aparato experimental foi montado com as amostras dispostas na seguinte ordem: gordura, músculo e osso com ou sem implante metálico. Esta montagem foi apoiada numa armação de cobre e fixada com liga de látex nas laterais (Figura 3). Para alcançar a temperatura do corpo humano (36,5 a 37,0°C), foi usado um banho maria ultratermostato criostato (521/D; Nova Ética, Vargem Grande Paulista, Brasil).

O equipamento de UST empregado neste estudo foi o modelo SONOMED V (Carcí, São Paulo, Brasil). O registro das imagens térmicas foi realizado com uma câmera termográfica modelo E6 (Flir Systems Inc., Wilconville, EUA), com a lente da câmera posicionada a 30 cm da superfície superior do *phantom* ou osso a ser termografado. A região a ser avaliada foi a face inferior do *phantom* de gordura e músculo e a superior do osso. Vale ressaltar que foram registradas imagens antes e após a aplicação do UST e o aparato experimental foi o mesmo para todos os protocolos.

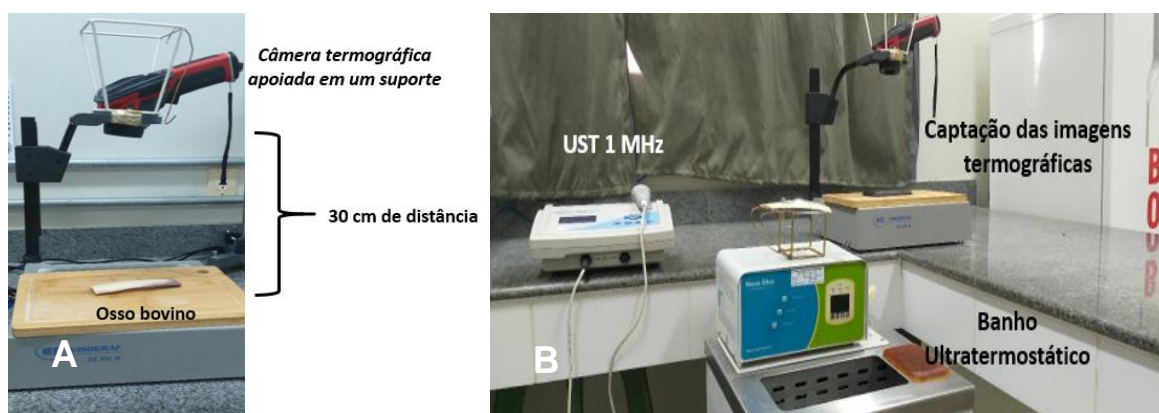
Figura 3 – Ilustração da disposição dos *phantoms* de gordura e músculo e do osso sobre um suporte de cobre.



O suporte de cobre com a amostra de osso com ou sem implante metálico acoplado a ele, foi submerso por 15 min no banho maria. Imediatamente após esse tempo, foram adicionados os *phantoms* de gordura e músculo, aguardou-se por mais 15 min para todo sistema alcançar a temperatura pré-selecionada (equilíbrio térmico). Transcorridos 30 min, retirou-se uma das amostras do interior do banho Maria e verificou-se o valor da temperatura na superfície da amostra

usando a câmera infravermelha (Figura 4A). O mesmo procedimento foi realizado antes de iniciar cada protocolo. Após o primeiro registro do valor de temperatura das amostras, elas foram reposicionadas sobre o suporte de cobre e submersas novamente no banho, aplicou-se UST com os parâmetros pré-determinados em cada protocolo. Por fim, foram registradas a segunda imagem térmica logo após a aplicação (Figura 4B). As medições e protocolos foram repetidos sobre o aparato experimental com e sem implante metálico por 5 vezes em cada protocolo. Por motivo de simplificação da análise dos dados não foi levada em conta a variação da temperatura na primeira camada (gordura).

Figura 4 – (4A) Ilustração do procedimento para registrar as imagens antes e após aplicação do UST, neste caso, do osso. (4B) Esquema do aparato experimental.



Foi realizada uma análise estatística por meio de SPSS20 (JAVA ®) com nível de significância de 0,05. Foi feito o teste de Normalidade Shapiro-Wilk e o teste-T pareado foi empregado para comparar as médias dos valores de temperatura registrados antes e após a aplicação do ultrassom em cada uma das amostras.

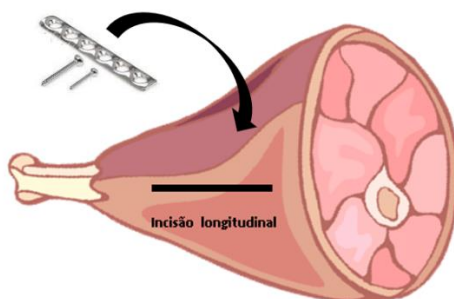
3.2 EXPERIMENTO II (tecido suíno *ex vivo*)

O protocolo usado no tecido de suíno *ex vivo* foi: modo contínuo; frequência nominal de 1 MHz; intensidade nominal de 2 W/cm²; tempo de aplicação de 10 minutos; com cabeçote estacionário.

3.2.1 Aplicação do ultrassom

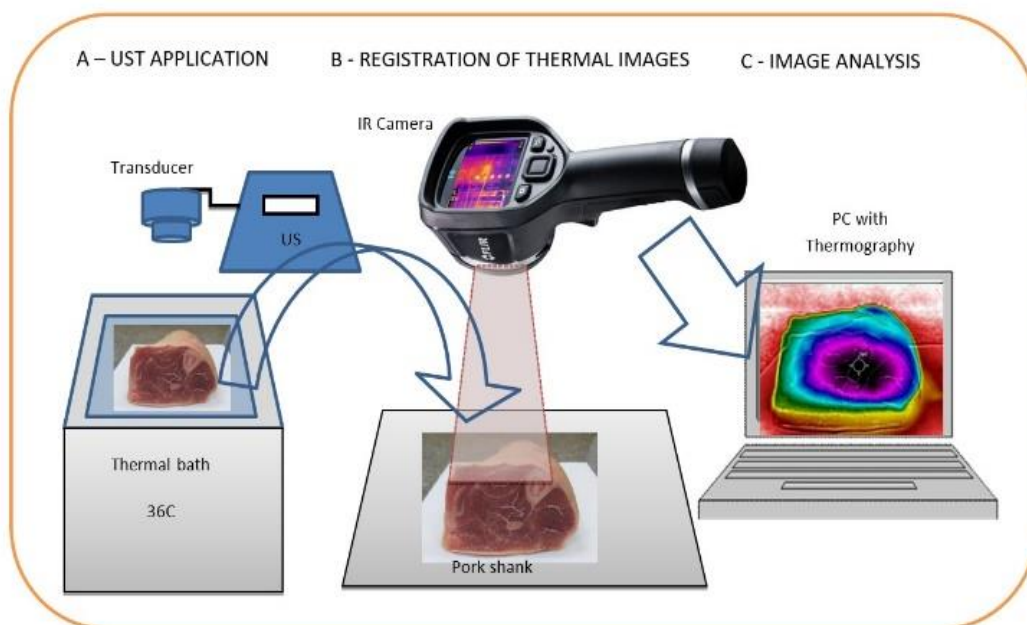
Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Acre (CEUA / UFAC). Foi usado um pedaço de coxa de porco, o qual foi adquirido em um açougue localizado em Rio Branco, no Acre. A abordagem cirúrgica foi realizada com uma incisão longitudinal na pele (Figura 5). A pele e o tecido muscular foram dobrados para expor a tíbia. Em seguida, um implante metálico de aço inoxidável foi fixado na parte mais plana do osso sem osteotomia, a 2,5 cm da pele, por um médico veterinário. A peça foi suturada na região do corte, colocada em banho térmico controlado a 36° C (Nova Etica ®) para mimetizar a temperatura corporal normal e, a seguir, irradiada com ultrassom terapêutico por 10 minutos, a 1 MHz, intensidade dada no display de 2 W / cm², modo estacionário (Figura 6).

Figura 5 – Esquema do corte no pernil e inserção do IM.



Fonte: Autoria própria

Figura 6 - Montagem experimental: A - Aplicação do ultrassom na amostra dentro do banho térmico controlado. B - Câmera infravermelha registrando as imagens térmicas. C - Análise de imagem térmica em um PC com o software Flir Tools.

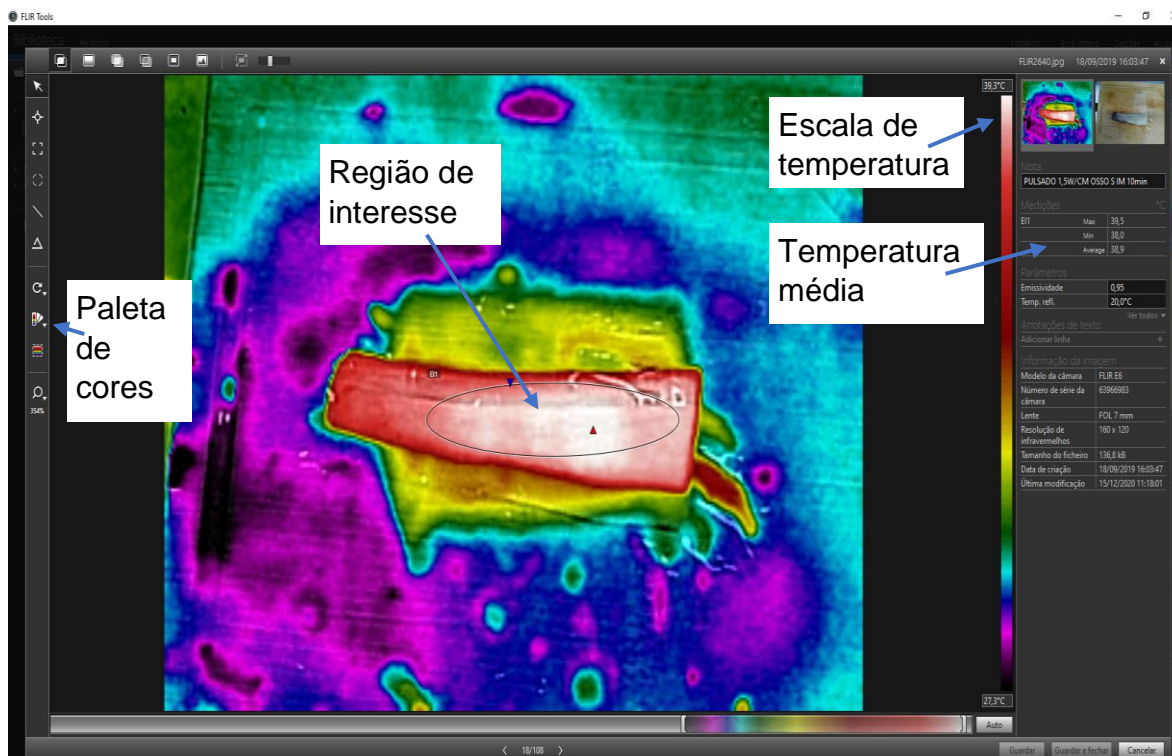


Fonte: Autoria própria

3.2.2 Aquisição de imagens térmicas

As imagens foram registradas antes e após o procedimento com uma câmera infravermelha com resolução de 19.200 (160 × 120) pixels (Flir 6E, Flir®). De acordo com o fabricante, a câmera possui uma precisão de ± 2 °C ou $\pm 2\%$ à temperatura ambiente (10 a 35 °C) e pode operar em uma faixa de temperatura de -20 a +250 °C, a uma distância focal de cerca de 32 cm da superfície da amostra. Essas imagens foram então transferidas para um microcomputador e analisadas com o software FLIR® TOOLS, que permite alterar a paleta de cores, a escala de temperatura e selecionar uma região de interesse para visualizar os valores máximo, mínimo e calcular a temperatura média nas áreas selecionadas (Figura 7).

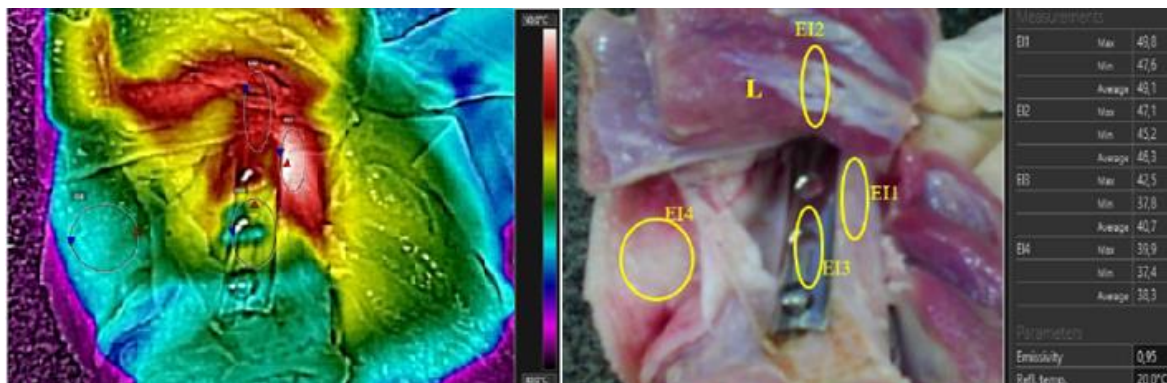
Figura 7 - Software Flir Tools.



3.2.3 Análise histopatológica

Algumas amostras de tecido muscular foram extraídas para estudo histopatológico (padrão ouro), o qual foi realizado no Laboratório de Patologia e Apoio à Vida Selvagem da Universidade Federal do Acre (Figura 8: L - Local da biópsia). As amostras foram acondicionadas em recipientes com formol a 10%, fixadas por um período de 48 horas e clivadas em fragmentos de 1,0 cm³. Para confecção das lâminas, foi utilizado o protocolo laboratorial padrão, com o método laboratorial de rotina usual descrito em Zachary (2016) e coloração com hematoxilina e eosina. As leituras das lâminas foram realizadas em microscopia de luz (microscópio Leica® DM 750) e fotomicrografias realizadas com a utilização do software Leica® Application Suite EZ 3.4.0.

Figura 8 - Fotos infravermelha (esquerda) e ótica (direita) tiradas com a câmera infravermelha após aquecimento estático com ultrassom, por 10 min. e 1 W / cm². EI1 - região óssea. EI2 região muscular superior ao metal. EI3 Metal. EI4 Pele e L - local da biópsia sem irradiação do UST.



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para efeito de análise dos dados, as variações de temperatura entre 3,0 a 8,0 °C são consideradas capazes de gerar efeito terapêutico pelo calor. Variações de temperatura acima de 8 °C são consideradas lesivas para o tecido muscular e ósseo. As análises foram realizadas na interface músculo/osso, sendo que, para o músculo, a região considerada foi a inferior em contato com osso e/ou implante metálico e, para o osso, a região analisada foi a superior. Isso foi válido tanto para o experimento I (*Phantoms*) quanto para o experimento II (tecido *ex vivo* de suíno). Vale ressaltar que o *phantom* de gordura, apesar de ter sido utilizado no experimento não entrou como dado, uma vez que não era interesse no estudo, foi apenas para mimetizar com mais veracidade como se comportaria em ser humano.

4.1 EXPERIMENTO I (*phantom* com e sem implante metálico)

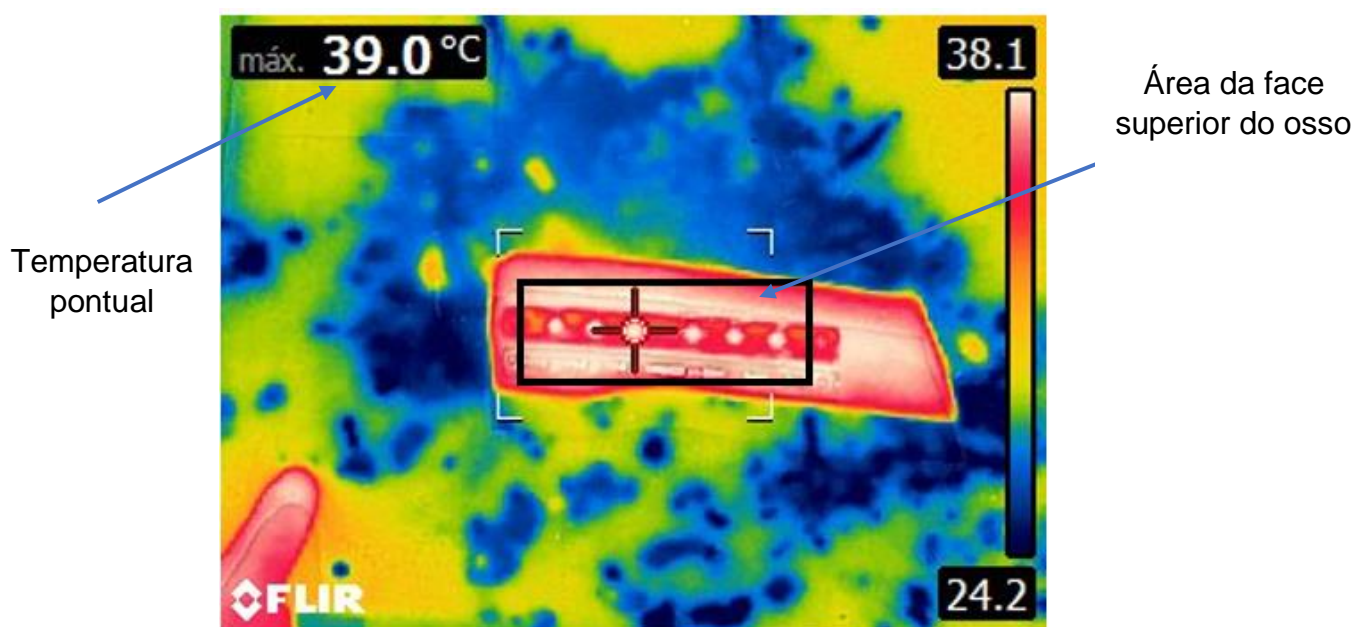
A variação da temperatura média espacial foi calculada a partir da diferença entre a média da temperatura da área selecionada depois da aplicação do

ultrassom e a média da temperatura da mesma área antes da aplicação do UST. Neste trabalho, com o experimento I foi realizado 5 repetições em cada parâmetro.

Após ser transferido para o programa Flir® Tools foi realizada uma média aritmética das cinco temperaturas obtidas (

Figura 9).

Figura 9 – Imagem termográfica evidenciando todo o espaço no qual foi feito o cálculo da média da temperatura espacial.



Fonte: Flir® Tools (Pi)

Os resultados do experimento I (modo contínuo) estão apresentados na Tabela 4.

Após a análise das imagens com o programa Flir® Tools, no Experimento I Ps (*phantom* sem implante metálico) e Pi (*phantom* com implante metálico) nos parâmetros de 1 W/cm²; 1,5 W/cm² e 2 W/cm², nos tempos de 5 e 10 min, verificou-se que não foi alcançada temperatura para gerar efeito terapêutico na interface músculo/osso (músculo inferior e osso superior). O protocolo que gerou uma elevação de temperatura mais próxima da faixa de temperatura recomendada pela literatura foi a intensidade nominal de 1,5 W/cm² com tempo de aplicação de 10

min, na região do músculo (Ps), chegando a uma variação temperatura no músculo de $1,78 \pm 1,30$ °C (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**).

De acordo com a Tabela 4, o *phantom* de músculo teve aquecimento maior que o osso com e sem IM em todos os parâmetros analisados. Em geral, a comparação da temperatura no *phantom* de músculo quando o osso estava sem e com implante possibilita observar que a elevação da temperatura foi maior na ausência do IM, entretanto, a diferença de temperatura não foi estatisticamente significativa em nenhum dos casos. O osso sem implante metálico irradiado por 10 minutos nas intensidades $1,5 \text{ W/cm}^2$ e 2 W/cm^2 aqueceu menos do que o esperado, quando comparado com os irradiados por 5 minutos. Esse desfecho pode ter acontecido em decorrência do aparelho, em alguns momentos, acusar “superaquecimento” e cessar a irradiação até a normalização da temperatura. Como utilizado na prática clínica, o operador continuou realizando a movimentação em varredura linear do cabeçote e o aparelho continuou a contagem regressiva do tempo de aplicação, isso pode ter levado a um resfriamento das amostras.

Nota-se também que, quanto maior a intensidade e o tempo de irradiação, maiores níveis de temperaturas são alcançados, entretanto no osso com IM observou-se que, ao se aumentar a intensidade para o tempo de 10 minutos, as temperaturas foram diminuindo, mais uma vez, isso pode ter sido causado pelo fato exposto anteriormente. Para análise da normalidade empregando o teste de Shapiro-Wilk pode-se observar que as distribuições foram normais para todas as variáveis do experimento.

Tabela 4 – Temperatura média espacial na interface músculo/osso do experimento I.

		INTENSIDADE (W/cm ²)	MÚSCULO			OSSO		
			SEM (Ps)	COM (Pi)	P-value	SEM (Ps)	COM (Pi)	P-value
TEMPO APLICAÇÃO (MIN)	5	1,0	0,58 ± 0,36	0,96 ± 0,73	0,456	0,42 ± 0,26	0,60 ± 0,56	0,494
		1,5	1,30 ± 0,57	1,18 ± 0,58	0,637	0,98 ± 0,57	0,84 ± 0,85	0,732
		2,0	1,72 ± 0,58	1,10 ± 0,46	0,052	1,04 ± 0,80	0,64 ± 0,51	0,116
	10	1,0	0,98 ± 0,24	1,70 ± 1,47	0,289	0,66 ± 0,32	0,94 ± 1,16	0,562
		1,5	1,78 ± 1,30	1,44 ± 0,99	0,175	0,74 ± 0,36	0,78 ± 0,97	0,902
		2,0	1,78 ± 0,55	1,52 ± 0,51	0,354	0,84 ± 0,42	0,64 ± 0,75	0,686

Teste T pareado, diferença significativa para $p < 0,05$

Ao se comparar os dois subgrupos do experimento I percebeu-se que os protocolos usando intensidades de 1 W/cm² e 1,5 W/cm² e tempos de aplicação de 5 e 10 minutos, o osso com implante metálico aqueceu mais do que o osso sem implante. Em contrapartida, para o protocolo relacionado à intensidade nominal de 2 W/cm², e aos tempos de aplicação de 5 e 10 minutos o osso sem implante metálico aqueceu mais do que o osso com implante.

O uso dos protocolos no modo contínuo e com as 3 intensidades nominais, com e sem o implante metálico, não chegou a gerar efeito terapêutico efetivamente. Acredita-se que isso deva-se há alguns fatores, entre eles ao tempo de aplicação, a área irradiada e ao movimento em varredura linear.

De Sá (2009) afirmou que o tempo de aplicação é usualmente obtido dividindo-se a área a ser tratada pela ERA (área de radiação efetiva) do cabeçote do ultrassom terapêutico. Neste caso, a área do *phantom* que foi irradiada tinha cerca de 100 cm² e a ERA do feixe ultrassônico utilizado era de 7 cm², dessa forma o tempo deveria ser de 14 minutos. No protocolo empregado, foram utilizados os tempos de 5 e 10 min. Isso pode ter impactado a temperatura média na interface estudada, a qual não alcançou a faixa de 40 a 45°C que acarretaria no efeito terapêutico esperado.

Grey (2003) realizou uma pesquisa para comparar o tempo de exposição dos tecidos irradiados por UST, utilizando padrões de digitalização construídos

matematicamente e padrões de aplicação manual aplicados por terapeutas, pelo fato de não se saber se o tempo total de tratamento ou o tempo médio de exposição local planejado realmente representam a exposição local. Durante seu trabalho, o autor percebeu uma grande diferença na forma de aplicar o ultrassom e, na aplicação manual de 22 terapeutas, o tempo médio de exposição foi menor que o imaginado. Portanto, o padrão de aplicação em varredura linear realizado no experimento I pode ter influenciado também na exposição local fazendo com que a temperatura ideal não fosse alcançada.

De Sá (2009) realizou três protocolos de aplicação do ultrassom, sendo um estático, um em varredura circular e outro em varredura linear para verificar qual destes poderia gerar um ótimo padrão de aquecimento. Ele notou que o melhor aquecimento para a frequência 1 MHz, intensidade de 2 W/cm^2 e tempo de 10 minutos, foi obtido com a varredura circular em uma área 3,77 vezes maior que o tamanho da ERA, isso usando uma velocidade de 2 cm/s. Afirma ainda que o nível de aquecimento é totalmente dependente dos parâmetros adotados e que isso sugere um aquecimento inadequado nos tratamentos clínicos.

Este fato nos leva a supor que outro fator que pode ter influenciado nas temperaturas alcançadas foi a varredura linear utilizada nos protocolos. Não obstante, o que influenciou o resultado obtido por Sá (2009) não foi apenas o tipo de movimento, mas também a velocidade, o tempo em função da área e os parâmetros do aparelho. Neste trabalho tentou-se empregar uma velocidade de 2 cm/s, por meio de contagem do tempo através do relógio analógico.

Reis et al. (2012b), avaliou a área de distribuição térmica e o pico de temperatura em *phantoms* de músculo e em osso com implante metálico. Eles empregaram um protocolo com cabeçote fixo e em movimento circular, com tempo de aplicação de 2 min, intensidade nominal de 1 W/cm^2 , frequência de 1 e 3 MHz. Uma das conclusões desse estudo foi que houve um aquecimento maior no músculo do que no osso com implante. Dessa forma o presente trabalho corrobora com os dados encontrados pelos autores, uma vez que o que concluíram também foi visto nos experimentos Ps e Pi.

O estudo citado anteriormente (REIS et al 2012) afirmou ainda que a aplicação do UST sobre regiões com implante metálico mostrou-se segura. Nesta pesquisa experimental constatou-se que, apesar do osso com implante metálico na maioria dos protocolos aquecer mais que o sem implante, ainda assim não chegou à temperatura que pudesse gerar lesão. Essa informação entra em concordância com diversos autores tais como Garavello (1997), Sun *et al.* (2016) e Cameron (2009).

Observou-se que a aplicação de UST no conjunto *phantoms* de gordura e músculo e osso sem o IM resultou em um maior aquecimento, quando comparado com a aplicação na presença do implante metálico. Acredita-se que pelo fato do implante metálico ser um bom condutor de calor, ele pode ter dissipado o calor para a água no qual o aparato experimental estava imerso, já que o osso com implante no geral também aqueceu menos do que o osso sem implante.

Dessa forma, comparando a aplicação dos protocolos usando o modo contínuo na presença de osso com e sem implante metálico, duas coisas foram observadas: que o músculo aquece mais do que o osso na ausência do IM e que, na presença do implante metálico, o músculo aquece menos do que quando está sem o implante. Isso indica que o calor gerado é rapidamente dissipado pela placa metálica, podendo ter também sido transferido para a água onde está imerso o aparato experimental. Reis et al (2012) também mencionaram que o implante é responsável pela rápida dissipação do calor para o ambiente, durante o processo de obtenção da imagem térmica.

Como pode ser observado na tabela 3 ao se aumentar a intensidade e o tempo de irradiação, a tendência é de aumento na temperatura da interface músculo/osso, isso acontece devido ao fato de que, quanto maior for a intensidade maior será a energia irradiada provocando aumento na temperatura do *phantom* e do osso.

4.2 EXPERIMENTO II (tecido de suíno *ex vivo* com implante metálico)

Este trabalho foi apresentado no CBEB 2020 e será publicado na **Proceedings da IFMBE (International Federation for Medical and Biological Engineering) da Springer**. Ele relata os resultados após aplicação do UST em tecido de suíno *ex vivo* na “situação mais desfavorável possível”: modo contínuo; 1 MHz de frequência; 2 W/cm² de intensidade; por 10 minutos e com transdutor estacionário. Pretende-se no futuro, como continuidade, realizar esse procedimento com transdutor em movimento, seguindo os mesmos parâmetros dos *phantoms*.

Thermal Effect of Therapeutic Ultrasound on Muscle-Bone Interface of Swine Tissue (*Sus Scrofa Domestica*) with Metallic Implant

L.E. Maggi², V.L. Souza¹, S.O. Moura², C.K.B.F. Nogueira², F.S.C. Esteves¹,
D.C.C. Barros¹,
F.G.A. Santos¹, K.A. Coelho³ and W.C.A. Pereira^{2,3}

¹ Universidade Federal do Acre/ Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental, Rio Branco, AC, Brazil

² Universidade Federal do Acre/Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, Rio Branco, AC, Brazil

³ Universidade Federal do Rio de Janeiro/ COPPE /Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Abstract— Therapeutic ultrasound (UST) has thermal biological effects produced by mechanical waves that vibrate continuously to reach temperatures between 40 ° to 45 ° C for about 5 to 10 min to produce beneficial physiological changes. Several researches with the objective of studying the field and the thermal effect of UST in metallic implants, were carried out in phantoms, animals *in vivo* and *ex vivo*. This work aimed to investigate the effects of therapeutic ultrasound on the muscle/bone tissue-swine interface (*Sus scrofa domestica*) with metallic implant through thermography and histopathology. After placing the metallic implant, the piece was sutured, and placed in a controlled thermal bath at 36° C and irradiated with therapeutic ultrasound for 10 minutes, at a frequency of 1 MHz, intensity 2 W/cm², stationary mode. The tissue temperature was measured before and after the application of therapeutic ultrasound. The thermographic image of the piece after the ultrasound application clearly shows the points of greatest heating were outside the metal region, in the lateral musculature with an average of around 49.1 °C. The muscular region above the metallic part had an average temperature of 46.3 °C while the metallic implant had an average temperature of 40.7 °C. Histopathology shows some cell injuries in the skeletal striated fibers (peroneal muscle) in an area where there was a metallic implant. The causes of cell injuries have not been clarified in the current study. It was not possible to diagnose whether the use of UST contributed to the formation of physical cellular lesions found in the fibers.

Keywords— ultrasound, thermography, bone, heat.

INTRODUCTION

Ultrasound (US) is a mechanical wave, with a frequency above 20 kHz, which needs a physical medium to propagate. At high frequencies, such as those used in therapy and aesthetics, they are quickly attenuated and practically do not propagate in the air [1]. The use of ultrasound in physical therapy (frequencies of 1 MHz and 3 MHz) normally occurs for muscle rehabilitation, stimulating cell regeneration by thermal and non-thermal mechanisms. Some of these mechanisms are absorption, micromassage, cavitation and microflow [2]. Therapeutic ultrasound (UST) has thermal and non-thermal biological effects [2, 3]. Thermal effects are produced by continuous mechanical waves [4], aiming at reaching temperatures between 40 °C to 45 °C for about 5 to 10 min, this time period is sufficient to produce beneficial physiological changes as tissue recovery and pain relief [5].

The effects of therapeutic ultrasound on biological tissues can be reversible or not, so knowledge about the indications and contraindications of this therapy is particularly important [5]. However, there is still much controversy regarding the indications and contraindications for the use of therapeutic ultrasound on mammary glands, bone epiphysis and mainly on metallic implants (MI), as some authors preconize and others do not regarding the use of UST in these cases [4].

Several studies with the objective of studying the thermal field after the application of the UST and the impact of metallic implants in this field were carried out in phantoms [6], animals in vivo [3] and ex vivo [7].

This work is an experimental study that aims to investigate the effects of therapeutic ultrasound on muscle-bone interface of swine tissue (*Sus scrofa domestica*) with metallic implant by means of thermography and histopathological analysis.

Material and Methods

Ultrasound application

This study was submitted to the Ethics Committee on the Use of Animals at the Federal University of Acre (CEUA/UFAC). A piece of pork leg, from a butcher shop located at Rio Branco, Acre, was sampled. A surgical approach was performed with a longitudinal incision in the skin. The skin and muscle tissue were folded to expose the tibia. Subsequently, a stainless-steel metallic implant was attached to the flatter part of the bone without osteotomy, 2.5 cm away from the skin. The piece was sutured in the cut region, placed in a controlled thermal bath at 36° C (Nova Etica ®) to mimic normal body temperature and then irradiated with therapeutic ultrasound for 10 minutes, at 1 MHz, intensity given on the display of 2 W/cm², stationary mode (Fig. 1).

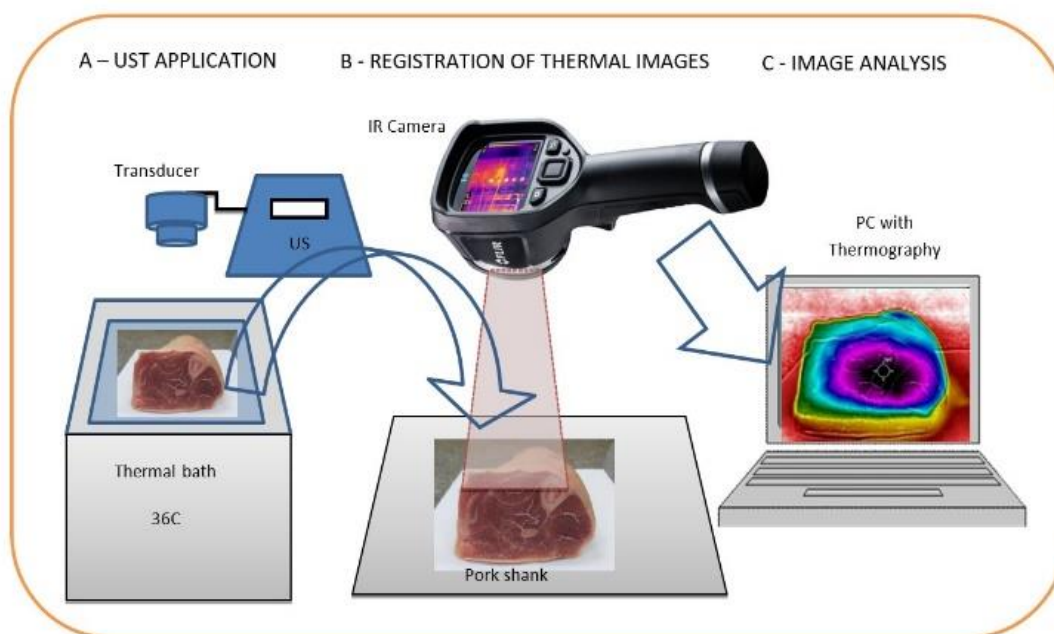


Fig. 1 Experimental setup: A - Application of ultrasound on the sample inside the controlled thermal bath. B - Infrared camera Registers the thermal images. C - Thermal image analysis on a PC with the Flir Tools software

Thermal Images Acquisition

The images were recorded before and after the procedure with an infrared camera with 19.200 (160 × 120) pixels of resolution (Flir 6E, Flir®). According to the manufacturer, the camera has an accuracy of $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ or $\pm 2\%$ at room temperature (10 to 35 $^{\circ}\text{C}$) and has a temperature range of -20 to +250 $^{\circ}\text{C}$, at a focal distance of around 32 cm from the sample surface. These images were then sent to a microcomputer and analyzed with the FLIR TOOLS software, which allows changing the color palette, the temperature scale and selecting a region of interest to view the maximum, minimum and average values of one of the selected area (Fig. 1).

Histopathological analysis

Samples of the tissue were extracted for histopathological study (the gold standard), which was carried out at the Laboratory of Pathology and Support for Wildlife, of the Federal University of Acre (Fig. 2, L – Biopsy site). The samples were placed in containers with 10% formaldehyde, fixed for a period of 48 hours, and cleaved into 1.0 cm³ fragments. To make the slides, the standard laboratory protocol was used, with the usual routine laboratory method described in Zachary 2016 [8] and hematoxylin and eosin staining. The readings of the slides were performed with light microscopy (Leica DM 750 microscope) and photomicrographs performed with the Leica Application Suite EZ 3.4.0 software.

Results and discussion

Thermal Images Acquisition

The thermographic image of the piece (Fig. 2) after UST application clearly shows that the points of greatest heating were outside the metallic region (EI1), in the lateral musculature with an average of approximately 49.1 °C. The muscular region above the metallic part (EI2) showed an average temperature of 46.3 °C while the metallic implant (EI3), an average temperature of 40.7 °C. The region outside the treatment zone (EI4) had an average temperature of 38.3 °C.

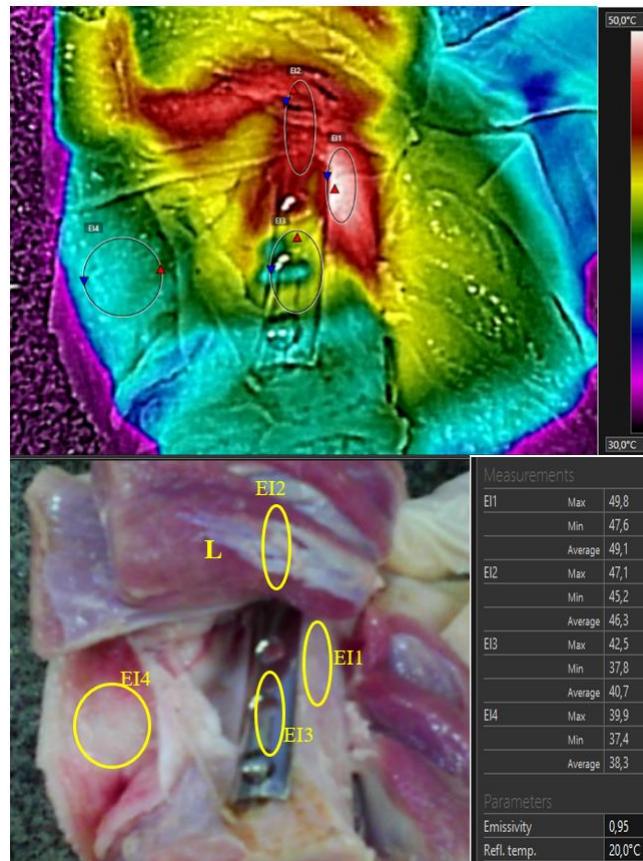


Fig. 2 Infrared (top) and normal (bottom) photos taken with the infrared camera after static heating with ultrasound, for 10 min. and 1 W/cm². EI1 – bone region. EI2 muscle region upper metal. EI3 Metal. EI4 skin and L – Biopsy site without UST treatment

Garavello et al. (1997) carried out an experimental thermographic study on bone and muscle tissues with a metallic implant fixed in rabbits' femur [3]. The study was conducted with 25 animals, divided into 5 groups, and submitted to different intensities of ultrasound irradiation, in which an increase in temperature was observed in all groups and tissues with and without implant. Also, in that study, it was observed that the increase in the temperature of the metallic implant was about half that observed in the muscles. It was also reported that there were no deleterious effects on neighboring tissues [3]. The present work shows something similar, suggesting that the use of UST can be performed in regions with metallic

implant, as the heating obtained in the region where the implant was inserted is within the therapeutic range.

The temperatures observed in Fig. 2 show a greater heating of the adjacent muscle tissue (49.1 °C, E11-Fig. 2) superior to the musculature located above the metallic implant (46.3 °C, E12-Fig. 2). The metallic implant region (40.7 °C, E13-Fig. 2), inserted in the bone tissue, presented a lower temperature than both mentioned muscle tissue. The area outside the treatment zone showed the lowest temperature (38.3 °C, E14-Fig. 2). These temperatures agree with the data obtained by Garavello et al. (1997) that show the temperature in the bone tissue lower than the temperature of the muscle tissue [3].

Huang (2020) performed a simplified theoretical model for temperature evaluation in tissue-implant-bone systems during ultrasound diathermy at frequencies of 1 and 3 MHz and the results did not exceed the therapeutic temperature range. He also showed that implants with higher attenuation coefficients increased the system temperature, while higher density and specific heat decreased the system temperature. Thermal conductivity did not affect the temperature .

Histopathological analysis

The microscopic study of the biopsy slides was carried out in a radius of 1 cm around the hottest point of the tissue indicated by the infrared camera according to the thermal image and the real image of Fig. 2. The histopathological analysis reveals some alterations suggestive of damage thermal effect on skeletal striated fibers (peroneal muscle), which were characterized by longitudinal, transverse, and oblique cracks in the fiber. The presence of cellular debris was also visualized, which are residues of dead cells (Fig. 3 B).

The skeletal muscle of mammals in their normal state has specific structural characteristics. In cytoarchitecture, myofibers are observed organized with peripheral nuclei and surrounded by capillary networks, in addition to transversal striations in the muscle fibers (Fig. 3 A) [8].

An important observation regarding the technique used in the present study is that the UST was applied in a static way and commonly in the clinic it is used dynamically, moving the transducer, to avoid heating above the therapeutic range [10, 11]. It is believed that the temperatures above this range observed in the muscles adjacent to the implant are due to the static way the transducer was used. It is also needed to be considered that since it is an *ex vivo* sample, there is no heat dissipation system carried out by the blood flow, which would reduce local heating in a living animal [3]. Thus, it can be seen in Fig. 3 the existence of fissures and cell debris, indicative of tissue damage, in the region where the temperature was above the therapeutic range, which would not possibly occur with the transducer in motion and/or in living tissue.

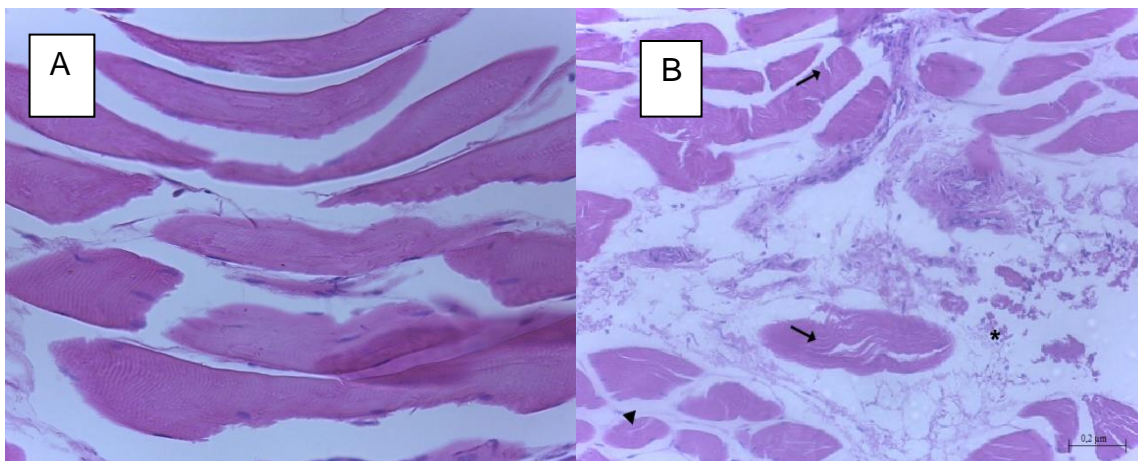


Fig. 3 A – Photomicrograph of L region without UST treatment. Fissures cannot be seen. B – Photomicrograph of the swine muscle tissue with metallic implant submitted to described thermal treatment. Longitudinal and transverse fissures can be seen, starting from the sarcolemma (arrow), as well as oblique (arrowhead), inside the striated skeletal muscle fibers. Cellular debris (asterisk) also observed. (HE, 40X)

CONCLUSION

The application of therapeutic ultrasound in static mode in a pork leg piece produced greater heating in the muscle tissue adjacent to the metallic implant. Less heating is seen in the metallic implant itself, fixed in the bone tissue. We observed evidence of injury to muscle cells; however, this experiment needs to be proven with a larger number of samples and the use of a control group. Subsequent work should also be performed with live tissue and with the transducer in motion.

REFERENCES

1. Shung, K.K. (2006) Diagnostic Ultrasound Imaging and Blood Flow Measurements., 2nd ed. Los Angeles USA: CRC PRESS.
2. Baker, K.G.; Robertson, V.J. and Duck, F.A. (2001) A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects., "Phys. Ther.", vol. 81, no. 7, pp. 1351–1358, doi: 10.1097/JWH.0b013e31820089ba.
3. Garavello, I.; Mazzer, N.; Barbieri, C. H., et al. (1997) Efeitos termicos do ultra-som terapeutico sobre os tecidos osseo e muscular e sobre placa metalica implantada. Estudo experimental termografico em coelhos. Rev. Bras. Ortop., vol. 32, no. 6, pp. 473–479.
4. Miller D. L.; Smith, N. B.; Bailey, M. R., et al. (2012) Overview of therapeutic ultrasound applications and safety considerations, J. Ultrasound Med., vol. 31, no. 4, pp. 623–634, , doi: 10.7863/jum.2012.31.4.623.
5. Omena, T.P.; Fontes-Pereira, A.J.; Costa, R.M., et al. (2017) Why we should care about soft tissue interfaces when applying ultrasonic diathermy: an experimental and computer simulation study," J. Ther. Ultrasound, vol. 5, no. 1, p. 3, doi: 10.1186/s40349-017-0086-y.
6. Sun, M.K.; Shieh J.; Chen, et al., (2016) Effects of an implant on temperature distribution in tissue during ultrasound diathermy," Ultrason. Sonochem., vol. 32, no. FEBRUARY, pp. 44–53, doi: 10.1016/j.ulsonch.2016.02.019.
7. Andrades, A.O.; Mazzanti, A.; Beckmann, D.V., et al., (2014) Heating produced by therapeutic ultrasound in the presence of a metal plate in the femur of canine cadavers, Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec., vol. 66, no. 5, pp. 1343–1350, doi: 10.1590/1678-6676.
8. Zachary, J.F., (2016) Pathologic Basis of Veterinary Disease Expert Consult, 6th ed. Mosby Elsevier.
9. Huang, C.W., (2020) Simplified theoretical model for temperature evaluation in tissue-implant-bone systems during ultrasound diathermy, Appl. Sci., vol. 10, no. 4, doi: 10.3390/app10041306.
10. Draper, D.O.; Castel, J.C., and Castel, D., (1995) Rate of temperature increase in human muscle during 1 MHz and 3 MHz continuous ultrasound., J. Orthop. Sports Phys. Ther., vol. 22, no. 4, pp. 142–150, doi: 10.2519/jospt.1995.22.4.142.

11. Itakura, D.A.; Magas, V., Neves E.B., et al. (2012) Alteração da temperatura nos tecidos biológicos com a aplicação do ultrassom terapêutico: uma revisão, *Fisioter. mov.*, vol. 25, no. 4, pp. 857–868, doi: 10.1590/S0103-51502012000400019.

5 CONCLUSÃO

Foi estudado o aquecimento da interface músculo-osso com e sem implante metálico, usando *phantoms* ultrassônicos e uma amostra *ex vivo* de pernil porcino. Foram usadas intensidades de 1, 1,5 e 2 W/cm², em modo contínuo, varredura linear, tempo de aplicação 5 e 10 min, foi descartado os dados do *phantom* de gordura devido não ser de interesse para esse trabalho.

A principal conclusão é que ocorreu um menor aumento de temperatura do músculo, na presença de implante metálico, tanto para os experimentos com *phantoms* como para o de tecido *ex vivo*. Esse fato é uma boa indicação de que o tratamento por diatermia em pacientes com implantes metálicos não causa danos ao tecido biológico, pelo menos nas doses e com o modelo da placa metálica usada neste estudo.

Mesmo no pior cenário de parâmetros e tipo de varredura o IM não aqueceu acima de 45°C. As causas das lesões celulares podem ter sido pelo modo estacionário e ausência da rede capilar. Não foi possível diagnosticar com certeza se o uso do UST contribuiu para a formação das lesões físicas celulares encontradas nas fibras do tecido *ex vivo*.

Trabalhos futuros podem ser realizados considerando o uso de placas de outras dimensões e o emprego de outros tipos de varredura com o cabeçote.

Sugere-se ao repetir o experimento com *phantoms* verificar quais foram os momentos exatos de super aquecimento para confirmar se isso influencia a temperatura final da região irradiada pelo UST.

6 REFERÊNCIAS

AREIAS, L. M. A. **Simulação do campo térmico gerado por campos acústicos terapêuticos em meios biológicos**. 2015. 91 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

ALENCAR, I. Efeito do ultrassom terapêutico: Uma abordagem geral no aparelho e nas principais contraindicações. p. 18, 2004.

AGNE J. E. **Eletrotermofototerapia Teoria e prática**. 6. ed. Rio de Janeiro: Andreoli, 2013.

ANDRADE FILHO, A. C. DE C. Teletermografia: princípios físicos, fisiológicos e fisiopatológicos da produção da imagem e suas indicações na clínica de dor e reabilitação. **Acta Fisiátrica**, v. 6, n. 2, p. 55–59, 1999.

ANDRADES, A. O. **Aquecimento gerado pelo ultrassom terapêutico em presença de placa óssea metálica no fêmur de cadáveres caninos**. 2013. 49 p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2013.

BAKER, K. G.; ROBERTSON, V. J.; DUCK, F. A. A Review of Therapeutic Ultrasound : Effectiveness Studies. **Physical therapy**, v. 81, n. 7, p. 1351–1358, 2001.

CAMERON M. H. **Agentes físicos na reabilitação da pesquisa à prática**. 3.ed. São Paulo: Elsevier. 2009. cap. 7, p. 176-206.

CTB impedância acústica disponível em: <https://www.ctborracha.com/borracha-sintese-historica/propriedades-das-borrachas-vulcanizadas/propriedades-fisicas/propriedades-acusticas/impedancia-acustica/> Acesso em: 15 nov. 2020.

DRAPER, D.; CASTEL, C.; CASTEL, D. Rate of Temperature Increase in Human Muscle During 1 MHz and 3 MHz Continuous Ultrasound. **Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy**., v. 22, n. 4, p. 142-150 1995.

DEMMINK J.H. & HELDERS P.J.M. The Effect of Moving an Ultrasound Transducer on Tissue Heating. **Advances in Physiotherapy**. v. 5, n. 2, p. 50-56, 2003. DOI: 10.1080/14038190310012638

DE MATHEO L. L. **Mimetização da aparência ultrassonográfica dos ductos lactíferos em phantoms de mama**. 2016. 76 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

DE SÁ, J. N. B. **Desenvolvimento de protocolo para avaliar os padrões de aquecimento gerados por diferentes manobras terapêuticas em ultrassom de fisioterapia**. 2009. 67 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

ERDOGAN, Ö. Biological Aspects and Clinical Importance of Ultrasound Therapy in Bone Healing. **J Ultrasound Med.**, v. 28, p. 765–776, 2009.

EL'PINER, I. E. ultrasound: physical, chemical and biological effects. **Ultrasonics**, v. 5, n. 3, p. 181-185 1966.

FISH, P. **Physics and instrumentation of diagnostic medical ultrasound**. 1.ed., New York: John Wiley & Sons, 1990.

FUIRINI JR, N. LONGO, G.J. Ultra-som. Amparo: KLD – Biosistemas equipamentos eletrônicos Ltda, 1996.

FUIRINI J. N; LONGO, G. J. Ultrassom. 2. ed. [s/l]: Amparo. KLD bioequipamentos eletrônicos, 52 p 2002.

GARAVELLO, I. et al. Efeitos térmicos do ultrassom terapêutico sobre os tecidos ósseo e muscular e sobre placa metálica implantada Estudo experimental termográfico em coelhos. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 32, n. 6, p. 473–479, 1997.

GARCIA, D.R. **Validação da Termografia no Diagnóstico De Lesões Por Esforços Repetitivos / Distúrbios Osteomusculares Relacionado ao Trabalho**. 2004. 125 p. Dissertação (Mestrado em Ciências do Movimento Humano) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

GREY, K. Distribution of treatment time in physiotherapeutic application of ultrasound. **Physiotherapy**. v.89, n.12, 2003.

KITCHEN, S. **Eletroterapia: Prática Baseada em Evidências**. 11. ed. Barueri. SP: Manole, 2003.

KOCAOĞLU, B. et al. The effect of therapeutic ultrasound on metallic implants: A study in rats. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 92, n. 11, p. 1858–1862, 2011.

OLIVEIRA, D. P. **Estudo do campo térmico do ultrassom terapêutico em phantom do terço médio do braço com e sem implantes metálicos**. 2013. 98 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

RODRIGUES, CLÓVES & BORGES, ANTÔNIO. **Introdução à Física Acústica**. 1.ed. São Paulo: Livraria da Física, 2017

REIS, L. C.; COSTA, G. A.; SANTOS, T. Q.; FANTINATI, A. M. M.; COSTA JÚNIOR, J. F. S.; PEREIRA, A. J. F.; CHALCO, M. E. P.; von Krüger, M. A.; PEREIRA, W. C. A.; MAGGI, L. E. **Estudo do Aquecimento na Interface Músculo-Osso com Implante Metálico em Terapia por Ultrassom**. In: XXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2012a, Porto de Galinhas. Anais - CBEB 2012, 2012. p. 2393-2397.

REIS, L. C.; COSTA, G. A.; SANTOS, T. Q.; COSTA JÚNIOR, J. F. S.; CHALCO, M. E. P.; PEREIRA, A. J. F.; FANTINATI, A. M. M.; PEREIRA, W. C. A.; MAGGI, L. E. **Estudo do Aquecimento Produzido por Ultrassom Terapêutico em Osso e Phantoms de Gordura e Músculo**. In: XXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2012b, Porto de Galinhas. Anais - CBEB 2012, 2012. p. 2384-2388.

SANTOS, T. Q.; REIS, L. C.; COSTA, G. A.; FANTINATI, A. M. M.; COSTA JÚNIOR, J. F. S.; PEREIRA, A. J. F.; VON KRÜGER, M. A.; BORBA, C. M.; PEREIRA, W. C. A.; MAGGI, L. E. análise do campo térmico do ultrassom terapêutico em phantom de mama utilizando protocolos de 1 e 3 MHz. In: XXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2012, Porto de Galinhas. Anais - CBEB 2012, 2012. p. 2389-2392.

SELLANI, G. et al. Assessing heating distribution by therapeutic ultrasound on bone phantoms and in vitro human samples using infrared thermography. **Journal of Therapeutic Ultrasound**, v. 4, n. 1, p. 1–10, 2016.

SUN, M. K. et al. Effects of an implant on temperature distribution in tissue during ultrasound diathermy. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 32, p. 44–53, 2016.

ZOHDI, T. I.; KRONE, R. Estimates for the acoustical stimulation and heating of multiphase biotissue. **Biomechanics and Modeling in Mechanobiology**, v. 17, n. 3, p. 717–725, 2017. doi:10.1007/s10237-017-0988-