

O ULTRASSOM TERAPÊUTICO NA MEDULA ESPINHAL ACELERA A REGENERAÇÃO DO NERVO CIÁTICO DE RATOS

THERAPEUTIC ULTRASOUND ON THE SPINAL CORD ACCELERATES REGENERATION OF THE SCIATIC NERVE IN RATS

FERNANDA GUADALLINI JATTE, NILTON MAZZER, VANESSA VILELA MONTE-RASO, ANITA SOFIA LEITE LEONI, CLÁUDIO HENRIQUE BARBIERI

RESUMO

Objetivo: Estudar os efeitos da irradiação ultrassônica de baixa intensidade aplicada sobre a medula espinhal na regeneração do nervo ciático de ratos após lesão por esmagamento controlado, avaliando os resultados pelo índice funcional do ciático (SFI), medido nas imagens vídeo-filmadas das plantas das patas. **Métodos:** Dezoito ratos foram submetidos a esmagamento controlado (do nervo ciático direito e divididos em dois grupos de acordo com o tratamento: Grupo 1 (n=9), irradiação simulada; Grupo 2 (n=9), irradiação efetiva. Irradiação ultrassônica de baixa intensidade foi iniciada no 7º dia pós-operatório e aplicada diariamente por 6 semanas. Imagens das plantas das patas dos animais foram vídeo-filmadas em uma esteira transparente sob velocidade controlada a intervalos semanais até a 6ª semana de irradiação e o correspondente SFI medido com um programa de computador específico. **Resultados:** O SFI durante a 1ª e a 6ª semana de tratamento foi de -59,12 e -12,55 no Grupo 1, e -53,31 e -1,32 no Grupo 2, indicando uma melhora de 79% e 97%, respectivamente, mas as diferenças entre os grupos somente foram significantes ($p < 0,05$) durante a 3ª semana de tratamento. **Conclusão:** Os autores concluem que o ultrassom terapêutico de baixa intensidade estimula a regeneração nervosa, com significância durante a 3ª semana de tratamento. Nível de Evidência II, Prospectivo Comparativo.

Descritores: Ratos. Nervo ciático. Medula espinhal. Síndrome de esmagamento. Terapia por ultrassom.

ABSTRACT

Objective: To study the effects of low intensity ultrasound irradiation applied on the spinal cord on the regeneration of the rat's sciatic nerve after a controlled crush injury, evaluating the functional results of the sciatic functional index as measured on the video recorded images of the foot sole. **Methods:** Eighteen rats were submitted to a controlled crush injury of the right sciatic nerve and divided into two groups according to the treatment: Group 1 (n=9), simulated irradiation; Group 2 (n=9), effective irradiation. Low-intensity ultrasound irradiation was started on the 7th postoperative day and applied daily for 6 weeks. Images of the animals' foot sole were video recorded on a see-through treadmill type walking belt machine at weekly intervals until the 6th week of irradiation and the corresponding sciatic functional index (SFI) was measured with specific software. **Results:** The SFI during the first and last week of treatment was -59.12 and -12.55 in Group 1, -53.31 and -1.32 in Group 2, indicating a 79% and 97% improvement, respectively, but differences between groups were only significant ($p < 0.05$) during the third week. **Conclusion:** The authors conclude that low intensity therapeutic ultrasound enhances nerve regeneration, with significance during the 3rd week of treatment. Level of Evidence: Level II, prospective comparative study.

Keywords: Rats. Sciatic nerve. Spinal cord. Crush syndrome. Ultrasound therapy.

Citação: Jatte FG, Mazzer N, Monte-Raso VV, Leoni ASL, Barbieri CH. O ultrassom terapêutico na medula espinhal acelera a regeneração do nervo ciático de ratos. Acta Ortop Bras. [online]. 2011;19(4):213-8 Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

Citation: Jatte FG, Mazzer N, Monte-Raso VV, Leoni ASL, Barbieri CH. Therapeutic ultrasound on the spinal cord accelerates regeneration of the sciatic nerve in rats. Acta Ortop Bras. [online]. 2011; 19(4):213-8. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

INTRODUÇÃO

Embora ocorra recuperação espontânea na maioria dos casos, a regeneração pós-traumática dos nervos periféricos é um processo muito lento e freqüentemente incompleto,^{1,2} sofrendo a influência de inúmeros fatores, como a idade do paciente, o tipo de trauma, a localização da lesão, o tempo de desnervação, o tipo e o

diâmetro das fibras nervosas acometidas, o método empregado para a reparação nervosa, a intercorrência de agentes químicos, a temperatura, além de outras variáveis individuais.^{3,4}

O ultra-som é um recurso físico amplamente usado na medicina, tanto em equipamentos de diagnóstico, como em aparelhos de terapia.⁵ Ele é definido como vibrações mecânicas acústicas de

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Trabalho realizado no Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Correspondência: Avenida dos Bandeirantes, 3.900 - Ribeirão Preto, SP, Brasil, - CEP: 14049-900. E.mail: fernandagjatte@usp.br

Artigo recebido em 08/01/10, aprovado em 26/05/10.

altas frequências, que produzem efeitos fisiológicos térmicos e não-térmicos⁶ e, desde sua introdução como recurso terapêutico há mais de seis décadas,⁷ tornou-se rapidamente de uso corriqueiro no âmbito da fisioterapia. Seus efeitos benéficos têm sido demonstrados no tratamento de uma grande variedade de condições, com objetivos diversos como promover a cicatrização de úlceras cutâneas,⁸ estimular a neo-vascularização em tecidos isquêmicos,⁹ promover a integração de enxertos de pele total,¹⁰ acelerar a consolidação de fraturas e pseudo-artroses¹¹ e a cicatrização de tendões.¹² De fato, o ultra-som terapêutico induz mudanças fisiológicas teciduais, como a ativação de fibroblastos, a síntese de colágeno e a diminuição de células inflamatórias, por aceleração do metabolismo celular.¹³ Quando aplicado de maneira adequada, favorece também a redução da dor.¹⁴

A regeneração pós-traumática espontânea ou estimulada dos nervos periféricos tem sido motivo de investigações experimentais pelo nosso grupo, a maioria usando o modelo de lesão por esmagamento do nervo ciático de ratos,^{3,15-18} incluídas aí as investigações sobre o uso do ultra-som terapêutico,^{19,20} que confirmaram os resultados de outros autores, segundo os quais a irradiação ultrassônica de fato estimula ou acelera a velocidade de condução²¹ e a própria regeneração dos nervos periféricos.²² A irradiação ultrassônica ou a laser são preferentemente aplicados sobre o segmento lesado,¹⁸⁻²⁰ mas a irradiação em outro local da cadeia nervosa, como a medula,²³ também foi testada com resultados igualmente positivos. Do ponto de vista anatomo-fisiológico, a irradiação no nível medular tem lógica, pois é dirigida aos corpos celulares dos neurônios motores e sensitivos, lá localizados. Entretanto, os dados disponíveis na literatura ainda não permitem aceitar tal fato como definitivo.

Os processos degenerativos e regenerativos dos nervos periféricos podem ser avaliados por estudos histológicos, histomorfométricos, eletrofisiológicos, estudos funcionais raramente sendo usados por motivos óbvios. Entretanto, um método de análise funcional baseado na análise das impressões das pegadas dos animais foi introduzido por De Medinaceli *et al.*^{24,25} possibilitando a medida do chamado *Sciatic Functional Index*, ou Índice Funcional do Ciático (SFI), por meio de uma fórmula matemática, na qual são introduzidos os parâmetros medidos nas impressões das pegadas. O SFI é, na realidade, um indicador negativo do grau de disfunção do nervo ciático do rato, variando de 0 (zero), que indica a função normal, a -100, que corresponde a disfunção completa. A fórmula original de De Medinaceli e colaboradores²⁴ foi mais tarde modificada por Carlton e Goldberg²⁶, que também desenvolveram os índices funcionais dos nervos tibial (TFI) e peroneiro (PFI), e por Bain *et al.*²⁷ que introduziram novos fatores de correção nas fórmulas dos três índices previamente estabelecidos. Foi demonstrado mais tarde que o Índice Funcional do Ciático se correlaciona diretamente com parâmetros histomorfométricos do nervo ciático de ratos durante o processo de regeneração após lesão por esmagamento, podendo ser empregado inclusive como método de avaliação isolado com alto grau de fidedignidade.¹⁵

Foi, portanto, o objetivo da presente investigação testar a hipótese de que a irradiação ultrassônica sobre a medula espinhal estimula ou acelera a regeneração do nervo ciático de ratos após lesão por esmagamento controlado, avaliando os resultados por meio da medida do índice funcional do ciático (SFI) em imagens plantares das patas traseiras dos animais obtidas por vídeo-filmagem.

MATERIAL E MÉTODO

O projeto da pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da instituição de origem dos pesquisadores envolvidos (Protocolo nº 190/2008).

Foram utilizados 20 ratos machos da linhagem Wistar, com peso médio de 250 gramas (variação: 200 – 300 gramas). Durante o período experimental, os animais ficaram acomodados em gaiolas coletivas, com cinco animais cada, com livre acesso à alimentação e água, sendo mantidos por 48 horas no novo ambiente para aclimatação, antes do procedimento cirúrgico. Os animais foram divididos em dois grupos, conforme o tipo de procedimento realizado. Grupo 1: lesão por esmagamento, seguida por tratamento simulado, com o equipamento de ultra-som desligado (n=10); Grupo 2: lesão por esmagamento, seguida por tratamento efetivo com o ultra-som (n=10).

Procedimento operatório:

Os animais foram anestesiados com uma mistura de ketamina a 10% (0,1ml/100g peso corpóreo) e xilazina a 2% (0,07ml/100g peso corpóreo), administrada por via intraperitoneal. Os animais eram posicionados em decúbito lateral esquerdo e fixados à mesa operatória, com o membro pélvico direito para cima, a face lateral da coxa era preparada de maneira rotineira para a operação (tricotomia e anti-sepsia com solução de álcool-iodado a 20%). O nervo ciático direito era abordado através de uma incisão cutânea longitudinal retilínea na face lateral da coxa e exposto no seu comprimento total, desde a emergência por baixo do músculo glúteo máximo até sua trifurcação no nível do joelho. Para produzir a lesão por esmagamento, foi empregado um dispositivo portátil de peso morto,²⁸⁻³⁰ montado com uma carga de 5.000 g. (Figura 1) Exposto o nervo, o animal era posicionado no dispositivo e a carga era aplicada por 10 minutos, compreendendo um segmento de 5 mm de comprimento situado 5 mm abaixo da emergência do nervo.^{15,28} Após a produção da lesão, o animal era removido do dispositivo de esmagamento, o nervo era posicionado em seu leito anatômico e a ferida cirúrgica era suturada. Os pontos eram retirados no 7º dia, quando também era iniciada a irradiação ultrassônica.

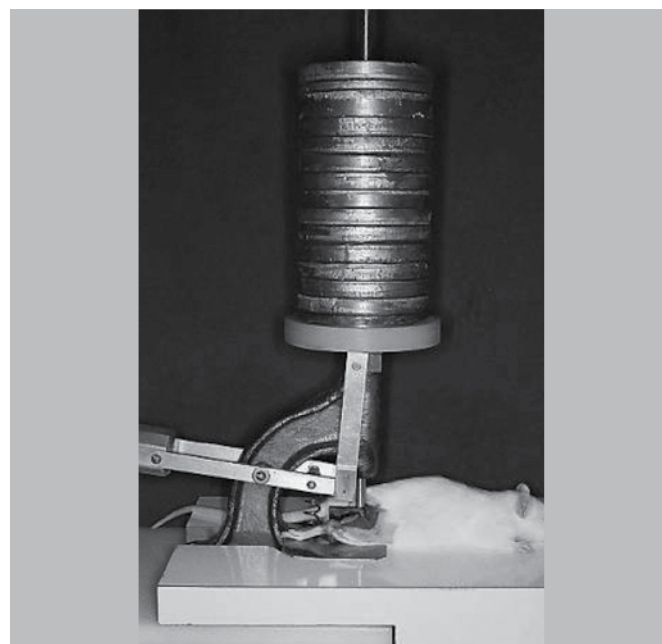


Figura 1. Dispositivo de esmagamento utilizando "peso morto".

Procedimento pós-operatório:

A irradiação ultrassônica foi realizada com um equipamento de ultra-som portátil de uso clínico¹, dotado de um transdutor específico para pequenas áreas (1,35 cm de diâmetro, modo contínuo, frequência de 1 MHz, intensidade de 0,16 W/cm² SATA). Para impedir a interferência dos pêlos, a tricotomia era periodicamente repetida no local de aplicação da irradiação, sendo usado um gel de acoplamento para maximizar o contato do transdutor com a pele da região e facilitar o seu deslizamento. Durante a aplicação, os ratos eram contidos manualmente, sendo tomado cuidado para que o transdutor ficasse permanentemente posicionado a 90° em relação à superfície da região e a sua face de irradiação permanecesse sempre paralela à pele. A irradiação era iniciada no 7º dia pós-operatório e repetida diariamente, sempre a intervalos de 24 horas, até o final da 6ª semana (42º dia), as sessões durando 1 minuto.

A irradiação ultrassônica foi centrada na projeção das vértebras T12, T13 e L1 e ao longo dos segmentos da medula espinal de L3 a L6. No Grupo 1, a irradiação foi simulada, sendo realizada com o equipamento desligado, de sorte que houve apenas o efeito da massagem externa; no Grupo 2, a irradiação foi efetiva, com o equipamento ligado conforme as especificações acima mencionadas. Para ambos os grupos, foi utilizado o gel de acoplamento e a técnica dinâmica de irradiação, com o transdutor sendo continuamente movimentado em círculos de cerca de 1 cm de diâmetro sobre a região.

Vídeo-filmagem e análise das pegadas:

As pegadas dos animais de ambos os grupos foram filmadas numa esteira transparente motorizada, desenhada em nosso laboratório e construída por uma empresa local especializada^{2*}. (Figura 2) A esteira transparente, feita de policarbonato flexível, corre entre dois cilindros horizontalmente posicionados e paralelos entre si e sobre uma placa de acrílico transparente, denominada área de trabalho. Um dos cilindros é impulsionado por um motor elétrico de dupla voltagem controlado por um potenciômetro, permitindo regular a velocidade da esteira de 0 a 14 m/min, de forma que o animal em análise caminha permanentemente sobre a área de trabalho, na tentativa de correr sobre a esteira em movimento; na presente investigação, foi empregada a velocidade de 3 m/min. Um espelho está fixado por baixo da área de trabalho, a um ângulo de 45° entre esta e uma câmera de vídeo tipo webcam conectada a um computador e fixada a uma distância ajustável de modo a focar o espelho horizontalmente. A área de trabalho está toda fechada com placas opacas de acrílico para impedir a visão externa ao animal. Antes de adentrar a área de trabalho, o animal é colocado em uma antecâmara fechada, a passagem de uma para a outra sendo feita através de uma portinhola tipo guilhotina. No lado oposto da esteira, outra portinhola tipo guilhotina dá acesso a uma câmara escura, para a qual o animal corre no final do teste. (Figura 3)

Antes do procedimento operatório, os animais eram treinados a caminhar na esteira por meio de tentativas repetidas. Quando eram capazes de caminhar sem titubeio, era obtido o registro pré-operatório das pegadas, que eram capturadas, identificadas, armazenadas e processadas no computador, empregando o programa Adobe Photoshop® versão CS3 para adequação das dimensões ao programa de medida do SFI. As imagens pós-operatórias foram obtidas a intervalos semanais a partir da primeira semana após o início da irradiação ultrassônica (2ª, 3ª, 4ª, 5ª, 6ª e 7ª semanas da operação), sendo igualmente identificadas, armazenadas e

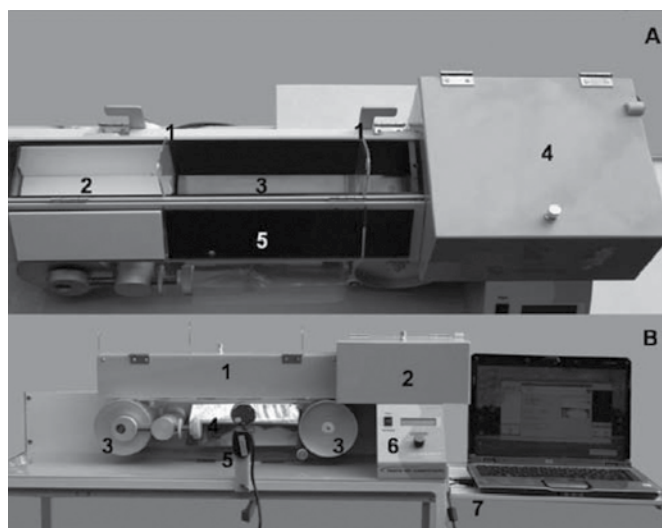


Figura 2. Esteira para captura de marcha por método de filmagem com controle de velocidade. A) Vista da área de trabalho: 1- porta guilhotina para contensão dos animais, 2- área de espera, 3- área de trabalho, 4- casinhola; “abrigo do animal”, 5- cobertura em acrílico fosco ante-reflexo. B) Vista geral da esteira: 1- corredor de marcha; “área de espera e de trabalho”, 2- casinhola; “abrigo do animal”, 3- cilindros, 4- espelho, 5- suporte para webcam, 6- motor, potenciômetro, display e chave liga-desliga, 7- suporte para o computador portátil.



Figura 3. Visualização do Programa (AFNP), utilizado para avaliação funcional da marcha.

processadas. O SFI era calculado pela medida dos parâmetros comprimento da pegada (PL, de print length), abertura total dos dedos (TS, de toe spread, distância transversal entre o 1º e o 5º dedos) e abertura dos dedos intermediários (IT, de intermediate toes), distância transversal entre o 2º e o 4º dedos. Os pontos de referência de cada parâmetro eram simplesmente marcados com o mouse, um parâmetro de cada vez, e o SFI era automaticamente calculado pelo programa desenvolvido especificamente para esse fim (Análise Funcional dos Nervos Periféricos – AFNP)^{31,32} segundo a fórmula proposta por Bain *et al.*²⁷, como se segue:

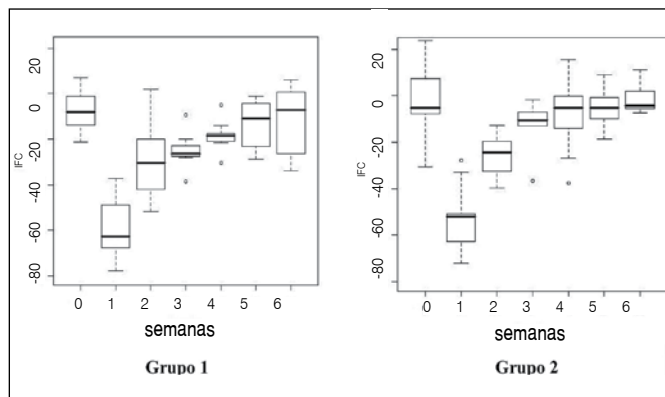
$$SFI = -38,3 \times \frac{EPL - NPL}{NPL} + 109,5 \times \frac{ETS - NTS}{NTS} + 13,3 \times \frac{EIT - NIT}{NIT} - 8,8$$

Os resultados do SFI foram comparados entre os grupos utilizando um modelo de regressão linear com efeitos mistos (efeitos aleatórios e fixos), no nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$), empregando o software SAS® 9.0, e do software R.³³

RESULTADOS

De modo geral, os animais toleraram bem tanto a anestesia como o procedimento cirúrgico, mas dois (um por grupo) foram descartados por apresentarem problemas de equilíbrio durante a análise da marcha pós-operatória, restando então nove animais por grupo. Em ambos os grupos, na primeira semana de irradiação ultrassônica, os animais apresentaram dificuldade de deambulação, com o pé caído, adução dos dedos, apoio da pisada na região do calcanhar e incapacidade de realizarem o *pushoff* na troca de apoio de uma pata para outra, o que causava uma pegada com aparência mais alongada, compatível com grave disfunção do nervo ciático. Nas semanas seguintes, os animais recuperaram gradualmente a capacidade de se apoiarem no membro operado com os dedos espalhados.

Foram analisadas e medidas 126 (7x18) filmagens da marcha, incluindo a avaliação pré-operatória (semana 0) e da 1ª à 6ª semanas de irradiação ultrassônica. Na avaliação pré-operatória (semana 0), todos os animais apresentavam as pegadas dentro dos parâmetros normais, o valor médio do SFI sendo de -7,23 (variação: -21,34 a 6,94) no Grupo 1 e de -0,99 (variação: -30,71 a 23,64) no Grupo 2, a diferença entre ambos não sendo significativa ($p > 0,05$). (Figura 4, Tabela 1)



Figuras 4. Boxplot geral dos grupos Sham (Grupo 1) e tratado com ultra-som (Grupo 2) durante as 6 semanas de irradiação ultrassônica.

Após uma semana de irradiação (semana 1, correspondente à 2ª semana pós-operatória), o valor médio do SFI no Grupo 1 foi de -59,12 (variação: -77,65 a -37,23) e no Grupo 2, de -53,31 (variação: -72,12 a -27,73), a diferença entre ambos não sendo significativa ($p > 0,05$).

Após a segunda semana de irradiação, as imagens das pegadas tornaram-se mais nítidas e o valor médio do SFI no Grupo 1 foi de -28,37 (variação: -51,63 a 2,11) e no Grupo 2, de -26,09 (variação: -39,87 a -12,64), a diferença entre ambos não sendo igualmente significantes ($p > 0,05$).

Na 3ª semana de irradiação, o valor médio do SFI no Grupo 1 foi de -24,96 (variação: -38,47 a -9,43) e no Grupo 2, de -12,13 (variação: -36,49 a -1,76), a diferença entre os grupos sendo agora significantes ($p < 0,05$).

No Grupo 1, o SFI aumentou para -18,3 (variação: -30,23 a -4,84), -13,67 (variação: -28,66 a -1,01) e -12,55 (variação: -33,72 a 6,06) e no Grupo 2, para -8,82 (variação: -37,46 a 15,5), -4,44 (variação: -18,84 a 9,04) e -1,32 (variação: -7,32 a 10,99), na 4ª, 5ª e 6ª semanas de irradiação, respectivamente. Apesar de os valores médios do SFI terem ficado dentro da normalidade (0 a -10) no Grupo 2 e as diferenças entre os períodos e os grupos serem notáveis, elas não foram estatisticamente significantes ($p > 0,05$).

DISCUSSÃO

A regeneração pós-traumática dos nervos periféricos é um fenômeno espontâneo bem conhecido, cuja velocidade está estimada entre 1 e 2 mm por dia, em humanos. Entretanto, em lesões muito próximas à raiz do membro e distantes dos órgãos efetores (músculos, organelas sensitivas, vasos sanguíneos), o período de regeneração é muito longo e, ao tempo em que os axônios regenerados os atingem, um importante contingente deles já se encontra degenerado, ocasionando uma recuperação funcional deficiente. Assim, a aceleração do processo regenerativo por qualquer meio seria um grande benefício, na medida em que os órgãos efetores serão atingidos pelos axônios quando ainda se encontra em boas condições, o que contribui para uma recuperação mais completa. Tal fato justifica a pesquisa por recursos que possam efetivamente estimular e acelerar a regeneração dos nervos.

Recursos físicos como o ultra-som tem sido pesquisado, mas apesar de resultados encorajadores, ele ainda não é empregado rotineiramente no processo de reabilitação de humanos portadores

Tabela 1. Médias, desvios padrão, estimativas, p - valor, intervalo de confiança (IC), limite inferior (LI) e limite superior (LS), valores mínimo, mediana e máximo do IFC na semana pré-operatória, primeira a sexta semanas de irradiação ultrassônica respectivamente.

Semana	Grupo	Médias	Desvio Padrão	Estimativas	p - valor	IC (95%)- LI LS	Mínimo	Mediana	Máximo
Pré	g2	-0,99	16,18	6,24	0,28	-5,24 17,72	-30,71	-5,24	23,64
	g1	-7,23	9,33						
1	g2	-53,31	15,42	5,81	0,32	-5,67 17,29	-72,12	-51,91	-27,73
	g1	-59,12	14,56						
2	g2	-26,09	8,8	2,28	0,69	-9,2 13,76	-39,87	-24,47	-12,64
	g1	-28,37	17,6						
3	g2	-12,13	9,82	12,83	0,03	1,35 24,31	-36,49	-10,67	-1,76
	g1	-24,96	7,7						
4	g2	-8,82	15,95	9,47	0,1	-2,01 20,95	-37,46	-5,31	15,5
	g1	-18,3	6,73						
5	g2	-4,44	8,69	9,23	0,11	-2,25 20,71	-18,84	-5,26	9,04
	g1	-13,67	11,16						
6	g2	-1,32	5,98	11,23	0,06	-0,25 22,71	-7,32	-4,2	10,99
	g1	-12,55	15,15						

de lesões dos nervos periféricos, a julgar pela relativa ausência de relatos na literatura. De fato, a maioria das investigações sobre o emprego desses recursos para a estimulação da regeneração de nervos periféricos lesados, inclusive do ultra-som, é experimental em animais, com a agravante de que há grande variabilidade dos parâmetros de irradiação (potência, dose, tempo, etc.), bem como do local anatômico de tratamento. A maioria das investigações é direcionada ao tratamento no local da lesão, mas a irradiação na medula espinhal também é utilizada.

A irradiação ultrassônica na medula espinhal ou no gânglio da raiz posterior teoricamente encontra amparo no fato de que é nesses locais que estão os corpos celulares dos neurônios motores e sensitivos, nos quais ocorre a parte principal do processo regenerativo. De fato, a regeneração dos nervos periféricos depende principalmente da resposta neuronal ao trauma ou doença, sendo que o neurônio se prepara para a produção do axoplasma, inclusive concentrando os corpúsculos de Nissl, ricos em RNA, próximo à saída do axônio, que é a via para o axoplasma produzido chegar aos órgãos efetores. Por outro lado, a regeneração funcional depende, também, da regeneração morfológica dos axônios lesados, o que justifica a irradiação ultrassônica e a aplicação de outros recursos também nesse nível.^{3,18,19} Na presente investigação, foi testada a hipótese de que a irradiação ultrassônica na altura do neuro-eixo, compreendendo a medula espinhal e os gânglios sensitivos, estimula ou acelera a regeneração do nervo ciático de ratos após lesão por esmagamento controlado, avaliando os resultados por meio da análise funcional da marcha e medida do índice funcional do ciático.

O modelo experimental utilizado foi o do nervo ciático do rato, considerado adequado para os propósitos da investigação, pois esse animal é conhecido pela sua capacidade de regeneração nervosa rápida, o que favorece os estudos de curta duração.³⁴ A lesão por esmagamento com carga controlada também é adequada, pois não causa ruptura dos envoltórios mais externos do nervo (epineuro), que mantém sua estrutura básica, sem os inconvenientes, por exemplo, de uma lesão por secção seguida de sutura, cuja funcionalidade depende de variáveis de difícil controle (procedimento microcirúrgico, treinamento do cirurgião). Na presente investigação, a lesão foi produzida com um equipamento de peso morto, desenvolvido no nosso laboratório e empregado em investigações anteriores,²⁸ com esse equipamento, a carga aplicada não diminui com o tempo, propiciando alta reprodutibilidade nas lesões por esmagamento controlado. A irradiação ultrassônica foi empregada com parâmetros de uso corrente na prática clínica, incluindo a baixa potência (0,16 W/cm²), mais adequada à estimulação da regeneração nervosa, conforme resultados obtidos em investigações nas quais a irradiação fora aplicada no local da lesão,^{22,34} a pequena área irradiada (1,43 cm²), que possibilitou a concentração das ondas sobre a coluna vertebral, e a baixa frequência (1 MHz), que melhor atinge os tecidos mais profundos, como é o caso da medula espinhal e do gânglio sensitivo, protegidos pelas vértebras.

Praticamente em todas as investigações anteriores, as pegadas dos animais foram obtidas por impressão, seja com tinta sobre papel, seja com líquido revelador sobre filme radiográfico virgem.^{3,19,20,30,35} Na presente investigação, as imagens das pegadas foram obtidas por vídeo-filmagem numa esteira móvel com velocidade controlada, desenvolvida no nosso laboratório especificamente para a análise da marcha de ratos. Esse equipamento já havia sido testado em experimento anterior, tendo mostrado maior fidelidade na obtenção das imagens das pega-

das e maior facilidade na realização das medidas dos parâmetros e do próprio SFI, em comparação com os métodos de impressão.³⁶

Já está demonstrado que a avaliação funcional pelo método do SFI, como empregada em várias investigações anteriores e agora nesta, é muito confiável, tendo em vista sua forte correlação com a avaliação morfológica e morfométrica. De fato, é uma medida indireta da função da pata traseira do animal, mas provavelmente também fornece uma medida da função global do nervo ciático, pois a função motora durante a marcha depende ao menos em parte da sensibilidade plantar. O SFI é calculado por meio de uma fórmula matemática relativamente complexa, mas suficientemente testada ao longo de anos desde sua introdução e posteriores modificações, correlacionando-se muito bem com o aspecto clínico da pata do animal e incluindo todas as permutações possíveis.^{15,27}

Entretanto, como já é um fato bem conhecido, o SFI quase nunca é igual a zero (0) nas patas normais e com o nervo ciático intacto, oscilando em torno do 0 numa faixa relativamente larga, o que provavelmente indica que o método não é inteiramente preciso; na presente investigação, ele oscilou entre 0 e -10. Por outro lado, os valores obtidos nos períodos pós-operatórios mostraram claramente que ocorreu uma recuperação funcional nos dois grupos, tanto no dos animais efetivamente irradiados (Grupo 2), como nos animais com irradiação simulada (Grupo 1), mas ligeiramente melhor no Grupo 2, com valores do SFI dentro da faixa de normalidade (-10 a 0), tendo como referência os valores da avaliação pré-operatória. Todavia, as diferenças entre os Grupos 1 e 2 somente foram significantes na terceira semana de irradiação, não havendo diferença nem antes nem depois, inclusive na sexta e última semana de tratamento. O SFI não foi medido na primeira semana pós-operatória, pois todos os animais apresentavam deformidade grosseira da pata operada, o que inviabiliza a análise dos parâmetros necessários e propicia baixo índice de reprodutibilidade dos resultados.³⁷

As diferenças não significantes entre os Grupos 1 e 2 indicam que os efeitos da irradiação ultrassônica, embora positivos, não são pronunciados, menos ainda espetaculares. Este fato já havia sido observado em investigação anterior, na qual a irradiação foi principiada já no primeiro dia pós-operatório e direcionada ao local da própria lesão,¹⁹ com resultados avaliados somente até a terceira semana. De fato, o SFI nesta como naquela investigação foi virtual e estatisticamente o mesmo para os dois grupos em todas as semanas, com exceção da terceira, mas melhorou mais acentuadamente para o Grupo 2, com uma diferença de 97% entre a primeira e a última avaliação pós-operatória, em contraste com uma diferença de 79% para o Grupo 1 no mesmo período. Embora improvável, pode-se especular que o grau de regeneração e recuperação funcional não foi melhor com a irradiação ultrassônica, porque esta não foi aplicada também no local da lesão, assim não contribuindo para acelerar a reparação dos neuro-tubos e não propiciando melhores condições para o crescimento dos axônios até os órgãos efetores.

O mecanismo pelo qual a irradiação ultrassônica possa influenciar a regeneração de um nervo periférico lesado ainda não está esclarecido e não foi o propósito da presente investigação. Embora de natureza meramente especulativa, o mecanismo poderia envolver, pelo menos, o efeito térmico, com conseqüente vasodilatação, com neoformação vascular e melhora da irrigação local, e a liberação de mediadores químicos e quimiotáticos que estimulam a produção de axoplasma.

CONCLUSÃO

A despeito das limitações da metodologia empregada, os autores concluem que o ultra-som terapêutico aplicado sobre a medula espinhal influencia positivamente a regeneração dos nervos peri-

féricos. Esse efeito pode ser útil no tratamento de uma variedade de patologias em humanos, com a vantagem que a baixa potência é virtualmente inofensiva. Doses mais adequadas para humanos ainda precisam ser estabelecidas.

REFERÊNCIAS

- Rodrigues FJ, Valero-Cabré A, Navarro X. Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2004;1:177-85.
- Azze RJ, Mattar Júnior R. Lesões dos nervos periféricos. In: Pardini AG. *Traumatismos da mão*. Rio de Janeiro: Medsi, 2000. p. 381-400.
- Mendonça AC, Barbieri CH, Mazzer N. Directly applied low intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Methods*. 2003;129:183-90.
- Sunderland S. *Nerve and nerve injury*. 2nd ed. London: Churchill Livingstone; 1985.
- Dalecki D. Mechanical bioeffects of ultrasound. *Annu Rev Biomed Eng*. 2004;6:229-48.
- Spadaro JA, Albanese SA. Application of low-intensity ultrasound to growing bone in rats. *Ultrasound Med Biol*. 1998;24:567-73.
- Warden SJ, McMeeken JM. Ultrasound usage and dosage in sports physiotherapy. *Ultrasound Med Biol*. 2002;28:1075-80.
- Dyson M, Suckling J. Stimulation of tissue repair by ultrasound: a survey of the mechanisms involved. *Physiotherapy*. 1978;64:105-8.
- Hogan RD. The effects of ultrasound on microvascular hemodynamics in skeletal muscle: effects on arterioles. *Ultrasound Med Biol*. 1982;8:45-55.
- Amâncio AC, Barbieri CH, Mazzer N, Garcia SB, Thomazini JA. Estimulação ultra-sônica da integração de enxertos de pele total: estudo experimental em coelhos. *Acta Ortop Bras*. 2006;14:276-9.
- Carvalho DC, Cliquet Júnior A. A ação do ultra-som terapêutico de baixa intensidade em ossos de ratas osteopênicas. *Acta Ortop Bras*. 2003;11:17-24.
- Silveira SD. O ultra-som terapêutico no processo cicatricial de tendões flexores digitais superficiais em cães [dissertação]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2003.
- Olsson DC, Martins VM, Martins E, Mazzanti A. Estimulação ultra-sônica pulsada e contínua no processo cicatricial de ratos submetidos à celiotomia. *Cienc Rural*. 2006;36:865-72.
- Steiss JE, Adams CC. Effect of coat on rate of temperature increase in muscle during ultrasound treatment of dogs. *Am J Vet Res*. 1999;60:76-80.
- Oliveira EF, Mazzer N, Barbieri CH, Selli M. Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. *J Reconstr Microsurg*. 2001;17:69-75.
- De Sá JM, Mazzer N, Barbieri CH, Barreira AA. The end-to-side peripheral nerve repair. Functional and morphometric study using the peroneal nerve of rats. *J Neurosci Methods*. 2004;136:45-53.
- Oliveira EF, Mazzer N, Barbieri CH, DelBel EA. The use of a muscle graft to repair a segmentary nerve defect. An experimental study using the sciatic nerve of rats as model. *J Neurosci Methods*. 2004;133:19-26.
- Endo C, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. A laserterapia de baixa intensidade acelera a regeneração de nervos periféricos. *Acta Ortop Bras*. 2008;16:305-10.
- Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of peripheral nerves? *J Neurosci Methods*. 2005;142:185-92.
- Monte-Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VPS. Os efeitos do ultra-som terapêutico nas lesões por esmagamento do nervo ciático de ratos: análise funcional da marcha. *Rev Bras Fisioter*. 2006;10:113-9.
- Hong CZ, Liu HH, Yu J. Ultrasound thermotherapy effect on the recovery of nerve conduction in experimental compression neuropathy. *Arch Phys Med Rehabil*. 1988;69:410-4.
- Mourad PD, Lazar DA, Curra FP, Mohr BC, Andrus KC, Avellino AM et al. Ultrasound accelerates functional recovery after peripheral nerve damage. *Neurosurgery*. 2001;48:1136-40.
- Rochkind S, Nissan M, Alon M, Shamir M, Salame K. Effects of laser irradiation on the spinal cord for the regeneration of crushed peripheral nerve in rats. *Lasers Surg Med*. 2001;28:216-9.
- De Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol*. 1982;77:634-43.
- De Medinaceli L, DeRenzo E, Wyatt RJ. Rat sciatic functional index data management system with digitized input. *Comput Biomed Res*. 1984;17:185-92.
- Carlton JM, Goldberg NH. Quantitatively integrated muscle function following reinnervation. *Surg Forum*. 1986;37:611-12.
- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg*. 1989;83:129-38.
- Mazzer PY, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. Avaliação qualitativa e quantitativa das lesões agudas por esmagamento do nervo isquiático do rato. *Acta Ortop Bras*. 2006;14:220-5.
- Gasparini ALP, Barbieri CH, Mazzer N. Correlação entre diferentes métodos de avaliação funcional da marcha de ratos com lesão por esmagamento do nervo isquiático. *Acta Ortop Bras*. 2007;15:285-9.
- Pachioni CAS, Mazzer N, Barbieri CH, Fasan VPS, Padovani CR, Moro CA et al. Lesão por esmagamento do nervo isquiático de ratos: Estudo da vascularização. *Acta Ortop Bras*. 2006;14:203-7.
- Selli MF. Desenvolvimento de um método computadorizado para avaliação das lesões nervosas periféricas através da análise da marcha: modelo experimental em ratos [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 1998.
- Yamasita AC, Mazzer N, Barbieri CH. Desenvolvimento de um software flexível no estudo de regeneração nervosa periférica. *Acta Ortop Bras*. 2008;16:177-9.
- SAS/STAT® User's Guide, Version 9.0, Cary, NC, USA: SAS Institute Inc., 2002. R version 2.8.0. Copyright (C) 2008. The R Foundation for Statistical Computing.
- Monte-Raso VV, Moro CA, Mazzer N, Fonseca MCR, Fasan VPS, Barbieri G et al. Uma nova pinça regulável para produção de lesões por esmagamento do nervo ciático de ratos. *Acta Ortop Bras*. 2009;17:236-8.
- Varejão AS, Cabrita AM, Meek MF, Bulas-Cruz J, Filipe VM, Gabriel RC et al. Ankle kinematics to evaluate functional recovery in crushed rat sciatic nerve. *Muscle Nerve*. 2003;27:706-14.
- Monte-Raso VV, Barbieri G, Mazzer N, Fonseca M de C, Barbieri CH. A new treadmill-type motorized walking belt machine for video recording of the rat's gait and sciatic functional index measurement. A comparative study with other methods. *J Neurosci Methods*. 2010;189:23-9.
- Monte-Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Yamasita AC, Barbieri G. Is the Sciatic Functional Index always reliable and reproducible? *J Neurosci Methods*. 2008;170:255-61.