

RESPOSTAS BIOLÓGICAS DO TECIDO ÓSSEO À TERAPIA COM LASER OU ULTRASSOM – REVISÃO DE LITERATURA

BIOLOGICAL RESPONSES OF THE BONE TISSUE TO LASER OR ULTRASOUND THERAPY - LITERATURE REVIEW

Lisiane Piazza¹, Thiele de Cássia Libardoni², Eduardo Luiz Stapait³ e Gilmar Moraes Santos⁴

¹ Fisioterapeuta; mestranda em Ciências do Movimento Humano na Universidade do Estado de Santa Catarina – Udesc, Florianópolis, Santa Catarina.

² Fisioterapeuta graduada pelo Instituto Cenecista de Ensino Superior de Santo Ângelo – Iesa, Santo Ângelo, Rio Grande do Sul.

³ Fisioterapeuta; mestrando em Fisioterapia na Universidade do Estado de Santa Catarina – Udesc, Florianópolis, Santa Catarina.

⁴ Fisioterapeuta; mestre em Ciência do Movimento Humano, pela Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria, Rio Grande do Sul; doutor em Fisioterapia, pela Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, São Paulo; coordenador do Mestrado em Fisioterapia na Universidade do Estado de Santa Catarina – Udesc, Florianópolis, Santa Catarina.

Data de entrada do artigo: 28/09/2011

Data de avaliação do artigo: 16/11/2011

Data de aceite do artigo: 21/11/2011

RESUMO

As terapias por meio do *laser* ou ultrassom têm sido investigadas nas últimas décadas por seus efeitos estimulatórios na formação óssea. Tendo em vista que estes dois instrumentos são amplamente utilizados na prática clínica do fisioterapeuta, torna-se importante conhecer seus efeitos quando aplicados aos diversos tecidos do corpo humano, dentre eles o tecido ósseo. Sendo assim, este estudo teve como objetivo revisar a literatura sobre os efeitos da terapia a *laser* ou ultrassom sobre o tecido ósseo. Para isto, foram pesquisados artigos de revistas acessadas na base de dados do portal periódicos da Capes¹, além de dissertações realizadas na área, publicados nos últimos 15 anos nas línguas inglesa e portuguesa, utilizando os unitermos "terapia a *laser*", "terapia por ultrassom", "ultrassom", "*laser*", "tecido ósseo" e "osso". Segundo os estudos, a terapia a *laser* possui efeitos bioestimulatórios nas células osteoblásticas, que aceleram a regeneração óssea. Embora não seja consenso entre os estudos, inúmeros autores também têm observado efeitos benéficos do ultrassom no tratamento do tecido ósseo, o qual encurta o período de cicatrização óssea, devido à promoção da ossificação endocondral.

Palavras-chave: osso; *laser*; terapia por ultrassom.

ABSTRACT

Therapies using laser or ultrasound has been investigated in recent decades for its stimulatory effects on bone formation. Considering that these instruments are widely used in clinical practice of physiotherapists, it's important to understand its effects when applied to various body tissues, including the bone tissue. Therefore, this study aimed to review the literature on the effects of laser or ultrasound therapy on bone tissue. To this end, we surveyed journal articles accessed in the database of Capes periodicals portal, as well as dissertations, published in the last 15 years in English and Portuguese using the keywords laser therapy, ultrasound therapy, ultrasound, laser, bone tissue and bone. According to studies, laser therapy has biostimulators effects on osteoblastic cells that accelerate bone regeneration. Although there isn't consensous among the studies, several authors have also observed beneficial effects of ultrasound in the treatment of bone tissue, which shortens the period of bone healing, due to the promotion of endochondral ossification.

Keywords: bone; lasers; ultrasonic therapy.

¹ Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

1. INTRODUÇÃO

O *laser* de baixa potência tem sido estudado nas últimas décadas como um acelerador do processo de cicatrização por ter um efeito bioestimulador sobre diferentes tipos celulares ⁽¹⁾. Este instrumento tem demonstrado efeitos benéficos no reparo e no desenvolvimento ósseo, assim como melhora na vascularização e na proliferação celular, aumentando a resistência mecânica do novo tecido ósseo e ampliando a calcificação da matriz óssea ⁽²⁾.

Adicionalmente, o ultrassom pulsado de baixa intensidade tem sido amplamente investigado como um novo estimulador de formação óssea. Embora o seu mecanismo ainda não seja completamente conhecido e definido, sabe-se que o ultrassom estimula vários estágios no processo de regeneração óssea ⁽³⁾. Sendo assim, a investigação clínica destas tecnologias torna-se necessária para indicações de tratamentos relacionados ao tecido ósseo.

Levando em consideração que estes dois instrumentos são fartamente utilizados na prática clínica da fisioterapia, torna-se necessário conhecer os seus efeitos quando aplicados aos diversos tecidos do corpo humano, dentre eles o tecido ósseo.

Diante do contexto, este estudo teve como objetivo revisar a literatura sobre os efeitos da terapia a *laser* ou ultrassom sobre o tecido ósseo.

2. MÉTODOS

Para a realização deste estudo, foram pesquisados artigos das revistas que são acessadas por meio da base de dados do portal de periódicos da Capes, além de dissertações realizadas dentro da área. Os unitermos usados para a busca foram os seguintes: "terapia a *laser*", "terapia por ultrassom", "ultrassom", "*laser*", "tecido ósseo" e "osso" nas línguas portuguesa e inglesa.

Por meio deste procedimento de busca, foram identificados inicialmente 269 artigos utilizando o unitermo "terapia a *laser*", 247 com o unitermo "terapia por ultrassom", 269 somente com "ultrassom", 270 com o unitermo "*laser*", 251 com "tecido ósseo" e 270 com o unitermo "osso", considerando-os nas línguas portuguesa e inglesa. Posteriormente, foi feita uma nova seleção através dos títulos dos artigos, incluindo então os que estavam relacionados aos efeitos da terapia a *laser* ou ultrassom sobre o tecido ósseo de seres humanos ou animais publicados nos últimos 15 anos. Em seguida, foi realizada a leitura dos resumos que se enquadraram nos critérios de

inclusão, sendo selecionados, ao final, 28 artigos, dos quais foi então realizada a leitura na íntegra. Após esta etapa, 24 artigos atenderam aos critérios de inclusão. Adicionalmente, foram incluídas ainda duas dissertações referentes ao assunto pesquisado, totalizando, portanto, 26 estudos ao término do processo de seleção.

3. RESULTADOS

3.1 Efeitos da terapia a *laser* sobre o tecido ósseo

Com o objetivo de identificar as células-alvo responsáveis por acelerar a regeneração óssea durante a laserterapia, Ozawa *et al.* ⁽⁴⁾ utilizaram células da calvária de ratos que foram irradiadas com *laser* GaIAs pulsado, com comprimento de onda de 830nm, 500mW e potência de 3,87J/cm², durante dez minutos de exposição, repetindo o procedimento no primeiro, sexto, 12^o e 15^o dia após o subcultivo celular. Nos estágios iniciais, o *laser* parece ter estimulado significativamente a proliferação celular, a atividade da fosfatase alcalina e a expressão gênica da osteocalcina. Após 21 dias, houve um aumento (1,7 vezes) de células e (3,4 vezes) de nódulos ósseos. Sendo assim, é possível concluir que a laserterapia pode incentivar a multiplicação celular por meio das células formadoras dos nódulos ósseos, os osteoblastos, além de estimular a diferenciação celular, conduzindo a uma ampliação de células diferenciadas que aumentam a quantidade de osso formado.

Saito & Shimizu ⁽⁵⁾ investigaram os efeitos da irradiação pelo *laser* de baixa potência na regeneração óssea durante a expansão de uma sutura no palato médio de ratos através do *laser* AlGaAs (830nm – 100mw) durante um período de sete dias. Neste estudo, observou-se que a irradiação por *laser* de baixa potência pode acelerar a regeneração óssea na sutura do palato médio durante a rápida expansão palatina e que seu efeito é dependente não somente da dosagem total utilizada, mas também do tempo e da frequência da irradiação, sugerindo que a terapia a *laser* pode ter efeitos benéficos através da aceleração da regeneração óssea.

Já Ueda & Shimizu ⁽⁶⁾ realizaram um estudo com o objetivo de determinar os efeitos da frequência pulsada da terapia por *laser* de baixa potência na formação do calo ósseo em células *in vitro* de ratos calvariais. Os autores utilizaram células isoladas de osteoblastos de fetos de ratos calvárias os quais foram irradiados uma vez com *laser* de baixa potência Ga-Al-As (830nm, 500mW, 0.48-3.84J/cm²) em quatro diferentes modos de

irradiação: irradiação contínua e com 1,2 e 8Hz de irradiação pulsada. Foram então investigados os efeitos na proliferação celular, na formação do calo ósseo, nas atividades da fosfatase alcalina e na expressão do gene ALP. A irradiação por *laser* em todos os quatro grupos estimulou significativamente a proliferação celular, a formação de calo ósseo, a atividade da fosfatase alcalina e a expressão do gene ALP, comparado com o grupo não irradiado. Notavelmente, a irradiação de 1 e 2Hz estimulou marcadamente estes fatores, quando comparado ao grupo controle e ao grupo de 8Hz, e a irradiação de 2Hz foi o melhor resultado para a formação do nódulo ósseo nas condições experimentais. Sendo assim, este estudo permitiu aos autores concluir que o *laser* de baixa frequência com irradiação pulsada estimula significativamente a formação óssea *in vitro*.

Nicolau *et al.* ⁽⁷⁾ avaliaram o efeito do *laser* de baixa potência em fêmures de 48 ratos que foram perfurados, simulando uma lesão. Desses ratos, 24 foram tratados com *laser* GaIAs de 660nm, 10J/cm², após o segundo, o quarto, o sexto e o oitavo dia de cirurgia, e os 24 restantes receberam o mesmo tratamento, porém com o *laser* desligado. Os autores realizaram análises histomorfométricas e concluíram que a atividade das células ósseas, em torno da área a ser reparada, foi maior no grupo que recebeu o tratamento com o *laser* de baixa potência do que no controle; além disso, o osso neoformado não apresentou alteração na estrutura óssea.

Brito ⁽⁸⁾ analisou a quantidade de tecido ósseo neoformado após irradiação com *laser* de baixa potência no reparo ósseo em osteotomias experimentais de ratos da raça *wistar*, através da aplicação de diferentes doses do *laser* (4, 40, 80 e 200J/cm²) e potência de 100mW com o *laser* de 830nm (AIGaAS) durante a fase de consolidação óssea. As aplicações de *laser* iniciaram-se 24 horas após as cirurgias, sendo os animais separados em quatro grupos, cada um sujeito a uma dose diária (4, 40, 80 e 200J/cm²), e um quinto grupo como controle, sacrificados no oitavo dia após a lesão. As doses diárias de 4, 40, 80 e 200J/cm², por sete dias consecutivos, resultaram em maior formação de trabéculas ósseas neoformadas, se comparado ao grupo controle. Porém, o grupo tratado com 200J/cm² foi o que apresentou uma quantidade maior de osso trabecular neoformado, quando comparado aos demais grupos.

Segundo Diniz *et al.* ⁽⁹⁾, no reparo de fraturas, a terapia a *laser* estimula a angiogênese e a proliferação e diferenciação de células osteogênicas. Em culturas osteoblásticas, o *laser* estimula

a concentração de cálcio e fósforo, além da síntese de ATP e colágeno.

Stein *et al.* ⁽¹⁰⁾ investigaram os efeitos da irradiação pelo *laser* de baixa potência na proliferação e diferenciação de células osteoblásticas humanas. No segundo e terceiro dia de cultura, os osteoblastos foram expostos a irradiação pelo *laser* He-Ne (632nm; 10mW de potência). O efeito da irradiação na proliferação de osteoblastos foi quantificado pela contagem de células e colorimetria MTT (*dimethylthiazol tetrazolium bromide*) nas 24 e 48 horas após a segunda irradiação. Os autores observaram um significativo aumento (31% a 58%) na sobrevivência da célula e maior contagem de células nas irradiadas, uma vez comparadas com as não irradiadas. A diferenciação e a maturação das células foram seguidas por marcadores osteogênicos: fosfatase alcalina (ALP), osteopontina e sialoproteína óssea. O aumento na atividade da ALP na expressão da osteopontina e sialoproteína óssea foi muito maior nas células irradiadas em comparação com as não irradiadas. Sendo assim, segundo este estudo, o *laser* de baixa potência promove a proliferação e a maturação de osteoblastos humanos *in vitro*. Além disso, segundo os autores, os osteoblastos que proliferam e se diferenciam a maiores taxas nos locais de lesão podem aumentar o acúmulo de cálcio e promover o reparo ósseo, sugerindo que este efeito pode ocorrer também em humanos.

Khadra *et al.* ⁽¹¹⁾ investigaram o efeito da terapia com *laser* de baixa potência sobre a perda, a proliferação, a diferenciação e a produção de fator de crescimento transformador X1 (TGF-B1) em osteoblastos humanos. Células derivadas do osso mandibular foram expostas ao *laser* diodo GaIAs, no comprimento de onda de 830nm e potência de 84mW, em dosagens de 1,5 ou 3J/cm²; em seguida, foram semeadas e expostas ao *laser* por mais três dias consecutivos. Após 96 horas, foi observado um aumento na proliferação celular. A síntese de osteocalcina e de TGF-B1 foram significativamente maiores nas amostras expostas a 3J/cm². Entretanto, a atividade da fosfatase alcalina não se diferenciou estatisticamente entre os três grupos. Sendo assim, os autores concluíram que osteoblastos humanos cultivados em material de implante de titânio apresentaram as taxas de adesão e proliferação aumentadas, o que leva a crer que o *laser* de baixa potência pode acelerar a cicatrização nos tecidos ao redor do implante.

Aihara, Yamaguchi & Kasai ⁽¹²⁾ aplicaram a irradiação com *laser* de baixa potência (GaIAs – 50mW) às células precursoras de osteoclastos

por um, três, seis ou dez minutos com intervalos de 24 horas durante oito dias de cultura. Os osteoclastos apareceram no segundo dia de irradiação, e somente no terceiro dia no grupo sem irradiação. A reabsorção foi significativamente mais abundante nos grupos irradiados com *laser* em comparação aos controles, sugerindo que a irradiação com *laser* facilita a diferenciação e a ativação dos osteoclastos.

A fim de investigar o efeito inicial do *laser* de baixa potência no crescimento e na diferenciação de osteoblastos humanos, Stein *et al.* (13) realizaram estudo *in vitro* aplicando doses de *laser* de diodo de 670nm com comprimento de onda e potência de saída de 400mW nas células osteoblásticas, sendo que as células não tratadas foram usadas como controle. No período de 24 horas, 48 horas e 72 horas após a irradiação, as células foram coletadas e analisadas quanto à sua viabilidade e à atividade específica da fosfatase alcalina. Além disso, a osteopontina e o colágeno tipo I foram avaliados. Ao longo do período de observação, a viabilidade celular, a atividade da fosfatase alcalina e a expressão da osteopontina e do colágeno tipo I foram ligeiramente melhoradas em células irradiadas com 1J/cm², comparadas com as células não tratadas do controle. O aumento da dose do *laser* para 2J/cm² reduziu a viabilidade durante as primeiras 48 horas e resultou em persistente atividade da fosfatase alcalina, comparado com os outros dois grupos. A expressão da osteopontina e do colágeno tipo I reduziu-se levemente com o tempo nos controles não tratados e nas células irradiadas com 1J/cm², mas sua expressão foi aumentada pelo tratamento com 2J/cm² após 72 horas. Sendo assim, os resultados deste estudo indicaram que o *laser* de baixa potência possui um efeito bioestimulatório em células osteoblásticas de humanos durante as primeiras 72 horas após irradiação.

Renno *et al.* (14) avaliaram os efeitos do *laser* de baixa potência em três diferentes comprimentos de onda – 670nm, 780nm e 830nm – sobre osteoblastos (MC3T3) e células de proliferação de osteossarcoma (MG63) *in vitro*. Percebeu-se que cada linhagem de célula reagiu de forma diferente: na submetida a 830nm, os osteoblastos apresentaram um aumento de 9% e o osteossarcoma não evidenciou acréscimo significativo; na que recebeu 780nm, houve diminuição da proliferação dos osteoblastos e aumento da multiplicação das células provenientes de osteossarcoma. Já na linhagem em que se usou o comprimento de 670nm, observou-se um menor aumento estatístico dos osteoblastos e das células de osteossarcoma.

Diniz *et al.* (9) verificaram o efeito da terapia a *laser* em combinação com bifosfonatos na estrutura óssea osteopênica de 35 ratos *wistar* femininos, os quais foram divididos em cinco grupos: 1 – grupo controle; 2 – ratas ovariectomizadas com osteopenia; 3 – ratas ovariectomizadas com osteopenia tratadas a *laser*; 4 – ratas ovariectomizadas com osteopenia tratadas com bifosfonato; e 5 – ratas ovariectomizadas com osteopenia tratadas com bifosfonato e *laser*. Os grupos 3 e 5 receberam 6mg de bifosfonato oral. Os grupos 4 e 5 receberam terapia a *laser* de baixa potência (arseneto de alumínio e gálio – GaAIs), 830nm, 50mW e 4J/cm² no fêmur e segmentos vertebrais, sendo que ambos os tratamentos foram realizados por um período de oito semanas. No grupo osteopenia + bifosfonato, o volume ósseo trabecular na vértebra L2 foi significativamente maior que no grupo controle de osteopênicas. Notavelmente, na associação entre *laser* e bifosfonato, o volume do osso trabecular foi significativamente maior nas vértebras L2 e T13 e foi similar aos do grupo controle. Sendo assim, os autores concluíram que a terapia a *laser* associada com o bifosfonato foi o melhor método de reversão da osteopenia causada pela ovariectomia.

Silva *et al.* (15) investigaram a atividade osteoblástica de células derivadas de uma sutura no palato médio após o tratamento com *laser* de baixa intensidade (LBI) após a expansão rápida da maxila (ERM). Um total de 30 ratos foi dividido em dois grupos: experimental I (15 ratos com ERM sem LBI) e experimental II (15 ratos com ERM e LBI). Os ratos foram sacrificados em 24 horas, 48 horas e sete dias após a ERM, quando as células osteoblásticas derivadas da sutura do palato médio dos ratos foram colocadas em cultura de células *explants*. Estas células ficaram em cultura por um período de 17 dias, e então os parâmetros da osteogênese *in vitro* e os marcadores de expressão genética foram avaliados. O tempo de replicação celular no estágio proliferativo (três a sete dias) foi reduzido nas células em cultura colhidas da sutura do palato médio a 24 e 48 horas após ERM + LBI, conforme indicado pelo aumento no crescimento das células em cultura. A atividade da fosfatase alcalina no sétimo e 14º dia de cultura aumentou pelo LBI na cultura de células *explants* da sutura no palato médio a 24 e 48 horas e sete dias após a ERM. A mineralização no 17º dia aumentou pelo LBI após ERM em todos os períodos. Os referidos autores concluíram que o LBI aplicado após a ERM é hábil para aumentar a proliferação e a expressão do fenômeno osteoblástico em células derivadas da sutura no palato médio.

Poppi *et al.* ⁽²⁾ avaliaram os efeitos do *laser* de baixa potência (660 e 880 de comprimento de onda) no processo de reparação de defeitos ósseos induzidos em fêmures de ratos fêmeas *wistar* submetidas à ovariectomia. Foi realizada uma ovariectomia bilateral em 18 ratas da raça *wistar*, as quais foram divididas em grupos controle e irradiados após análise digital da densidade óssea demonstrada pelo decréscimo da massa óssea e após perfurações padronizadas dos fêmures. Os grupos irradiados receberam 133J/cm² de irradiação a *laser* AsGaAl (660-nm) e InGaAlP (880-nm). Os animais foram sacrificados nos dias 14 e 21 após os defeitos ósseos terem sido estabelecidos. Os resultados dos dias 14 e 21 demonstraram que os grupos irradiados apresentaram aumento na densidade dos osteoblastos, fibroblastos e osteócitos imaturos na superfície do tecido, comparados ao grupo controle. Adicionalmente, avaliações do infiltrado inflamatório demonstraram que o *laser* de baixa potência reduziu o acúmulo de leucócitos quando comparado ao tratamento controle, concluindo-se que, no modelo experimental utilizado no estudo, ambos os comprimentos de onda (660 e 880nm) inibiram o processo inflamatório e induziram a proliferação das células responsáveis pelo remodelamento ósseo e reparo.

3.2 Efeitos da terapia por ultrassom sobre o tecido ósseo

Com o intuito de comparar a resposta de cura de uma lesão tibial óssea, Schofer *et al.* ⁽¹⁶⁾ realizaram um estudo multicêntrico, randomizado, placebo-controlado em seis hospitais na Alemanha, onde analisaram indivíduos tratados com ultrassom pulsado de baixa intensidade (n = 51) e indivíduos tratados com um dispositivo placebo (n = 50). A duração do tratamento foi de 20 minutos por dia, por um período de 16 semanas, utilizando-se os seguintes parâmetros: 1,5MHz de frequência, 1kHz de taxa de repetição, 200us de duração de pulso, 30 mW/cm² de intensidade espacial. Através de análise por tomografia computadorizada, observou-se uma melhora na densidade mineral óssea de 1,34 vezes maior para os indivíduos tratados pelo ultrassom pulsado em comparação ao placebo (p = 0,002). A redução média na área de falha óssea também foi maior nos sujeitos tratados pelo ultrassom (p = 0,014), sugerindo uma maior cicatrização óssea em relação ao grupo placebo.

Guerino *et al.* ⁽¹⁷⁾ investigaram os efeitos do tratamento de ultrassom no osso fraturado e os efeitos do exercício físico sobre a velocidade de consolidação óssea. Foi realizada uma osteotomia

no terço superior da tíbia direita de ratos, os quais passaram por um treinamento físico, que consistiu de natação uma hora por dia com uma carga de 5% do peso do corpo e terapia com média intensidade de ultrassom, aplicado durante cinco minutos por dia. Os ratos foram divididos em quatro grupos: (a) osteotomizados, sedentários, sem tratamento com ultrassom; (b) treinados sem tratamento com ultrassom; (c) sedentários com tratamento ultrassom; e (d) treinados com tratamento de ultrassom. Os resultados mostraram que o ultrassom é melhor nas fases iniciais do processo de reparação do tecido ósseo e o exercício físico no final da consolidação óssea.

Katano *et al.* ⁽¹⁸⁾ avaliaram o efeito do ultrassom pulsado de baixa intensidade sobre o processo de cicatrização da fratura e ossificação endocondral em ratos com fratura no fêmur. Foi comparado o processo de cicatrização em ratos com 40 semanas de idade (ratos idosos) e com oito semanas de idade (ratos jovens), usando-se análises radiológicas e histológicas. Nos ratos idosos, algumas formações de cartilagem foram observadas dez dias após a fratura; no entanto, a ossificação endocondral e o calo ósseo foram observados 21 e 28 dias após a fratura, respectivamente. Enquanto isso, em camundongos jovens com tratamento por ultrassom pulsado, a formação de cartilagem foi semelhante em relação aos camundongos velhos, sem ultrassom pulsado. Por outro lado, calo ósseo e remodelação óssea foram observados 21 e 28 dias após a fratura, respectivamente, sugerindo que o ultrassom pulsado pode encurtar o período de cicatrização, devido à promoção da ossificação endocondral. A análise imuno-histoquímica mostrou expressão marcada do fator de crescimento vascular endotelial e neovascularização no tecido fibroso, compreendendo o periosteio que cercou totalmente o calo. Estes resultados sugerem que a migração de células endoteliais e neovascularização, que foram observados em torno dos locais de fratura, desempenharam um papel no mecanismo de promoção de ossificação endocondral no grupo que utilizou o ultrassom pulsado.

Rutten *et al.* ⁽¹⁹⁾ investigaram como o ultrassom pulsado afeta a cicatrização óssea em pacientes osteotomizados na fíbula, usando análise histológica e histomorfométrica para determinar a formação óssea e os parâmetros de reabsorção óssea. Foram realizadas biópsias em 13 pacientes (nove do sexo feminino, quatro do sexo masculino, com idade de 42 a 63 anos) com um atraso na união da fíbula, osteotomizados após uma osteotomia alta da tíbia, tratados por dois a quatro meses com ou sem ultrassom pulsado em estudo prospectivo, randomizado duplo-cego

controlado por placebo. Nos cortes histológicos do atraso, três áreas de interesse foram distinguidas: (I) área de formação de novo osso nas extremidades da fratura; (II) área de osso esponjoso; e (III) área de osso cortical. A análise histomorfométrica foi realizada para determinar a formação óssea e os parâmetros de reabsorção óssea (bem como angiogênese). O ultrassom pulsado levou à formação de calo endosteal pela formação óssea direta, bem como a formação óssea indireta foi observada, enquanto que em controles não tratados observou-se apenas formação óssea indireta. Na área de formação de osso novo, o ultrassom pulsado aumentou significativamente a espessura osteoide em 47%, a taxa de aposição mineral em 27%, e o volume ósseo em 33%, não sendo observado nenhum aumento no número de vasos sanguíneos no calo ósseo recém-formado. Na área de osso esponjoso, o volume aumentou em 17%, enquanto que nenhum efeito sobre a espessura osteoide e aposição mineral foi visto. O ultrassom pulsado não afetou o volume osteoide, o tempo de maturação osteoide, o número de osteócitos, a lacuna de osteócito ou dos osteoclastos. Sendo assim, de acordo com este estudo, o ultrassom pulsado acelera a cicatrização de fraturas de fíbula com união atrasada, através do aumento da espessura osteoide, da taxa de aposição mineral e do volume ósseo, indicando aumento na atividade de osteoblastos na nova formação do calo ósseo.

Volpon, Mota & Beletti⁽²⁰⁾ avaliaram a reparação de ossos transversais, com lacunas de três milímetros de largura, criadas na extremidade distal do rádio em 28 cães que foram divididos aleatoriamente em dois grupos de 14 animais, um foi o grupo controle e o outro recebeu uma aplicação diária de ultrassom de baixa intensidade durante 20 minutos por cem dias. Foram realizadas radiografias sequenciais, análise histomorfométrica, histologia óssea fluorescente e avaliações da vascularização do osso. Os autores observaram neste estudo que a aplicação de ultrassom de baixa intensidade não foi capaz de alterar significativamente o processo de reparação óssea e não pode ser suficientemente poderoso para superar os efeitos deletérios sobre a cicatrização óssea, movimentos excessivos e ressecção periosteal.

Sakurakichi *et al.*⁽²¹⁾ investigaram os efeitos do ultrassom pulsado de baixa intensidade (30mW/cm²) para tratamento na distração osteogênica. Foi realizado alongamento da tibia usando fixadores unilaterais em 75 coelhos, os quais foram divididos em quatro grupos de acordo com o momento do tratamento com ultrassom pulsado. O grupo controle não teve estimulação; o grupo de

espera foi tratado com ultrassom pulsado, com duração de 20 minutos cada sessão diariamente, durante um período de sete dias; o grupo de alongamento foi tratado durante o período de alongamento ósseo; o grupo de maturação foi tratado durante os primeiros sete dias após a conclusão da distração. Foi avaliada a distração por radiografia e histologia a cada semana durante quatro semanas. A densidade mineral óssea (DMO) e a resistência mecânica foram testadas, e uma tomografia computadorizada foi realizada em amostras de duas semanas após a conclusão da distração. O grupo de alongamento apresentou maior DMO e resistência mecânica do que os outros grupos, a regeneração óssea foi aumentada mais no grupo de maturação do que no controle ou nos grupos de espera. Histologicamente, a formação óssea endocondral no alongamento e os grupos de maturação ocorreram mais cedo do que no controle ou nos grupos de espera. Estes resultados sugerem que o efeito do ultrassom pulsado é mediado pelas vias endocondrais, concluindo-se que o ultrassom pulsado estimula a formação óssea em distração osteogênica e é mais eficaz durante a fase de alongamento.

A fim de investigar os efeitos individuais e combinados do hormônio da paratireoide (PTH) e do ultrassom pulsado na cicatrização da fratura, Warden *et al.*⁽²²⁾ criaram fraturas na diáfise bilateral média do fêmur de ratos, os quais foram tratados sete dias por semana com PTH (10mg/kg) ou uma solução veículo. Cada animal também possuía uma fratura tratada por 20 minutos/dia, com ultrassom pulsado (intensidade de 100mW/cm²) e da fratura contralateral tratadas com ultrassom placebo. Num total de 35 dias após a lesão, realizou-se tomografia microcomputadorizada dos fêmures, além da análise das propriedades mecânicas e avaliações histológicas dos calos de fratura. Os autores não observaram interações entre o PTH e o ultrassom pulsado, indicando que seus efeitos foram aditivos ao invés de sinérgicos, sendo sugerido neste estudo que o PTH pode ser útil no tratamento de fraturas ósseas agudas, enquanto que o ultrassom pulsado de 100mW/cm² não parece ser indicado no tratamento de fraturas da diáfise do fêmur.

Sousa⁽²³⁾ investigou clinicamente os efeitos do ultrassom de baixa intensidade como tratamento adjuvante na consolidação óssea de fraturas de ossos longos (rádio e ulna, fêmur, tibia e fíbula) em cães. Foram avaliados 29 cães de raças variadas, 17 fêmeas e 12 machos, com faixa etária entre seis e 72 meses, portadores de fraturas recentes em ossos longos, submetidos a procedimentos de osteossíntese (pinos intramedulares, fixação esquelética externa ou

a associação destes métodos). Os animais foram divididos em três grupos, de acordo com o local da fratura: G1 – rádio e ulna; G2 – fêmur; e G3 – tíbia e fíbula. Realizou-se o tratamento com ultrassom pulsado de baixa intensidade (30mW/cm), durante 20 minutos por 21 dias consecutivos em 12 cães, e 17 animais foram utilizados como controle. Foram avaliados exames clínicos e radiográficos nos períodos pré-operatório, pós-operatório imediato e aos 30 e 60 dias posteriores ao processo cirúrgico. Nos exames radiográficos, foram observadas características de consolidação óssea, incluindo a presença ou a ausência de reação periosteal, ponte cortical, linha de fratura e formação de calo ósseo. Os autores não constataram diferenças estatísticas quanto aos achados radiográficos entre os grupos tratados ou não pelo ultrassom. No entanto, apesar da ausência de comprovação estatística, a maioria das fraturas tratadas com estimulação ultrassônica demonstrou sinais clínicos e radiográficos de evolução favorável ao processo de consolidação óssea. Sendo assim, os autores indicam o ultrassom de baixa intensidade como tratamento adjuvante de fraturas recentes de ossos longos.

Com o objetivo de verificar o efeito do ultrassom pulsado de baixa intensidade na prevenção da perda óssea em mulheres na pós-menopausa, Leung *et al.* ⁽²⁴⁾ avaliaram 20 mulheres saudáveis pós-menopausa com idades entre 51 e 81 anos, sendo mensurada a densidade mineral óssea por meio da tomografia computadorizada no rádio distal bilateral no início do estudo, três meses após o tratamento com ultrassom pulsado de baixa intensidade e três meses após a descontinuação do tratamento. Os resultados mostraram que a taxa de mudança óssea (densidade mineral do osso trabecular e densidade mineral óssea integrante) não diferiram significativamente entre os tratados com ultrassom e controle. Este foi o primeiro estudo prospectivo e randomizado, que demonstrou que o ultrassom pulsado de baixa intensidade não tem efeitos significativos sobre os ossos intactos para a prevenção da perda óssea na pós-menopausa.

Sparado & Albanese ⁽²⁵⁾ testaram se o comprimento dos ossos longos dos ratos em crescimento seria afetado pela aplicação repetitiva de ultrassom pulsado de baixa intensidade. O crescimento longitudinal e a densidade mineral óssea do fêmur e da tíbia em ratos jovens foi medida após a

aplicação de uma emissão de 1,5MHz de ultrassom pulsado (30mW/cm²) durante 20 minutos por dia. Após 28 dias, nenhuma diferença do comprimento foi detectada (< 2%) em comparação com a perna onde se utilizou tratamento placebo ou daqueles controles, que não foram expostos ao tratamento. Além disso, não houve diferença significativa na densidade mineral óssea do fêmur ou da tíbia (< 6%), demonstrando que o ultrassom pulsado de baixa intensidade não afeta o crescimento longitudinal do osso.

Leung *et al.* ⁽²⁶⁾ investigaram o efeito da intensidade do ultrassom pulsado na cicatrização de fraturas na tíbia. Foram analisados dois grupos: um que recebeu o tratamento com ultrassom (n = 16) e um grupo controle (n = 14) com uma máquina fictícia. As fraturas foram imobilizadas por fixações internas ou externas de acordo com as indicações clínicas. O ultrassom pulsado foi aplicado 20 minutos por dia durante 90 dias. A consolidação da fratura foi monitorada por exames clínicos, radiológicos, bioquímicos e avaliação da densitometria óssea. O grupo tratado com ultrassom pulsado mostrou-se estatisticamente melhor em todas as avaliações, demonstrando que o ultrassom pulsado aumenta a cura de fraturas causadas por trauma, sendo recomendado pelos autores para melhorar o potencial de consolidação de fraturas.

4. CONCLUSÃO

A terapia a *laser* possui inúmeros efeitos benéficos quando aplicada sobre o tecido ósseo, dentre os quais se podem destacar os efeitos bioestimulatórios nas células osteoblásticas, promovendo a proliferação e a maturação destas células, acelerando a regeneração óssea além de efeitos na reversão da osteopenia.

Adicionalmente, estudos que utilizaram o ultrassom no tratamento do tecido ósseo têm demonstrado que este instrumento é capaz de promover uma maior cicatrização óssea, podendo encurtar o período de cicatrização, devido à promoção da ossificação endocondral.

No entanto, esses resultados foram encontrados em modelos animais, dificultando sua inserção na prática clínica. Ensaios clínicos randomizados devem ser utilizados para comprovar a efetividade dos equipamentos e sua utilidade clínica.

REFERÊNCIAS

1. Nogueira GT, Ferrari RAM, Martins MD, Bussadori SK, Silva TD, Fernandes KPS. Efeito da laserterapia de baixa potência sobre o tecido ósseo – revisão de literatura. *ConScientiae Saúde* 2009; 8(4):671-76.
2. Poppi RR, Silva ALD, Nacer RS, Vieira RP, Oliveira LVF, Júnior NSF, *et al.* Evaluation of the osteogenic effect of low-level laser therapy (808nm and 660nm) on bone defects induced in the femurs of female rats submitted to ovariectomy. *Lasers Med Sci* 2011 Jul; 26(4):515-22.
3. Volpon JB, Mota FCD, Beletti ME. Low-intensity ultrasound application in distal radius metaphyseal bone defects of dogs. *Ultrasound Med Biol* 2010 Nov; 36(11):1.849-55.
4. Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone* 1998 Apr; 22(4):347-54.
5. Saito S, Shimizu N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1997 May; 111(5):525-32.
6. Ueda Y, Shimizu N. Effects of pulse frequency of low-level laser therapy (LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells. *J Clin Laser Med Surg* 2003 Oct; 21(5):271-77.
7. Nicolau RA, Jorgetti V, Rigau J, Pacheco MTT. Effect of low-power GaAlAs laser (660nm) on the bone structure and cell activity: an experimental animal study. *Lasers Med Sci* 2003 May; 18(2):89-94.
8. Brito MAP. Análise com a utilização da espectrofotometria na reparação óssea pela biomodulação *laser*. São José dos Campos. Dissertação [Mestrado em Engenharia Biomédica] – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba; 2004.
9. Diniz JS, Nicolau RA, Ocarino NM, Magalhães FC, Pereira RDO, Serakides R. Effect of low-power gallium-aluminum-arsenium laser therapy (830nm) in combination with bisphosphonate treatment on osteopenic bone structure: an experimental animal study. *Lasers Med Sci* 2009 May; 24(3):347-52.
10. Stein A, Benayahu D, Maltz L, Oron U. Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts *in vitro*. *Photomed Laser Surg* 2005 Apr; 23(2):161-66.
11. Khadra M, Lyngstadaas SP, Haanaes HR, Mustafa K. Effect of laser therapy on attachment, proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells cultured on titanium implant material. *Biomaterials* 2005 Jun; 26(17):3503-09.
12. Aihara N, Yamaguchi M, Kasai K. Low-energy irradiation stimulates formation of osteoclast-like cells via RANK expression *in vitro*. *Lasers Med Sci* 2006 Apr; 21(1):24-3.
13. Stein E, Koehn J, Sutter W, Wendtlandt G, Wanschitz F, Thurnher D, *et al.* Initial effects of low-level laser therapy on growth and differentiation of human osteoblast-like cells. *Wien Klin Wochenschr* 2008; 120(3-4):112-17.
14. Renno ACM, McDonnell PA, Parizotto NA, Laakso EL. The effects of laser irradiation on osteoblast and osteosarcoma cell proliferation and differentiation *in vitro*. *Photomed Laser Surg* 2007 Aug; 25(4):275-80.
15. Silva APRB, Petri AD, Crippa GE, Stuaní AS, Stuaní AS, Rosa AL, *et al.* Effect of low-level laser therapy after rapid maxillary expansion on proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *Lasers Med Sci* 2011 Aug 13.
16. Schofer MD, Block JE, Aigner J, Schmelz A. Improved healing response in delayed unions of the tibia with low-intensity pulsed ultrasound: results of a randomized sham-controlled trial. *BMC Musculoskelet Disord* 2010 Oct; 229(11):1-6.
17. Guerino MR, Santi FP, Silveira RF, Luciano E. Influence of ultrasound and physical activity on bone healing. *Ultrasound Med Biol* 2008 Sep; 34(9): 1.408-13.
18. Katano M, Naruse K, Uchida K, Mikuni-Takagaki Y, Takaso M, Itoman M, *et al.* Low intensity pulsed ultrasound accelerates delayed healing process by reducing the time required for the completion of endochondral ossification in the aged mouse femur fracture model. *Exp Anim* 2011; 60(4):385-95.
19. Rutten S, Nolte PA, Korstjens CM, Duin MA, Klein-Nullend J. Low-intensity pulsed ultrasound increases bone volume, osteoid thickness and mineral apposition rate in the area of fracture healing in patients with a delayed union of the osteotomized fibula. *Bone* 2008 Aug; 43(2):348-54.

REFERÊNCIAS

20. Volpon JB, Mota FCD, Beletti ME. Low-intensity ultrasound application in distal radius metaphyseal bone defects of dogs. *Ultrasound Med Biol* 2010 Nov; 36(11):1.849-55.
21. Sakurakichi K, Tsuchiya H, Uehara K, Yamashiro T, Tomita K, Azuma Y. Effects of timing of low-intensity pulsed ultrasound on distraction osteogenesis. *J Orthop Res* 2004 Mar; 22(2):395-403.
22. Warden SJ, Komatsu DE, Rydberg J, Bond JL, Hassett SM. Recombinant human parathyroid hormone (PTH 1-34) and low-intensity pulsed ultrasound have contrasting additive effects during fracture healing. *Bone* 2009 Mar; 44(3):485-94.
23. Sousa VL. Efeitos do ultrassom de baixa intensidade sobre a consolidação óssea em fraturas de ossos longos (rádio e ulna, fêmur, tíbia e fíbula) em cães (*Canis familiaris*). São Paulo. Dissertação [Mestrado em Cirurgia Veterinária] – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo; 2003.
24. Leung KS, Lee WS, Tsui HF, Liu PP, Cheuns WH. Complex tibial fracture outcomes following treatment with low-intensity pulsed ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2004 Mar; 30(3):389-95.
25. Sparado JA, Albanese S.A. Application of low-intensity ultrasound to growing bone in rats. *Ultrasound Med Biol* 1998 May; 24(4):567-73.
26. Leung KS, Lee WS, Cheung WH, Qin L. Lack of efficacy of low-intensity pulsed ultrasound on prevention of postmenopausal bone loss evaluated at the distal radius in older Chinese women. *Clin Orthop Relat Res* 2004 Oct; 427:234-40.

Endereço para correspondência:

Lisiane Piazza. Rua Rio Branco, n. 1.541. Bairro Cruzeiro. CEP 99070-080 – Passo Fundo – Rio Grande do Sul.
E-mail: lisiane_piazza@yahoo.com.br. Telefone: (54) 9947-2355.