

Efeitos do ultra-som terapêutico nas propriedades mecânicas do músculo esquelético após contusão

Effects of therapeutic ultrasound on the mechanical properties of skeletal muscles after contusion

Matheus JPC^{1,2}, Oliveira FB¹, Gomide LB¹, Milani JGPO¹, Volpon JB¹, Shimano AC¹

Resumo

Contextualização: O ultra-som terapêutico (UST) é um recurso comumente aplicado na aceleração do reparo tecidual de lesões musculares. A absorção das ondas ultra-sônicas é determinada pela frequência e pela intensidade, sendo que, em uma mesma intensidade, a profundidade atingida por 1MHz é maior quando comparada a 3MHz. **Objetivo:** Analisar o comportamento das propriedades mecânicas de músculos submetidos à lesão aguda por impacto e tratados com UST, utilizando as frequências de 1 e 3MHz. **Materiais e métodos:** Foram utilizadas 40 ratas Wistar (200,1±17,8g), divididas em quatro grupos: (1) controle; (2) lesão muscular sem tratamento; (3) lesão muscular tratada com UST de frequência 1MHz (0,5W/cm²) e (4) lesão muscular tratada com UST de frequência 3MHz (0,5W/cm²). A lesão foi provocada no músculo gastrocnêmio por mecanismo de impacto. O tratamento foi de cinco minutos diários durante seis dias consecutivos. Os músculos foram submetidos a ensaios mecânicos de tração em uma máquina universal de ensaios. **Resultados:** As médias e desvios-padrão das propriedades mecânicas dos grupos lesionados e tratados com UST foram significativamente maiores quando comparadas ao grupo lesionado sem tratamento (p<0,05). Em destaque, a propriedade de rigidez que, com a aplicação do UST, teve acréscimo de aproximadamente 38%. **Conclusões:** A intervenção, por meio do UST, promoveu aumento das propriedades mecânicas nos músculos lesionados aproximando-as do grupo controle. Entretanto, não foi observada diferença significativa entre as propriedades mecânicas dos grupos tratados com ultra-som de frequências 1MHz e 3MHz.

Palavras-chave: ultra-som terapêutico; lesão muscular; propriedades biomecânicas.

Abstract

Background: Therapeutic ultrasound is a resource commonly applied to speed up tissue repair in muscle injuries. The absorption of the ultrasound waves is determined by their frequency and intensity. For a given intensity, the depth reached by 1MHz is greater than the depth reached by 3MHz. **Objective:** To analyze the mechanical properties of muscles subjected to acute impact injury treated with therapeutic ultrasound at the frequencies of 1 and 3MHz. **Methods:** Forty female Wistar rats (200.1±17.8g) were used, divided into four groups: (1) control; (2) muscle injury without treatment; (3) muscle injury treated with therapeutic ultrasound at the frequency of 1MHz (0.5W/cm²); and (4) muscle injury treated with therapeutic ultrasound at the frequency of 3MHz (0.5W/cm²). The injury was produced in the gastrocnemius muscle by means of an impact mechanism. The treatment consisted of a single five-minute session per day, for six consecutive days. The muscles were subjected to mechanical traction tests in a universal test machine. **Results:** Means and standard deviations for the mechanical properties of the injured groups that received therapeutic ultrasound were significantly greater than those of the injured group without treatment (p<0.05). The property of stiffness should be highlighted: the application of therapeutic ultrasound increased muscle stiffness by approximately 38%. **Conclusions:** Therapeutic ultrasound increased the mechanical properties of the injured muscles, and brought them to a level close to the control group. However, no significant difference in mechanical properties was observed between the groups treated with ultrasound at the frequencies of 1MHz and 3MHz.

Key words: therapeutic ultrasonic; muscle injury; biomechanical properties.

Recebido: 30/09/2007 – Revisado: 29/11/2007 – Aceito: 27/03/2008

¹ Laboratório de Bioengenharia, Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (FMRP-USP) – São Paulo (SP), Brasil

² Curso de Fisioterapia, Universidade de Uberaba – Minas Gerais (MG), Brasil

Correspondência para: João Paulo Chieregato Matheus, Rua Afonso Rato, 852, Mercês, CEP 38060-040, Uberaba (MG), Brasil, e-mail: jpcmatheus@yahoo.com.br

Introdução

O tecido muscular é o mais afetado nos traumas do esporte¹ e as lesões são, muitas vezes, ocasionadas por mecanismos de impacto direto². Na maioria das vezes, essas lesões causam dor e incapacidade, levando os indivíduos a procurarem tratamentos muito freqüentemente nas clínicas de fisioterapia³.

O ultra-som terapêutico (UST) é um recurso comumente aplicado nos distúrbios do sistema músculo-esquelético, como na aceleração do reparo tecidual de lesões musculares⁴. A possibilidade de usar diferentes freqüências entre 1 e 3MHz é importante na medida em que as freqüências mais altas (3MHz) são absorvidas mais intensamente, tornando-as mais específicas para o tratamento de tecidos superficiais, enquanto que as freqüências mais baixas (1MHz) penetram mais profundamente, devendo ser usadas para os tecidos mais profundos⁵.

Segundo Ter Haar⁶, as vibrações acústicas produzidas pelo UST induzem mudanças celulares alterando o gradiente de concentração das moléculas e íons cálcio e potássio, o que estimula a atividade celular. Esse fenômeno pode resultar em diversas alterações, como aumento da síntese protéica e secreção de mastócitos, modificações na mobilidade dos fibroblastos, dentre outras. Embora esses mecanismos não sejam ainda perfeitamente conhecidos, outros trabalhos demonstram a influência do UST na reparação tecidual pelas alterações provocadas na permeabilidade da membrana das células. Alguns autores sugerem que estes efeitos ocorram devido à cavitação^{7,8}; outros afirmam que o ultra-som produz modificações hemodinâmicas microvasculares, aumentando a perfusão, o tecido de granulação, a reparação tecidual^{8,9}, a proliferação fibroblástica e o aumento de células precursoras¹⁰.

Em relação somente ao tecido muscular, Rantanen et al.¹⁰ realizaram estudo sobre os efeitos do UST 3MHz na regeneração de fibras musculoesqueléticas após lesão no gastrocnêmio de ratos. Utilizando técnicas de imunistoquímica e morfometria, evidenciaram uma proliferação de células satélites bastante significativa (96%) com o uso do UST modo pulsátil, intensidade de 1,5W/cm², durante os primeiros estágios de reparação. Karnes e Burton¹¹ analisaram o efeito do UST de freqüência 1MHz com intensidade modulada a 0,5W/cm², por cinco minutos, durante sete dias consecutivos, na reparação muscular em ratos. Concluíram que o tratamento acelerou a reparação tecidual e promoveu aumento na força de contração do músculo em relação ao não tratado.

Pela freqüência em que este tipo de desordem é encontrada na prática clínica do fisioterapeuta e pela escassez de dados mecânicos a respeito do assunto, o objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento das propriedades mecânicas de músculos submetidos à lesão aguda por impacto e tratados com UST, utilizando as freqüências de 1 e 3MHz e intensidade de 0,5W/cm².

Materiais e métodos

Para o desenvolvimento deste estudo, foram utilizadas 40 ratas adultas Wistar, espécie *Rattus norvegicus albinus*, com massa corporal média de 200,1±17,8g. Os animais provenientes do Biotério Central da Prefeitura do *campus* de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP) foram mantidos durante os protocolos experimentais no Biotério do Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP) da USP. As ratas foram mantidas em gaiolas-padrão coletivas, com três animais por gaiola, à temperatura ambiente controlada de 25±1°C, fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro e recebendo água e alimentação padrão, *ad libitum*. Todos os procedimentos aos quais os animais foram submetidos tiveram a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (Ceua) do *campus* de Ribeirão Preto da USP, que segue o International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals, segundo protocolo nº 03.1.529.53.7.

Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente, nos seguintes grupos experimentais, com dez animais cada:

- Grupo 1: controle (C). Os dez animais foram mantidos em gaiolas por sete dias;
- Grupo 2: lesão muscular sem tratamento (L). Os dez animais tiveram o músculo gastrocnêmio direito submetido à lesão por impacto, acompanhados por sete dias até o momento do ensaio;
- Grupo 3: lesão muscular tratada com UST de freqüência 1MHz (LT1). Os dez animais tiveram o músculo gastrocnêmio direito submetido à lesão por impacto e tratada com UST de 1MHz, intensidade de 0,5W/cm²;
- Grupo 4: lesão muscular tratada com UST de freqüência 3MHz (LT3). Os dez animais tiveram o músculo gastrocnêmio direito submetido à lesão por impacto e tratada com UST de 3MHz, intensidade de 0,5W/cm².

Equipamento de produção da lesão

Na Oficina de Precisão do *campus* de Ribeirão Preto da USP, foi confeccionado um equipamento adaptado a partir do proposto inicialmente por Stratton, Heckmann e Francis¹², que consiste de duas hastes metálicas, telescópicas, ajustáveis de 30 a 40cm (Figura 1A). Estas hastes são fixas sobre uma base plástica, com área de 272,5cm² (Figura 1B). Sobre esta base, foi acoplada uma superfície metálica retangular de área de 12,25cm² (Figura 1C) que serve de apoio para a queda do peso. Unindo as duas hastes verticais, encontra-se uma haste horizontal com uma roldana, em que corre o fio guia junto ao peso a ser liberado (Figura 1D). Entre as hastes, foi confeccionado,

em acrílico transparente, um guia para conduzir um peso de 200g (Figura 1E) durante a queda livre, evitando desvios.

Lesão muscular experimental

Para produção da lesão, mesmo não sendo um método invasivo, foram tomadas as devidas precauções e utilizadas técnicas rotineiras de assepsia do local e do equipamento.

Previamente à indução da lesão, os animais foram anestesiados com associação de cloridrato de quetamina (80mg/kg) e cloridrato de xilazina (15mg/kg), na dose de 0,6mL da mistura para cada 100g de massa corporal, administrada via intramuscular. Já anestesiados, foram submetidos à tricotomia na região póstero-lateral e medial da perna direita; posteriormente, foram posicionados na base do equipamento de produção da lesão, em decúbito ventral, com joelho em extensão máxima e tornozelo em posição neutra (90°). Para produzir a lesão, foi utilizado um

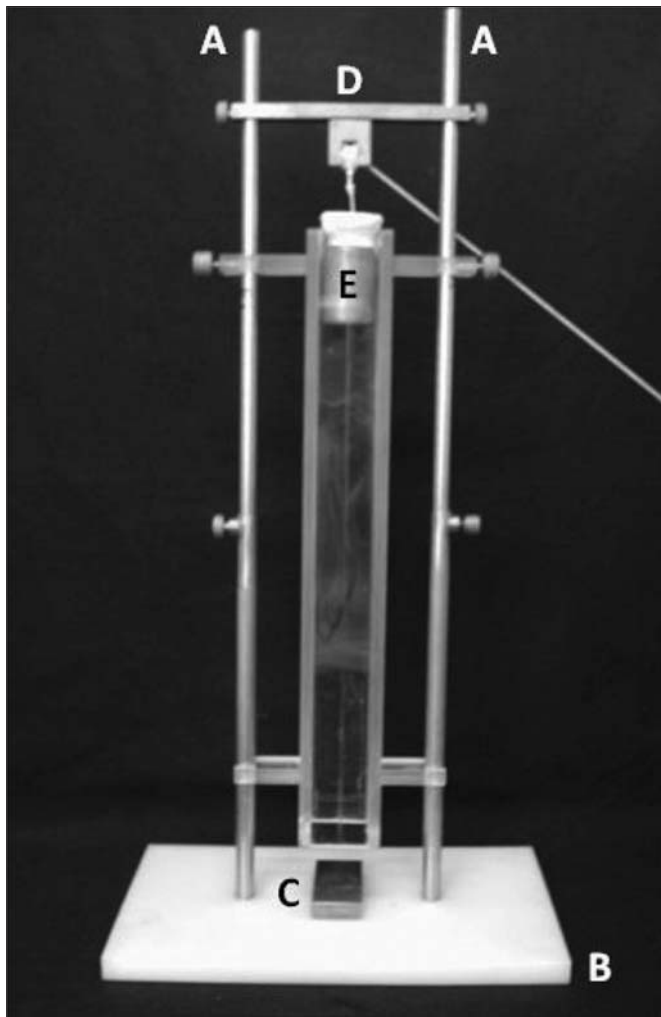


Figura 1. Equipamento de produção da lesão experimental composto por duas hastas metálicas ajustáveis de 30 a 40cm (A), uma base plástica com área de 272,5cm² (B), superfície metálica retangular de área de 12,25cm² (C) e estrutura metálica que suporta a roldana (D) e um fio ligado a uma massa de 200g a ser liberada (E).

peso de 200g liberado a uma altura de 30cm sobre o ventre do músculo gastrocnêmio direito (Figura 2). Os animais dos grupos 2, 3 e 4 foram submetidos a um único trauma e, logo após a produção da lesão, foram inspecionados manualmente para verificação da presença de fraturas ósseas.

Protocolo de irradiação ultra-sônica

Antes de iniciar os tratamentos, os aparelhos foram calibrados no Laboratório de Bioengenharia do Departamento de Materiais da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da USP, utilizando dosímetro de precisão (modelo UPM-DT-1, Ultrasonic Power Meter[®]). Segundo curva de correção dos valores de intensidade emitida pelos fabricantes, enquanto a intensidade nominal do painel era de 0,4W/cm², a emissão nos cabeçotes adaptados era de 0,5W/cm² (*Spatial Average Temporal Average*, SATA).

Para o tratamento do grupo 3, foi utilizado um gerador ultra-sônico comercial da marca Bioset-Ibramed[®], modelo Sonacel III, com frequência de 1MHz. No tratamento do grupo 4, foi utilizado outro gerador ultra-sônico comercial da marca Bioset[®], modelo Sonacel Plus, com frequência de 3MHz. Aos equipamentos, foram adaptados cabeçotes com redução na área de radiação para 1,5cm², 14mm de diâmetro, especialmente confeccionados pelo fabricante (Figura 3). Originalmente, ambos os equipamentos possuíam cabeçotes com área efetiva de radiação (ERA) de 3,5cm². Os animais foram submetidos a sessões diárias de aplicação do UST, na modalidade pulsada, frequência modulada a 100Hz que, segundo informações dos fabricantes, tem ciclo de trabalho 1:5 (2ms on e 8ms off, 20%), intensidade de 0,5W/cm², frequência de 1 ou 3MHz, conforme o grupo. O tratamento foi de cinco minutos diários, durante seis dias consecutivos. Os tratamentos com os equipamentos de ultra-som foram iniciados 24 horas após a produção da lesão, no mesmo período do dia, para os grupos 3 e 4, utilizando como meio de contato gel hidrossolúvel e realizando



Figura 2. Equipamento de produção da lesão experimental no momento em que a massa de 200g cai sobre o ventre do músculo gastrocnêmio.

movimentos circulares sobre o local da lesão. Considerando a lesão experimental na região mais central do ventre muscular, a área tratada correspondeu a toda a região do músculo que, dissecado, tinha, em média, comprimento de 28mm e perímetro de 27mm.

Preparação do músculo gastrocnêmio

Após o término dos protocolos experimentais, os animais foram submetidos à eutanásia, por administração intraperitoneal de dose excessiva do anestésico tiopental sódico, para que seus gastrocnêmios fossem dissecados e submetidos ao ensaio mecânico de tração. Foi retirado o gastrocnêmio do membro posterior direito de cada animal, por meio da remoção da pele e de algumas partes moles, seguida da desarticulação do tornozelo e quadril. Foi tomada a precaução de manter a integridade do músculo, preservando sua origem no terço distal do fêmur e inserção no calcâneo. A origem e a inserção óssea foram mantidas para facilitar a fixação da peça à máquina de ensaio. Após a dissecação, as peças foram colocadas em solução de lactato de Ringer, durante 30 minutos, em temperatura ambiente, até o momento da realização dos ensaios.

Ensaio mecânico de tração

Para o ensaio de tração do músculo gastrocnêmio, foi utilizada a máquina universal de ensaios (modelo DL10000, EMIC®) do Laboratório de Bioengenharia da FMRP- USP, equipada com célula de carga de capacidade de 50kgf. A máquina utilizada possui interface direta a um microcomputador, com o software TESC®, capaz de gerar um gráfico carga *versus* alongamento para cada ensaio. Dois acessórios foram confeccionados para a fixação da peça a ser testada, sendo um para fixação do fêmur e outro para fixação do calcâneo, mantendo o joelho e tornozelo com 90° de angulação. No momento do ensaio, o músculo foi

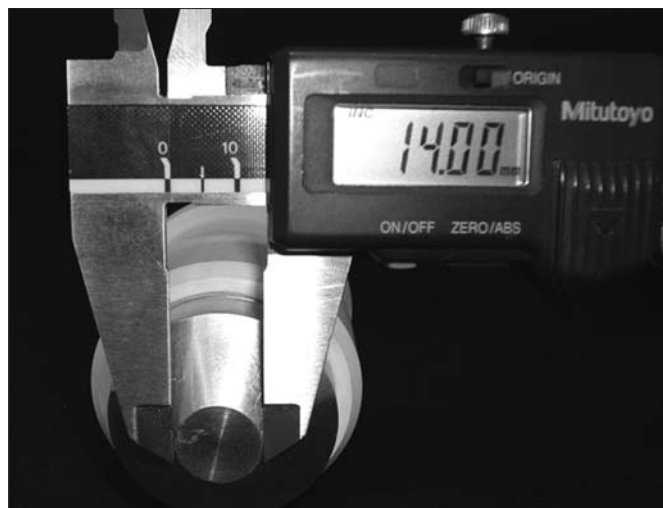


Figura 3. Cabeçote reduzido dos equipamentos de ultra-som terapêutico (14mm).

acoplado à máquina e, conforme metodologia estabelecida pelo laboratório, foi aplicada uma pré-carga de 200g durante o tempo de acomodação de 30 segundos, com o intuito de promover a acomodação do sistema. Toda a metodologia para realização dos ensaios mecânicos já foram validadas em artigo prévio¹³.

Após a pré-carga, o ensaio prosseguiu por, em média, oito minutos, com velocidade pré-estabelecida para o ensaio de 10mm/minuto. A carga aplicada foi registrada pelo software em intervalos regulares de alongamento até o momento de ruptura do músculo. A partir dos gráficos carga *versus* alongamento, de cada ensaio, foram obtidas e analisadas as seguintes propriedades mecânicas:

- alongamento no limite máximo (ALM): é o valor de alongamento do ponto inicial até o ponto de ruptura. É representada em metros ($\times 10^{-3}$ m);
- carga no limite de proporcionalidade (CLM): é o valor máximo de carga registrado durante o ensaio. É representada em Newtons (N);
- rigidez: é uma propriedade biofísica inerente ao músculo e outros materiais que corresponde a resistência elástica perante uma força aplicada. Obtida pela tangente do ângulo (θ) e representada em Newtons/metro (N/m).

Análise estatística

A análise estatística foi feita utilizando o programa BioEstat® v. 2.0. Foi realizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Para análise simultânea dos grupos, foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA) e, para comparação entre os grupos, o teste de Turkey-Kramer, ambos com níveis de significância pré-estabelecidos de 5%.

Resultados

Foram ensaiados 40 músculos, sendo os valores expressos em médias e desvios-padrão para cada uma das propriedades dos quatro grupos analisados.

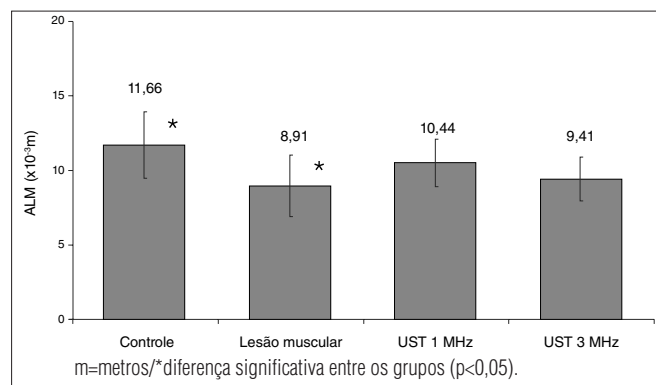


Figura 4. Valores médios (\pm dp) para o alongamento máximo (ALM) dos grupos.

Alongamento no limite máximo (ALM)

As médias e desvios-padrão referentes ao ALM (valor de alongamento observado até o momento de ruptura muscular) dos quatro grupos estão apresentados na Figura 4. Na propriedade de ALM, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) somente entre o grupo 1 (controle) e o grupo 2 (lesionado e sem tratamento).

Carga no limite máximo (CLM)

As médias e desvios-padrão referentes à carga no limite máximo (CLM, valor máximo de carga suportada pelo músculo até o momento de ruptura muscular) dos quatro grupos estão apresentados na Figura 5. Em relação à CLM, o grupo 2 apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos grupos 1, 3 e 4. Também foi observada diferença ($p < 0,05$) entre os grupos 1 e 4. Não foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos 1 e 3, ou ainda entre os grupos 3 e 4.

Rigidez (R)

As médias e desvios-padrão referentes à rigidez (R, correspondente à tangente do ângulo de inclinação da curva carga *versus* alongamento) dos quatro grupos estão apresentados na Figura 6. Na rigidez equivalente (R), o grupo 2 apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos grupos 1, 3 e 4. Não foi observada diferença estatística ($p > 0,05$) entre o grupo controle e os grupos tratados com UST 1 e 3MHz, ou ainda entre estes, tratados com UST.

Discussão

O músculo selecionado para o estudo foi o gastrocnêmio, por sua localização e função. Além disso, o gastrocnêmio trabalha sob condições de atividade física extrema e tem um risco aumentado para lesões e rupturas¹⁴. Esse músculo tem

sido utilizado por outros pesquisadores para estudos de lesão e reparação muscular¹⁵.

O método de indução da lesão muscular adotado neste estudo baseou-se nos trabalhos de Stratton, Heckmann e Francis¹² e Minamoto, Grazziano e Salvini¹⁶, que, por estudos histológicos, relataram sua eficácia. Recentemente, alguns autores utilizaram metodologia semelhante e descreveram que uma massa de 170g era capaz de produzir somente pequena ou nenhuma lesão muscular, adotando, portanto, uma massa de 220g para produção de uma lesão efetiva¹⁵. Após a realização de um estudo piloto, foi observado que uma massa maior que 220g, além de lesão muscular, levava a fratura da tibia e da fíbula. Assim, adotamos uma massa de 200g, buscando produzir uma lesão muscular efetiva sem lesão óssea. Pudemos confirmar a eficácia do equipamento confeccionado e do peso estimulado para produção da lesão experimental ao compararmos os músculos submetidos à lesão aos músculos do grupo controle, intactos. Os músculos lesionados apresentaram redução significativa em relação a todas as propriedades analisadas, sendo observado para o ALM uma redução de 24%; para a CLM, de 44%; e para RE, de 45%.

A irradiação ultra-sônica foi iniciada 24 horas após a produção da lesão experimental – período que consiste, ainda, na fase aguda da reparação tecidual¹⁷⁻¹⁹. Durante o processo fisiológico de reparação, o UST apresenta função protetora por meio da neutralização das substâncias químicas irritativas e pelo estímulo precursor da cicatrização e recuperação subsequente⁴. Os tratamentos com os equipamentos de ultra-som tiveram duração diária de cinco minutos, segundo recomendações para fase aguda de lesão^{20,21}, além de levar em consideração a área da lesão e o comprimento dos músculos. Outros autores sugerem ainda que os efeitos benéficos do UST podem ser obtidos com baixas intensidades ($0,5W/cm^2$)^{22,23}, tempos menores de aplicação (cinco e seis minutos)^{22,23}, ciclo de trabalho 1:5 (2ms *on* e 8ms *off*, 20%)²³ e modo pulsado²⁴, com baixa produção de calor, como os parâmetros utilizados neste estudo. Além

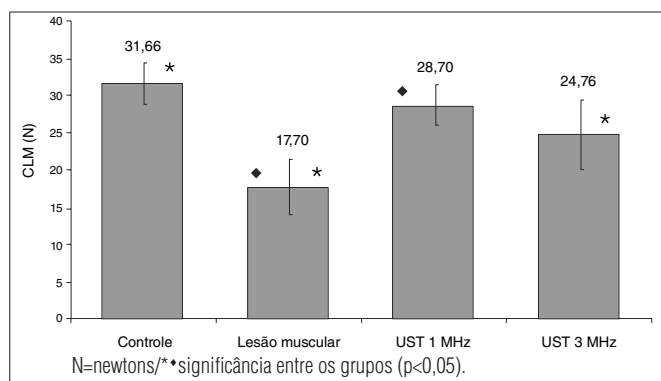


Figura 5. Valores médios ($\pm dp$) para a carga no limite máximo (CLM) dos grupos.

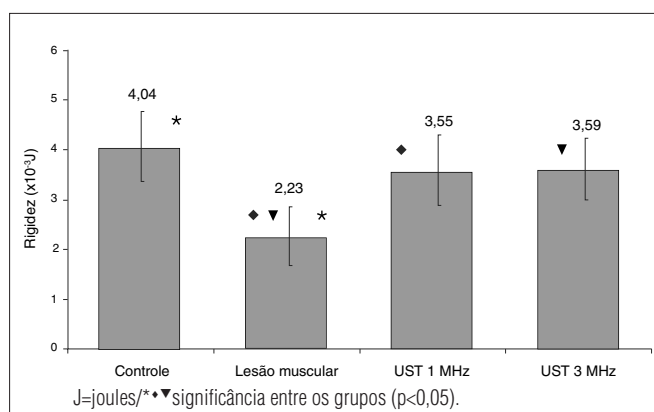


Figura 6. Valores médios ($\pm dp$) para a rigidez dos grupos.

disso, foram decididos estes parâmetros por se tratarem de valores tipicamente utilizados na prática clínica.

A efetividade do UST ainda é muito discutida por outros estudos. Enquanto alguns autores encontraram resultados positivos na utilização do UST em cicatrização de tendões lesionados, queimaduras e epicondilite, outros não encontraram efetividade no tratamento de úlceras por queimaduras e lesões musculares^{10,25,26}. Alguns fatores, como o tipo de tecido avaliado, o modelo de lesão experimental, a intensidade e a frequência do tratamento com o ultra-som²⁷ e, sobretudo, a não calibração dos aparelhos e a falta de um protocolo para determinação de uma dose específica para cada indivíduo contribuem para essa divergência de resultados. Os efeitos do ultra-som sobre os aspectos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos no sistema músculo-esquelético têm sido amplamente estudados^{6,10,12,27}. Por outro lado, poucos foram os trabalhos encontrados na literatura que analisaram o comportamento das propriedades mecânicas dos tecidos biológicos frente aos agentes terapêuticos.

Os músculos esqueléticos estão continuamente sendo remodelados e, durante este processo, podem ocorrer mudanças no seu comprimento, diâmetros e resistências²⁸. Após uma lesão, alguns autores recomendam a utilização de agentes externos, como o UST, visando acelerar o processo de reparação tecidual²⁹ possibilitando a recuperação em menor período. Dessa forma, o UST tem sido um recurso empregado para o tratamento fisioterapêutico de muitas afecções do sistema musculoesquelético³⁰ e, apesar dos resultados quanto a sua eficácia serem conflitantes, ficou demonstrado, neste estudo, que o músculo esquelético não permanece inerte à ação do ultra-som. Observou-se que sua utilização, junto aos músculos lesionados, acelerou o processo de reparação, aumentando a rigidez e a carga suportada à tração nos músculos tratados com o UST. O UST-1MHz promoveu acréscimo em 38% na CLM e em 37% na RE e o UST-3MHz em 29 e 38%, respectivamente. O mesmo não foi observado nos músculos lesionados e não tratados.

Alguns autores, ao estudarem as propriedades mecânicas musculares, mencionam que a propriedade de rigidez é fundamental à análise¹³. Sua redução indica que o músculo está se alongando mais na presença de cargas menores, o que indica uma maior susceptibilidade às lesões³¹. Pôde-se observar, neste estudo, uma melhora significativa da rigidez dos músculos tratados com o ultra-som, o que sugere um melhor estado destes músculos quando comparados àqueles que não receberam este tratamento.

Considerando a modalidade pulsada utilizada neste estudo, seria adequado afirmar que a melhora nas propriedades mecânicas obtidas nos músculos tratados com os equipamentos de ultra-som seja atribuída, principalmente, aos efeitos mecânicos ou atérmicos. No entanto, alguns autores³² sugerem que a divisão entre efeitos térmicos e mecânicos é puramente didática, uma vez que, na prática, estes efeitos não podem ser separados.

Conclusões

A intervenção terapêutica por meio do ultra-som promoveu aumento das propriedades mecânicas nos músculos lesionados, aproximando-as do grupo controle, indicando, assim, recuperação parcial destes músculos. Não foi observada diferença significativa entre as propriedades mecânicas do grupo tratado com ultra-som de frequência 1MHz e as do grupo tratado com ultra-som de frequência de 3MHz. Provavelmente, a fina espessura do músculo dos ratos contribuiu para que as duas frequências terminassem se comportando de modo semelhante.

Apesar dos bons resultados encontrados neste estudo, é fundamental a continuidade das pesquisas em recursos como o UST, visando, em médio prazo, a criação de protocolos e a determinação de parâmetros mais precisos para cada indivíduo, fortalecendo, assim, sua comprovação científica.

Referências bibliográficas

1. Carazzato JG. Lesões músculo-esqueléticas e seu tratamento. *Rev Bras Ortop.* 1994;29:723-8.
2. Crisco JJ, Jokl P, Heinen GT, Connell MD, Panjabi MM. A muscle contusion injury model. Biomechanics, physiology, and histology. *Am J Sports Med.* 1994;22(5):702-10.
3. Botelho AP, Facio FA, Minamoto VB. Regeneração do músculo tibial anterior em diferentes períodos após lesão por estimulação elétrica neuromuscular. *Rev Bras Fisioter.* 2007;11(2):99-104.
4. Dyson M. Mechanisms involved in therapeutic ultrasound. *Physiotherapy.* 1987;73(3):116-20.
5. Docker MF. A review of instrumentation available for therapeutic ultrasound. *Physiotherapy.* 1987;73(4):154-5.
6. Ter Haar G. Princípios eletrofísicos. In: Kitchen S, Bazin S. *Eletroterapia de Clayton.* São Paulo: Manole; 1998.p. 3-30.
7. Maxwell L. Therapeutics ultrasound: its effects on the cellular and molecular mechanisms of inflammation and repair. *Physiotherapy.* 1992;78(6):421-6.
8. Low J, Reed A. *Eletroterapia explicada: princípios e práticas.* 3ª ed. São Paulo: Manole; 2001. p. 187-228.
9. Dyson M, Pond JB. The effects of ultrasound on circulation. *Physiotherapy.* 1973;59(9):284-7.
10. Rantanen J, Thorsson O, Wollmer P, Hurme T, Kalimo H. Effects of therapeutic ultrasound on the regeneration of skeletal myofibres after experimental muscle injury. *Amer J Sports Med.* 1999;27(1):54-9.
11. Karnes JL, Burton HW. Continuous therapeutic ultrasound accelerates repair of contraction-induced skeletal muscle damage in rats. *Arch Phys Med Rehabil.* 2002;83(1):1-4.
12. Stratton SA, Heckmann R, Francis RS. Therapeutic ultrasound, its effects on the integrity of a nonpenetrating wound. *J Orthop Sports Phys Ther.* 1984;5:278-81.
13. Matheus JPC, Gomide LB, Oliveira JGP, Volpon JB, Shimano AC. Efeitos da estimulação elétrica neuromuscular durante a imobilização nas propriedades mecânicas do músculo esquelético. *Rev Bras Med Esporte.* 2007;13(1):55-9.
14. Järvinen MJ, Einola SA, Virtanen EO. Effect of the position of immobilization upon the tensile properties of the rat gastrocnemius muscle. *Arch Phys Med Rehabil.* 1992;73(3):253-7.
15. McBrier NM, Lekan JM, Druhan LJ, Devor ST, Merrick MA. Therapeutic ultrasound decreases mechano-growth factor messenger ribonucleic acid expression after muscle contusion injury. *Arch Phys Med Rehabil.* 2007;88:936-40.
16. Minamoto VB, Grazziano CR, Salvini TF. Effect of single and periodic contusion on the rat soleus muscle at different stages of regeneration. *Anat Rec.* 1999;254(2):281-7.
17. Oakley EM. Dangers and contra-indications of therapeutic ultrasound. *Physiotherapy.* 1978;64(6):173-4.
18. Gogia PP. Physiology of wound healing. In: Gogia PP. *Clinical wound management.* 1ª ed. United States of America: Slack Incorporated; 1995. p. 1-12.
19. Järvinen TAH, Järvinen TLN, Kääriäinen M, Äärilä V, Vaitinen S, Kalimo H, et al. Muscle injuries: optimising recovery. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2007;21(2):317-31.
20. Hogan RD, Burke KM, Franklin TD. The effect of ultrasound on microvascular hemodynamics in skeletal muscle: effects during ischemia. *Microvasc Res.* 1982;23:370-9.
21. Young SR, Dyson M. Effect of therapeutic ultrasound on the healing of full-thickness excised skin lesions. *Ultrasonics.* 1990;28(3):175-80.
22. Enwemeka CS, Rodriguez O, Mendosa S. The biomechanical effects of low-intensity ultrasound on healing tendons. *Ultrasound Med Biol.* 1990;16(8):801-7.
23. Carvalho PTC, Silva IS, Reis FA, Belchior ACG, Aydos RD, Facco GG, et al. Histological study of tendon healing in malnourished Wistar rats treated with ultrasound therapy. *Acta Cir Bras.* 2006;21(4):13-7.
24. Dyson M. Non-thermal cellular effects of ultrasound. *Br J Cancer Suppl.* 1982;45(5):165-71.
25. Wilkin LD, Merrick MA, Kirby TE, Devor ST. Influence of therapeutic ultrasound on skeletal muscle regeneration following blunt contusion. *Int J Sports Med.* 2004;25:73-7.
26. Markert CD, Merrick MA, Kirby TE, Devor ST. Nonthermal ultrasound and exercise in skeletal muscle regeneration. *Arch Phys Med Rehabil.* 2005;86:1304-10.
27. Karnes JL, Burton HW. Continuous therapeutic ultrasound accelerates repair of contraction-induced skeletal muscle damage in rats. *Arch Phys Med Rehabil.* 2002;83:1-4.
28. Guyton AC, Hall J. *Textbook of medical physiology.* 11 ed. Pennsylvania: Elsevier Philadelphia; 2006.
29. Dyson M, Suckling J. Stimulation of tissue repair by ultrasound: a survey of mechanisms involved. *Physiotherapy.* 1978;64(4):105-8.
30. Monte-Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Fazan 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(1):113-9.
31. Järvinen MJ, Einola SA, Virtanen EO. Effect of the position of immobilization upon the tensile properties of the rat gastrocnemius muscle. *Arch Phys Med Rehabil.* 1992;73(3):253-7.
32. Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *Phys Ther.* 2001;81(7):1351-8.