

Avaliação de Frequência, Temperatura e Atenuação da Dose de Ultrassom Terapêutico em Modelo de Biomembrana de Pele Suína

OLIVEIRA, G.¹; TASSINARY, J.A.F.²; BIANCHETTI, P.³; STÜLP, S.⁴

1-Fisioterapeuta, Centro Universitário UNIVATES, 95900-000, Lajeado – RS, Brasil.

2-Fisioterapeuta, Mestre em Ambiente e Desenvolvimento, Docente da UNIVATES, 95900-000, Lajeado – RS, Brasil.

3-Fisioterapeuta, Mestre em Biotecnologia, Docente da UNIVATES, 95900-000, Lajeado – RS, Brasil.

4-Química Industrial, Doutora em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Docente da UNIVATES, 95900-000, Lajeado – RS, Brasil.

Resumo

Introdução: O ultrassom terapêutico (UST) é utilizado na medicina regenerativa, profissionais da saúde evidenciam que o recurso é efetivo no tratamento de uma grande variedade de condições fisiopatológicas, principalmente ligadas ao sistema musculoesquelético e ao sistema tegumentar. Durante a prática clínica é fundamental que o profissional tenha consciência da relação de emissão de onda ultrassônica e a interação da mesma nas diferentes interfaces teciduais. Logo se faz necessário a realização de estudos acerca da transmissão de onda ultrassônica para o funcionamento e uso adequado do aparelho. **Objetivos:** verificar, *in vitro*, a frequência, temperatura e o percentual de atenuação emitidos pelo ultrassom em diferentes interfaces teciduais; epiderme, derme e tecidos moles. **Métodos:** Para a realização dos experimentos utilizou-se um sistema contendo pele de suíno acoplado sobre um corpo de prova (*phantom*). As variáveis foram analisadas no gel, epiderme, derme e no *phantom* em 10 e 18 mm. **Resultados:** Observou-se que a frequência de onda emitida se manteve em torno de 3 MHz até 1,8 cm de profundidade no corpo de prova. Sendo que a dose inicial programada no aparelho sofreu atenuação na medida em que passou pelas diferentes interfaces teciduais. **Conclusão:** O estudo mostrou que a frequência se manteve em todas as interfaces teciduais, já a intensidade sofreu atenuação na medida em que a onda ultrapassava diferentes camadas, quanto a temperatura a pesquisa mostra que houve maior aumento de calor na região dérmica.

Palavras-chave: Ultrassom. Reabilitação. Atenuação.

1. Introdução

É com satisfação que apresentamos este texto para que os autores possam apresentar os O ultrassom é um recurso físico amplamente utilizado na medicina, tanto para diagnóstico quanto para terapia. É definido como: vibração mecânica acústica de alta frequência, que produz efeitos fisiológicos térmicos e não térmicos. Sua ação benéfica tem sido demonstrada no tratamento de várias condições patológicas, com diferentes objetivos, tais como: promover a cicatrização de úlceras cutâneas, estimular a neovascularização em tecidos isquêmicos, promover a integração de enxertos de pele total, acelerar a consolidação de fraturas (Amâncio, 2003; Matheus, JPC, 2008; Borges FS, 2006; Dionísio, VC; Volpon, JB, 1999).

A frequência utilizada caracteriza-se pelo número de ciclos de ondas completados a cada segundo, sendo determinante para a profundidade de penetração no tecido (Prentice, WE, 2004; Guirro

ECO; Guirro RRJ, 2007; Menezes, DF et al., 1999). Há a possibilidade de utilizar diferentes frequências, 1 e 3 MHz, sendo que as frequências mais altas (3 MHz) são absorvidas mais intensamente, tornando-as mais específicas para o tratamento de tecidos superficiais, enquanto que as frequências mais baixas (1 MHz) penetram mais profundamente, utilizadas para o tratamento de tecidos profundos (Arnould-Taylor, W, 1999; Martines, M U et al, 2000; Menezes, DF et al, 1999).

A atenuação ultrassônica é um índice quantitativo associado à perda de energia de uma onda mecânica em relação a um meio de propagação a ser analisado. São utilizadas técnicas que avaliam a frequência e intensidade para obter a estimativa da atenuação (Olsson, DC et al, 2006; Ter Haar, G., 1999; Villamarin, MJA, 2010).

A produção de calor pelo aparelho desencadeia no organismo respostas significativas, sendo que esta ocorre com a utilização de intensidades entre 0,5

W/cm² e 1 W/cm² (Kitchen, S.; Bazin, S., 1996). Logo as vibrações provocadas pelo ultrassom terapêutico (UST) geram um gradiente de pressão negativo, promovendo o efeito de micromassagem, o que resulta em aumento do metabolismo celular, do fluxo sanguíneo, do suprimento de oxigênio, assim, age como um catalisador físico, facilitando as respostas celulares ao estímulo oferecido (Kornowski, R. et al., 1994; Kitchen, SS; Partridge, C.J., 1990; Machado, C.M., 1991)

A absorção de calor depende das condições dos tecidos tissulares, assim como do grau de vascularização e da frequência gerada pelo aparelho. Por exemplo, o tegumento com elevados conteúdos proteicos absorve mais rapidamente o aumento da temperatura, do que aqueles com elevado percentual de gordura (Kitchen, S.; Bazin, S., 1996; Partridge, C.J., 1990; Machado, C.M., 1991)

Para que seja possível a adequada avaliação dos equipamentos de UST, faz-se necessária a utilização de membranas e corpos de prova que mimetizem os tecidos humanos (Bianchetti, P., 2009). São utilizados modelos de biomembrana de pele de cobra, que simulam o estrato córneo e pele suína por apresentar semelhança morfológica à pele humana (Bettoni, C C., 2009).

Para simulação de tecidos moles, são utilizados corpos de prova confeccionados com policloreto de polivinila (PVC), glicerina, grafite, água, detergente e ágar-ágar em pó, denominadas phantom. Estes demonstraram propriedades termo acústicas semelhantes aos tecidos humanos (Basto RLQ, 2007).

O objetivo deste estudo foi verificar o percentual de atenuação da dose, verificar frequência emitida pelo transdutor ultrassônico e a temperatura atingida nas diferentes camadas da pele durante o procedimento.

2. Materiais e Métodos

Esta é uma pesquisa qualitativa e quantitativa, do tipo experimental, realizada no Núcleo de Eletrofotocímica e Materiais Poliméricos (NEMP), do Centro Universitário Univates.

2.1. Ultrassom terapêutico

O estudo foi realizado com um UST modelo Avatar III (KLD), transdutor de 3 MHz, como parâmetros se utilizou: modo contínuo, com intensidade de 1 W/cm² e para meio de acoplamento foi utilizado hidrogel (Mercur S.A.).

2.2. Biomembrana e Corpo de Prova Phantom

Com a finalidade de simular o tegumento humano se utilizou uma biomembrana de suíno, adquiridas em um frigorífico. As peles foram dissecadas em tamanhos de 5 cm², sendo que na epiderme a espessura possuía 1,4 mm e na derme 2,5 mm;

medidas realizadas através de um paquímetro, sendo estas similares a espessura da pele humana (Oriá, S, Fernandes, F, 2003).

Para simular as características físicas dos tecidos moles adjacentes, foram confeccionados corpos de prova phantom, para tal utilizou-se: água destilada (86,5 %), glicerina (11 %), ágar-ágar em pó (2,5 %), policloreto de polivinila (PVC) ralado (5 g); pó de grafite (1,2 g), detergente e antiespumante (10 % do total da solução). Os ingredientes foram pesados em balança analítica de alta precisão (Splabor S.P) e colocados em um becker, a mistura foi aquecida em chapa aquecedora (Fisatom S.A) até atingir 70 °C, sendo mantida fechada para que não houvesse evaporação de água. Após o resfriamento (~50 °C), homogeneizou-se o conteúdo por 5 minutos, sendo então adicionados em recipientes com 3 centímetros de altura, esperando-se até a geleificação da amostra em temperatura ambiente para posterior uso (Basto RLQ, 2007).

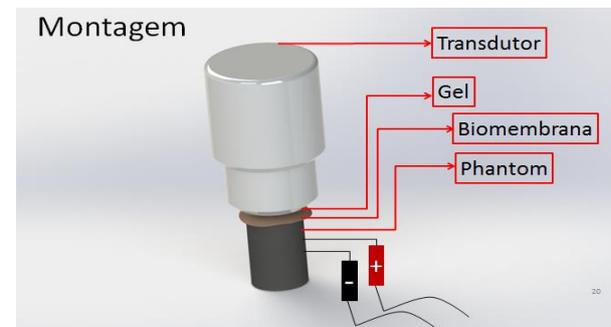


Figura: 1 Representação da montagem do sistema de avaliação *in vitro* de avaliação do UST. Fonte: Autor

O sistema foi montado conforme figura 1, o transdutor do US foi fixado por uma haste metálica. Foi utilizado como meio de acoplamento hidrogel sobre a pele suína e esta estava disposta sobre o phantom (Bettoni, C C, 2009; Basto RLQ, 2007; Oriá, S, Fernandes, F B, 2003; Ishikawa, NM; Alvarenga, AV; Paes, LFC; Pereira, WCA; Machado, JC, 2002). Os valores de frequência, intensidade e temperatura foram avaliados ao longo dos 5 minutos em cada interface tecidual: no gel (eletrodo em contato com a epiderme), na epiderme, derme e 10 mm e 18 mm abaixo da derme (medição no phantom).

2.3 Avaliação da Frequência e Intensidade da Onda Sonora

Para avaliação da frequência e intensidade da onda ultrassônica foram utilizados: osciloscópio (Tektronix 1002), multímetro (Minipa 2081) e eletrodos de fio de prata, posicionados nas diferentes interfaces teciduais, foi utilizado um multímetro para verificar o valor da resistência imposta pela interface analisada à onda sonora. Os eletrodos de fio de prata possuíam área de 1,19 cm².

Para determinar a intensidade em watts foi preciso calcular a corrente elétrica, sendo que ampere é

igual a volts dividido pela resistência em ohms, ($I=E/R$) e após identificar a potência em watts, multiplicando ampere pela resistência ($P= I \times E$). Obtendo o valor da potência dividiu-se pela área total do eletrodo, resultando em watts por cm^2 .

Avaliação da temperatura promovida pela onda sonora

A temperatura foi aferida com um multímetro (Minipa 2081), foi utilizado o mesmo modelo de montagem do sistema para esta avaliação.

2.4 Análise de Dados

As análises foram realizadas em triplicatas. Os dados foram tabulados em programa Microsoft Windows Excel 2003 e foi realizado cálculo da média e desvio-padrão das amostras.

3. Resultados

Foi avaliada a frequência da onda através do osciloscópio, na figura 2 pode-se verificar que a frequência de 3 MHz se manteve constante nas diferentes interfaces; gel (eletrodo em contato com a epiderme), epiderme, derme e phantom em 10 e 18 mm.

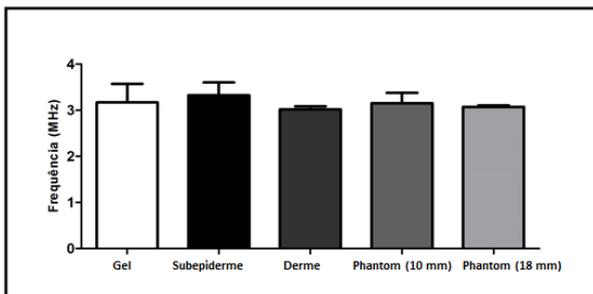


Figura 2: Frequência do ultrassom contínuo de baixa intensidade nas diferentes interfaces teciduais, gel, epiderme, derme, phantom em 10 mm e 18 mm. Dados expressos em média \pm EPM. N=3

Na avaliação da intensidade do feixe ultrassônico, ocorreu a redução desta, na medida em que a onda avança as diferentes interfaces teciduais. Foi verificada intensidade média de $1,01 W/cm^2$ no gel (eletrodo em contato com a epiderme), $0,91 W/cm^2$ na camada epidérmica, $0,75 W/cm^2$ na derme, $0,23 W/cm^2$ e, 10 mm no phantom e $0,08 W/cm^2$ em 18 mm no phantom.

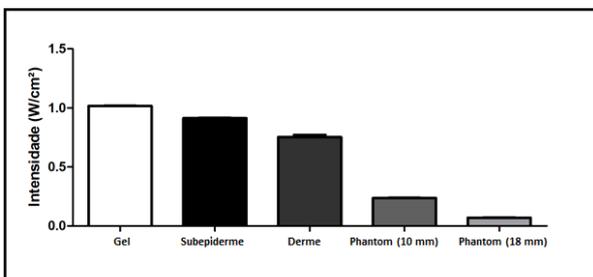


Figura.3: Intensidade do ultrassom contínuo de baixa intensidade nas diferentes interfaces teciduais, gel, epiderme, derme, phantom (10 mm) e phantom (18 mm). Dados expressos em média \pm EPM. N=3

Verificou-se que o ultrassom de baixa intensidade apresenta atenuação de cerca $0,10 W/cm^2$ na camada epidérmica, $0,26 W/cm^2$ na derme, $0,78 W/cm^2$ a 10 mm no phantom e $0,96 W/cm^2$ a 18 mm no phantom.

Na avaliação da temperatura observou-se que esta sofre alteração conforme a interface tecidual analisada. A figura 4 demonstra que o UST provoca um aquecimento médio de $12 ^\circ C$ no gel (eletrodo em contato com a epiderme), na epiderme de $10 ^\circ C$, na derme $24 ^\circ C$, de $17,6 ^\circ C$ no phantom a 10 mm e $2 ^\circ C$ no phantom a 18 mm no tempo de 5 minutos.

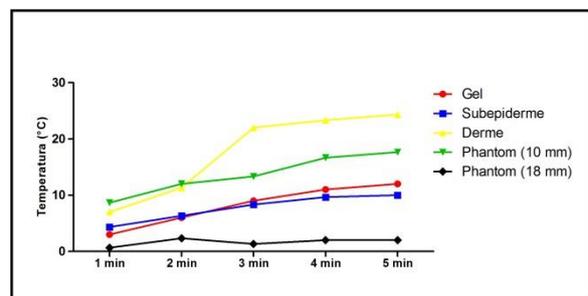


Figura 4: Temperatura promovida pelo ultrassom contínuo de baixa intensidade nas diferentes interfaces teciduais, sobre a epiderme, epiderme, derme, phantom (10 mm) e phantom, (18 mm) em função do tempo. Dados expressos em média \pm EPM. N=3]

4. Discussão

Os resultados obtidos demonstraram que a frequência de 3 MHz se manteve constante nas diferentes interfaces teciduais. Pois quanto maior a frequência da onda sonora, maior a capacidade de absorção e menor a profundidade de penetração (Valma JR AND Kerry GB, 2001). Ou seja, como a perda de energia aumenta com a elevação das frequências do ultrassom, as frequências mais baixas penetram mais nos tecidos (Capalonga, L; Bianchetti, P; Santos, LCM; Barnes, D; Stülp, S, 2011; Hayes, BT; Sandrey, MA; Merrick MA, 2001).

A profundidade de penetração sonora está diretamente relacionada com a frequência da onda, as de 3 MHz são utilizadas para atingirem profundidades inferiores a 2,5 cm, enquanto que ondas de 1 MHz são recomendadas para atingir profundidades superiores a 2,5 cm, podendo alcançar de 4 a 5 cm (Hayes, BT; Sandrey, MA; Merrick MA, 2001).

Ferrari e cols. (2008) encontraram variações maiores que 10% para a frequência de 1 MHz, sendo os limites de 0,92 e 1,22 MHz. Para equipamentos que operavam em 3 MHz todos se

apresentavam dentro dos limites permitidos, sendo o menor valor 2,92 e o maior 3,01 MHz. Os autores ainda sugerem que equipamentos com mais de 10 anos e transdutores mais modernos com duas frequências podem ter variação maior, comprometendo a exatidão da frequência desejada (Ferrari, CB, 2008).

O UST pode ser utilizado em duas intensidades; baixa (0,125 – 3 W/cm²) e alta (acima de 5 W/cm²) (Leung, MC, 2004; Associação Brasileira de normas técnicas, 1998). Para a determinação da intensidade terapêutica correta, a dose ideal deverá chegar até o tecido alvo, levando-se em consideração a atenuação das ondas sonoras nos tecidos superficiais até a área a ser tratada (Borges FS, 2006; Piercy, J. et al, 1994).

Os resultados da avaliação da intensidade do feixe ultrassônico elucidaram uma intensidade média de 1,01 W/cm² no gel (eletrodo em contato com a epiderme), 0,91 W/cm² na camada epidérmica, 0,75 W/cm² na derme, 0,23 W/cm² e, 10 mm no phantom e 0,08 W/cm² em 18 mm no phantom.

Grande parte da atenuação ultrassônica se deu na derme, fenômeno esse que esta possivelmente relacionado com a quantidade de proteínas e células densas contidas nesta interface tegumentar, que por si favorece a absorção de energia, reduzindo assim a incidência sonora nas estruturas adjacentes (Borges FS, 2006; Dionísio, VC; Volpon, JB, 1999; Oriá, S, Fernandes, F B, 2003)

É importante frisar que para ocorrer maior eficácia terapêutica é fundamental que a dose ideal chegue até o tecido alvo, avaliando-se a atenuação sofrida pela onda desde os tecidos mais superficiais até o local a ser tratado (Borges FS, 2006; Piercy, J. et al, 1994).

O ultrassom terapêutico produz efeitos térmicos, e este está relacionado com o atrito criado pelas ondas que passam através do tecido favorecendo a vibração celular e de suas partículas, o que produz assim o aumento da temperatura. A produção de calor pode ser maior nas áreas limítrofes, como por exemplo, músculo/osso, devido ao fato de ser uma área com menor capacidade de absorção e alto poder de refração da onda, este fato pode tornar a região altamente aquecida ao receber a onda sonora (Arnould-Taylor, W, 1999).

No presente estudo demonstrou-se que o UST provoca um aquecimento médio de 12 °C no gel (eletrodo em contato com a epiderme), na epiderme de 10 °C, na derme 24 °C, de 17,6 °C no phantom a 10 mm e 2 °C no phantom a 18 mm no tempo de 5 minutos. O aumento da temperatura induzida pelo UST depende de diversos fatores, como frequência, duração do pulso, intensidade e tempo de exposição, aliados às propriedades do tecido insonado (Dalecki, D. 2004).

O efeito térmico está associado a altas intensidades de onda e ao modo contínuo, além disso, a forma de aplicação (estacionária ou móvel), dimensões do corpo aquecido e a presença de superfícies refletoras na frente ou atrás do tecido de interesse, a dose de aplicação e as interfaces que separam os tecidos também interferem no efeito térmico (Piercy, J. et al, 1994; Dalecki, D, 2004).

De acordo com Maggi et al (2008), o UST altera a temperatura dos tecidos, os autores verificaram através de software específico que ocorre elevação do calor no tecido ósseo, até 43,25 °C quando aplicado a frequência de 1 MHz, com intensidade de 2 W/cm². Neste mesmo estudo foi avaliado o aquecimento ocasionado no tecido muscular e de gordura chegando a uma temperatura de 39 °C e 37 °C, respectivamente, sendo que para simulação do aquecimento na pele utilizaram a frequência de 3 MHz com a mesma dose, elevando a temperatura para 46 °C evidenciando resultados semelhantes aos encontrados em nosso estudo que foram em média de 44 °C (Maggi LE, Omena TP, von Krüger MA, Pereira WCA, 2008).

Para Sá e Cols. (2008), para se obter efeitos térmicos, o tecido deve ser aquecido entre 40 e 45 °C por cinco a 10 minutos. Temperaturas abaixo de 40 °C não resultam em efeitos térmicos (apenas atérmicos). Pensando nas células colagenosas existentes na derme um aquecimento de 3 a 4 °C mantidos por 5 minutos é suficiente para aumentar a extensibilidade do colágeno (Sá, JN, Burigo, WCA, Pereira, MAV, 2008).

O mesmo estudo utilizou um phantom constituído por PVC, grafite e ágar para avaliar o aquecimento dos tecidos subjacentes a pele. O protocolo utilizado foi: tempo de 5 min, intensidades de 1 e 2 W/cm², modo contínuo na frequência de 1 MHz. Observou-se aumento da temperatura que variou de 4 a 6 °C na intensidade de 1 W/cm², enquanto que em 2 W/cm² o aquecimento gerado chegou a uma variação de 7 a 11 °C, sendo que as avaliações foram realizadas a uma profundidade de 2 cm (Sá, JN, Burigo, WCA, Pereira, MAV, 2008).

Em estudo realizado com pele suína, comparou a aplicação estática do UST contínuo com frequência de 2 MHz e intensidade de 2 W/cm² e a aplicação em movimento circular em 3 cm/s, o que representa uma área com o dobro da área de radiação efetiva (ERA). Neste estudo obteve-se uma imagem térmica, a partir desta foi possível avaliar que na aplicação estática, ocorrem zonas de hiperaquecimento, tanto no tecidosubcutâneo, quanto no tecido osso, enquanto que na aplicação com movimento, a zona de hiperaquecimento se limitou a região subcutânea. Assim a movimentação do transdutor evita os picos de aquecimento causados pela geometria dos tecidos principalmente o osso (Demmink, JH; Helders, PJM, 2003).

5. Considerações Finais

Os resultados encontrados demonstram que a frequência de 3 MHz se manteve em todas as interfaces aplicadas, alcançando 18 mm de profundidade. Em relação à intensidade observamos uma redução na medida em que diferentes tecidos foram ultrapassados pela onda sonora, o percentual de emissão da onda reduziu a cada nível de tecido analisado. De fato a onda sonora sofre atenuação toda vez que passa por um tecido, quanto à temperatura, mensuramos um aumento com maior intensidade na região dérmica, possivelmente onde há maior concentração da onda sonora e menor dissipação, devido às características específicas do tegumento.

Estes dados podem oferecer ao terapeuta uma possibilidade de maior confiabilidade para que possa utilizar os parâmetros do equipamento de maneira correta, potencializando o efeito do mesmo e não ocasionando malefícios ao paciente por uma dose elevada, tão pouco por uma terapia ineficiente realizada com parâmetros baixos, com doses que não atingiriam o tecido alvo devido à atenuação sofrida pela onda.

Referências

- [1] Amâncio, AG Efeitos do ultrassom terapêutico na integração de enxertos da pele total em coelhos. 2003. 53 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
- [2] Arnould-Taylor, W. Princípios e prática de fisioterapia. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 1999.
- [3] Associação Brasileira de normas técnicas. Ultrassom: Sistemas de fisioterapia: prescrições para desempenho e métodos de medição na faixa de frequências de 0,5 MHz a 5 MHz, NBR IEC 1689. Rio de Janeiro; 1998.
- [4] Basto RLQ. Construção de um Phantom Sintético com propriedades Termofísicas e Ultrassônicas Similares às do Tecido Biológico Humano em 1,0 e 2,8 MHz. [Dissertação] Programas de pós-graduação de engenharia da universidade federal do rio de janeiro. Rio de Janeiro, 2007.
- [5] Bettoni, C C. Avaliação da penetração cutânea de nano cápsulas de isotretinoína por tape stripping in vitro em pele humana e suína – [Dissertação] Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- [6] Bianchetti. P. Avaliação Das Variáveis Associadas Ao Uso De Fonoforese Na Veiculação Do Extrato Glicólico De Arnica Montana. Trabalho de conclusão de curso apresentado à banca examinadora para obtenção do título de bacharel em fisioterapia. Centro Universitário UNIVATES, 2009.
- [7] Borges FS Dermatofuncional: modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas, São Paulo: Phorte, 2006.
- [8] Capalonga, L; Bianchetti, P; Santos, LCM; Barnes, D; Stülp, S - Avaliação da transmissibilidade e frequência da onda sônica de equipamentos de ultrassom terapêutico, Ver Ciência em Movimento, Ano XIII, No 25, 2011.
- [9] Dalecki, D. Mechanical Bioeffects of ultrasound. Annual Reviews Biomedical Engineering. New York, 2004.
- [10] Demmink, JH; Helders, PJM. The Effect of Moving an Ultrasound Transducer on Tissue Heating” Advances in Physiotherapy, 2003.
- [11] Dionísio, VC; Volpon, JB. Ação do ultrassom terapêutico sobre a vascularização pós-lesão muscular experimental em coelhos. Revista Brasileira de Fisioterapia, 1999.
- [12] Ferrari, CB. Avaliação do desempenho de equipamentos de ultrassom terapêutico – Dissertação de Mestrado do programa de pós-graduação em Fisioterapia, Universidade Metodista de Piracicaba, 2008.
- [13] Guirro ECO; Guirro RRJ. Fisioterapia Dermatofuncional: fundamentos, recursos, patologias. 3. Ed. Barueri: Manole, 2007.
- [14] Hayes, BT; Sandrey, MA; Merrick MA. The Differences Between 1MHZ and 3 MHZ Ultrasound in the Heating of Subcutaneous Tissue. Athletic Training, Indiana, 2001.
- [15] Ishikawa, NM; Alvarenga, AV; Paes, LFC; Pereira, WCA; Machado, JC. Análise do desempenho de equipamentos de ultrassom para fisioterapia, operando na cidade do Rio de Janeiro, conforme a norma NBR/IEC 1689 da ABNT. Rev. bras. fisioterapia, 2002.
- [16] Kitchen, S.; Bazin, S. Eletroterapia de Clayton. 10. ed. São Paulo: Manole, 1996.
- [17] Kitchen, SS; Partridge, CJ. A review of therapeutic ultrasound: I. Background, physiological effects and hazards. Physiotherapy, 1990.

- [18] Kornowski, R. et al. Does external ultrasound accelerate thrombolysis? Results from a rabbit model. *Circulation*, 1994.
- [19] Leung, MC; Yip KK. Effect of ultrasound on acute inflammation of transected medial collateral ligaments. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2004.
- [20] Machado, CM. Ultrassom. In: *Eletroterapia prática*. 2. ed. São Paulo: Pancast, 1991.
- [21] Maggi LE, Omena TP, von Krüger MA, Pereira WCA. Didactic software for modeling heating patterns in tissues irradiated by therapeutic ultrasound. *Rev. bras. fisioter.* 2008.
- [22] Martines, M U et al. O efeito do ultrassom em reações químicas. *Química Nova*, 2000.
- [23] Matheus, JPC; Oliveira, FB; Gomide, LB; Milani, JGPO; Volpon, JB; Shimano, AC - Efeitos do ultrassom terapêutico nas propriedades mecânicas do músculo esquelético após contusão - *Rev. Bras. Fisioter.* São Carlos, 2008.
- [24] Menezes, DF et al. Aplicação de ultrassom terapêutico em lesão experimental aguda. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, 1999.
- [25] Olsson, DC et al. Pulsed and continuous ultrasound stimulation in rats healing celiotomy. *Ciência Rural*, 2006.
- [26] Oriá, S, Fernandes, F B - Estudo das alterações relacionadas com a idade na pele humana, utilizando métodos de histo-morfometria e autofluorescência. *An. bras. Dermatol.* Rio de Janeiro, 78(4): 425-434 jul./ago. 2003.
- [27] Piercy, J. et al. Habilidades da fisioterapia: ultrassom. In: *Fisioterapia de Tidy*. 12. ed. São Paulo: Santos Livraria, 1994
- [28] Prentice, WE. *Modalidades Terapêuticas para Fisioterapeutas*. 2. Ed, Porto Alegre: Artmed, 2004.
- [29] Sá, J.N; Burigo, WCA; Pereira, MAV. Estudo Do Padrão De Aquecimento Gerado Por Ultrassom Fisioterapêutico Em Phantom Ultrassônico Com Matriz De Termopares. Programa de Engenharia Biomédica, COPPE/UFRJ, 21º Congresso de Engenharia Biomédica, Rio de Janeiro, RJ, 2008.
- [30] Ter Haar, G. *Therapeutic ultrasound*. European Journal Ultrasound, Shannon, 1999.
- [31] Villamarin, MJA; Mosquera SJA - Estimativa da atenuação ultrassônica em estruturas biológicas mediante a aplicação do filtro de wiener, 9th Brazilian Conference on Dynamics Control and their Applications Serra Negra, SP - ISSN 2178-3667.
- [32] Valma JR AND Kerry GB. *PHYS THER. A Review of Therapeutic Ultrasound: Effectiveness*, 2001