



Acta Scientiarum. Health Sciences

ISSN: 1679-9291

eduem@uem.br

Universidade Estadual de Maringá

Brasil

da Silva Ricoldy, Diego; de Albuquerque Botura, Ana Clara; Yasuo Oda, Juliano; Seiko Takemura,
Orlando

Efeito do ultrassom associado ao gel de calêndula sobre a atividade reparadora em lesões
musculares experimentais

Acta Scientiarum. Health Sciences, vol. 32, núm. 2, 2010, pp. 135-140
Universidade Estadual de Maringá
Maringá, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=307226627004>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

Efeito do ultrassom associado ao gel de calêndula sobre a atividade reparadora em lesões musculares experimentais

Diego da Silva Ricoldy^{*}, Ana Clara de Albuquerque Botura, Juliano Yasuo Oda e Orlando Seiko Takemura

*Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, Umuarama, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: diegoricoldy@yahoo.com.br*

RESUMO. Diversas técnicas têm sido propostas para o tratamento de lesões musculares, sendo a do ultrassom terapêutico uma das mais utilizadas. Além dos efeitos do ultrassom, este facilitaria, ainda, a permeação de drogas pelos tecidos (fonoforese). A calêndula é um fitoterápico que apresenta atividade cicatrizante empregada popularmente no tratamento de lesões. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do ultrassom, da fonoforese e a influência da aplicação tópica do gel extraído da *Calendula officinalis* na recuperação de lesão muscular experimental em ratos. A análise histológica do músculo e a determinação da área de lesão foram realizadas após o músculo tibial anterior lesionado ser tratado durante cinco dias. Os resultados indicaram que todos os grupos tratados com ultrassom e calêndula apresentaram melhor resolução da lesão, por apresentarem maior quantidade de fibroblastos, neovascularização e mioblastos em relação ao Grupo-controle. Quanto à área de lesão, somente o grupo em que foi associado o ultrassom à calêndula apresentou uma área significativamente menor. Em conjunto, os dados obtidos demonstram que, no modelo experimental estudado, a fonoforese apresentou-se mais indicada para o tratamento de lesões musculares.

Palavras-chave: ultrassom, calêndula, fonoforese, músculo tibial anterior.

ABSTRACT. Effect of ultrasound associated with calendula gel on restorative activity in experimental muscular injuries. Several techniques have been proposed as treatment for muscular injuries, and therapeutic ultrasound is one of the most used. Besides the effects of ultrasound, it also facilitates drug flow through the tissues (phonophoresis). Calendula is a phytotherapeutic which presents healing elements, popularly used on injury treatments. The objective of this study was to evaluate ultrasound effectiveness, phonophoresis, and the influence of the topical application of the gel with *Calendula officinalis* extract, in the recovery from experimental muscular injury in rats. After the injured front tibial muscle was treated during five days, a histological analysis of the muscle was performed and the injury area was determined. The results indicated that all the ultrasound/Calendula-treated groups presented better evolution in the injury, since they presented more fibroblasts, neovascularization and myoblasts in relation to the control group. As to the injured area, only the group in which the ultrasound was added to Calendula presented a significantly smaller area. In all, the obtained data demonstrate that in the experimental model studied, phonophoresis was more indicated for muscle injury treatment.

Key words: ultrasound, *Calendula officinalis*, phonophoresis, front tibial muscle.

Introdução

Em esportes de alto rendimento e nos recreacionais podem ocorrer lesões de várias amplitudes, desde as microlesões do aparelho contrátil às mais severas e dolorosas como o rompimento de fibras musculares (PETERSON, 2002).

Os tecidos musculares necessitam de componentes do seu tecido conjuntivo, pois requerem nutrientes e oxigênio em abundância, e

os capilares proporcionam isto, sendo eles situados entre as células desse tecido. O tecido conjuntivo permite, ainda, que a força de contração do músculo se transmita a outras estruturas como tendões, ligamentos e ossos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Quando um músculo é excessivamente distendido, as fibras musculares e os vasos sanguíneos se rompem. As extremidades rompidas se retraem e a área lesada é preenchida por sangue,

levando-se a um processo inflamatório e, num segundo momento, à reabsorção do sangramento. O reparo da lesão muscular envolve dois eventos que competem entre si: a formação de novas fibras musculares e, simultaneamente, a produção de tecido cicatricial. O tempo necessário para a cicatrização de uma ruptura muscular completa é de 3 a 16 semanas, dependendo da localização e extensão da lesão (PETERSON, 2002).

A resposta inflamatória consiste na primeira linha de defesa do organismo contra um agente agressor e tem como objetivo eliminar este e remover tecidos degenerados, preparando a região afetada para o reparo (GUIRRO; GUIRRO, 2004). Entretanto, se o agente agressor for persistente em relação ao tempo de estímulo inflamatório, o processo inflamatório pode se tornar crônico. Na inflamação crônica, além de ocorrer todos os eventos da inflamação aguda (alteração do calibre vascular, aumento da permeabilidade vascular e diapedese), ocorrem no local, fenômenos proliferativos, como angiogênese (proliferação de vasos sanguíneos e fibroblastos), fibrinogênio e também migração de eosinófilos, basófilos, mastócitos, monócitos e linfócitos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O desenvolvimento de modelos experimentais de lesão muscular contribui para o conhecimento das alterações morfológicas e fisiológicas que ocorreram no processo, e várias técnicas terapêuticas têm sido propostas para se proporcionar ao indivíduo portador da lesão muscular a volta às suas atividades o mais precocemente possível (MENEZES et al., 1999). O ultrassom terapêutico é recurso amplamente utilizado em fisioterapia e medicina do esporte para o tratamento de lesões músculo-esqueléticas (ROSIM et al., 2005), pois acredita-se que este possa acelerar o processo de cicatrização. Dúvidas ainda persistem entre os profissionais que utilizam este recurso e, por falta de informação, essa prática vem sendo aplicada de maneira muitas vezes empírica (DIONÍZIO; VOLPON, 1999).

O ultrassom tem ação antiinflamatória quando aplicado nas primeiras horas após a lesão (PALIWAL; MITRAGOTRI, 2006) e, durante o reparo de lesões musculares, na fase de proliferação, o ultrassom estimula os fibroblastos a produzirem mais colágeno pelo aumento na permeabilidade da membrana celular, estimulando também o crescimento de novos capilares no tecido isquêmico.

O ultrassom tem seu efeito demonstrado por vários autores como um meio terapêutico que acelera o processo de reparação tecidual e que ainda

pode ser aliado à fonoforese (permeação de drogas através da pele para dentro dos tecidos subcutâneos sob a influência do ultrassom), o que pode acelerar ainda mais o processo de reparação de lesões musculares (PETERSON, 2002). Existem várias vantagens desta técnica, dentre elas: a ação localizada da droga, ausência e/ou diminuição de efeitos colaterais decorrentes de ações sistêmicas e a prevenção do efeito de primeira passagem pelo fígado. Outra vantagem desta técnica é a somatória dos efeitos do ultrassom associada aos efeitos da droga (como corticóides e antiinflamatórios) no tratamento das lesões (MITRAGOTRI, 2000; PETERSON, 2002). Acredita-se que o ultrassom pode facilitar a passagem da droga pelo seu efeito de aquecimento e seu efeito atérmico, provavelmente pelo mecanismo de cavitação (PALIWAL; MITRAGOTRI, 2006).

A *Calendula officinalis* é uma planta da família das Compostas, conhecida popularmente por sua ação antiinflamatória e cicatrizante. Da maceração das flores se extrai um óleo que apresenta atividade sobre todas as feridas traumáticas, produzindo rápida cicatrização e impedindo a supuração. É dotada de propriedades antissépticas, antiinflamatórias, imunoestimulantes, calmantes, cicatrizantes. Seu alto conteúdo de ácidos graxos lhe proporciona a propriedade de se tornar rapidamente absorvida pela pele (NETO et al., 1996; PARENTE et al., 2002; PÉREZ et al., 2002).

O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia do ultrassom e da fonoforese na recuperação de lesão muscular experimental e a influência da aplicação tópica de um gel extraído da *Calendula officinalis* no tratamento destas lesões.

Material e métodos

Animais e tratamento

Para este experimento, foram utilizados 16 ratos da linhagem Wistar, machos, sedentários, com 120 dias de idade, com peso corporal de 300 a 350 g. Os animais foram obtidos no Biotério da Unipar – campus sede (Umuarama, Estado do Paraná), mantidos em gaiolas, alimentados com ração balanceada para roedores (Labina®), água *ad libitum* e mantidos no biotério em temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e com ciclo claro e escuro de 12h. Os animais foram adaptados ao Biotério Setorial do Laboratório de Farmacologia da Unipar por um período de pelo menos uma semana.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal da Unipar e seguiu as normas éticas de experimentação animal (Certificado de Aprovação, número 29/04).

Experimento

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos, e cada grupo continha quatro animais: Grupo-controle: animais lesionados sem tratamento; Grupo LUS: animais lesionados em que foi aplicado ultrassom; Grupo LC: animais lesionados e com aplicação de gel à base de calêndula; e Grupo LUSC: animais lesionados e com aplicação de ultrassom e gel à base de calêndula.

Indução da lesão muscular experimental

Os animais foram previamente pesados, anestesiados com tiopental (50 mg kg⁻¹, via intraperitoneal) e tricotomizados na região a ser lesionada do membro posterior direito. A pele foi seccionada e foi exposto o músculo tibial anterior juntamente com sua fáscia. Em seguida, foi realizada uma incisão cirúrgica, com bisturi com lâmina número 15, totalmente demarcado para efetuar um corte padronizado com 3,0 mm de largura por 3,0 mm de profundidade, de modo que a secção das fibras ocorreu de forma transversal diretamente no ventre do músculo.

Feita a lesão, a sutura na pele foi realizada com fio de Nylon 5.0 e agulha com 20 mm de diâmetro, utilizando-se de dois pontos, um em cada extremidade da incisão. Foi realizada assepsia no local com álcool 70%. Para prevenir processos dolorosos nos animais, foi administrado, por gavagem, paracetamol (100 mg kg⁻¹) nas primeiras 24h após o procedimento cirúrgico.

Protocolo de tratamento

Neste experimento, foi utilizado um aparelho gerador de ondas ultrassônicas, previamente calibrado, da marca KLD (Indústria da Tecnologia Eletrônica Ltda), modelo AVATAR V, com área efetiva de radiação (ERA) de 1 cm².

Para a técnica de aplicação foi preparado um gel acoplante composto por propilenoglicol, trietanolamina, carbopol, água deionizada e parabeno, e ao gel foi incorporada a calêndula (tintura na concentração 10% p/v). Assim, pelo gel como meio acoplante, o transdutor foi utilizado em movimentos circulares num ângulo de 90°. O regime de insonação selecionado foi o contínuo, com frequência mantida em 3,0 MHz durante 1 min., uma vez ao dia, durante cinco dias, com intensidade de 0,4 W cm⁻² na superfície, para os Grupos LUS e LUSC. O tratamento com o ultrassom foi iniciado após 24h da lesão muscular.

Para o Grupo LC foi administrado topicalmente o gel de calêndula e, para o Grupo C, foi administrado topicalmente o gel hidrossolúvel, ambos durante 1

min., utilizando-se para a aplicação o transdutor com o ultrassom desligado, submetendo-se, assim, todos os animais ao mesmo estresse de procedimento da aplicação da terapia ultrassônica.

Todos os animais, antes de serem submetidos ao protocolo de tratamento, foram sedados pela câmara de éter etílico.

Coleta do músculo

Após cinco dias de tratamento, os animais foram sacrificados em câmara saturada com éter etílico e eutanásia com dose letal de tiopental (i.p.); a pele da região lesionada foi retirada, seguida da coleta do músculo tibial anterior do membro posterior direito de cada animal, que foram fixados com Bouin (ácido pírico, álcool 80%, formol e ácido acético) durante 24h para procedimentos histológicos.

Cortes e técnicas histológicas

Após a coleta, os músculos foram submetidos ao procedimento de rotina histológica, que incluiu desidratação, diafanização, emblocamento e cortes microscópicos obtidos pelo micrótomo, com 5 µm de espessura de forma com que as fibras musculares pudessem ser visualizadas longitudinalmente. Após, os cortes foram corados por Hematoxilina e Eosina (HE) para análise morfológica das fibras musculares e do tecido conjuntivo adjacente. Nesta etapa, foram coletados cinco cortes de cada músculo, sendo estes localizados nos mesmos níveis.

As lâminas foram analisadas em fotomicroscópio a partir de uma câmera digital (Moticam 2000 com resolução de 2.0 m. pixels) acoplada ao microscópio (Motic B Series Professional). A mensuração das fotomicrografias foi realizada pelo programa Motic Images Plus 2.0®.

Análise dos dados

Na análise histológica, foi realizada a comparação das lâminas de cada grupo, em que foram avaliados os principais eventos morfológicos que ocorreram no período estudado. Para a determinação da área de lesão, cada fotomicrografia foi expandida por 40 vezes e então mensurada por cinco delimitações que demarcavam a distância existente entre as extremidades das fibras musculares lesionadas (rompidas).

As médias e o erro-padrão da média das amostras de cada animal foram determinados para os diferentes grupos experimentais. As diferenças foram avaliadas pela análise de variância – ANOVA ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

O tratamento de lesões músculo-esqueléticas pode ter diferentes abordagens como: a massoterapia, a eletroterapia, a termoterapia e o ultrassom. Essas lesões, na maioria das vezes, são

adquiridas pela prática esportiva, sendo o futebol a modalidade que mais acomete e é o causador do maior índice de ausência de atletas profissionais em competições (PETERSON, 2002).

O processo de reparação muscular apresenta uma sequência básica de eventos, que se inicia pela degeneração da fibra lesada, observada entre 6 e 24h pós-lesão, ativação de células-satélite e intensa inflamação entre 24 e 48h pós-lesão e ativação de fibroblastos entre 24 e 36h. O colágeno tem o importante papel de regular o crescimento da fibra muscular e as células-satélite, depois de ativadas, diferenciam-se em mioblastos e fundem-se para formar os miotubos e então são produzidas as proteínas musculares específicas para finalizar o processo de reparação. Todo esse processo é dependente da vascularização, que fica intensificada do terceiro até o 12º dia pós-lesão (DIONÍZIO; VOLPON, 1999).

Na análise histológica, o Grupo-controle apresentou a fenda incisional preenchida por um infiltrado de células inflamatórias e indiferenciadas, tecido necrótico sendo fagocitado, alguns vasos sanguíneos dilatados e zonas de hipercontração nas extremidades das fibras lesadas (Figura 1). No Grupo LUS, foram observados uma área lesionada com células inflamatórias, tecido necrótico sendo fagocitado, um conjuntivo aparentemente mais desenvolvido comparado ao Grupo-controle e o deslocamento de núcleos da periferia para a região central da fibra (Figura 2), indicando que houve aceleração no reparo muscular.

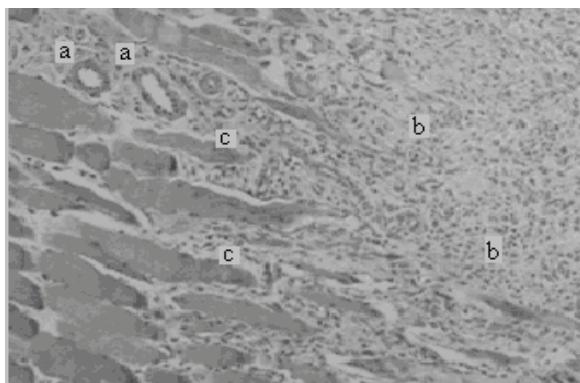


Figura 1. Fotomicrografia do músculo tibial anterior do animal do Grupo-controle₅, em que se observam vasos sanguíneos(a), infiltrado de células inflamatórias(b) e zonas de hipercontração(c) H/E = 100x.

No Grupo LC, a fenda incisional apresentava-se com pouca quantidade de tecido necrótico, existência de miotubo, pequenos vasos sanguíneos, presença de macrófagos e linfócitos, além de muitos fibroblastos comparados aos grupos descritos

anteriormente (Figura 3). No Grupo LUSC, quando comparado aos grupos já descritos, foram observados a delimitação da área da lesão, uma fenda incisional com poucos restos necróticos, grande quantidade de vasos sanguíneos, muitos mioblastos e algumas fibras necrosadas, invadidas por macrófagos, linfócitos e células gigantes multinucleadas (Figura 4), indicando ser a melhor modalidade terapêutica para as lesões estudadas.

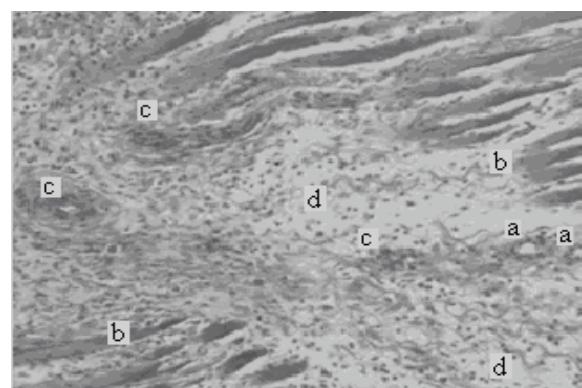


Figura 2. Fotomicrografia do músculo tibial anterior do animal do Grupo LUS₅ há evidências de vasos sanguíneos(a), áreas de hipercontração(b), áreas onde está ocorrendo intensa fagocitose de tecidos necróticos(c) e áreas com pequena quantidade de fibras colágenas(d). H/E = 100x.

Foi possível observar, na análise histológica dos músculos dos animais tratados com ultrassom, diminuição do tecido necrótico na fenda incisional, e atividade fagocitária maior, indicando que a utilização do ultrassom proporcionou aumento da atividade cicatricial do tecido muscular, sugerindo-se que, nos animais submetidos a essa insonação, a fase de cicatrização é antecipada. Com relação à regeneração das fibras musculares, relativamente melhor em grupos tratados com ultrassom, alguns estudos descrevem que essa regeneração acelerada ocorre provavelmente pelo aumento da atividade fagocitária local (PAULA, 1994).

Neste trabalho, foi observado que, nos grupos tratados com ultrassom e principalmente associado à calêndula, houve maior número de macrófagos e mioblastos e que pôde ser observada uma pré-organização para futura formação de miotubos, semelhante ao demonstrado por Ceccato et al. (2005), em que foi verificado o efeito do ultrassom terapêutico na migração das células-satélite para o sítio da lesão, durante a regeneração de um músculo lesado experimentalmente.

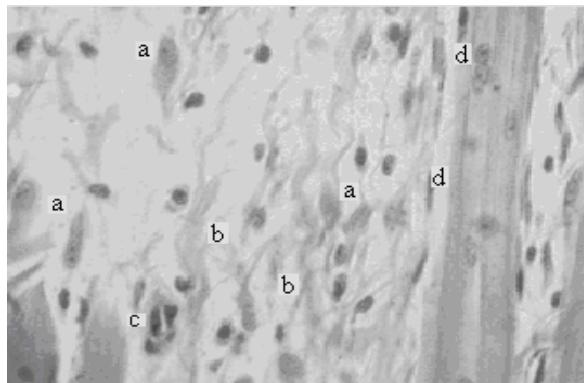


Figura 3. Fotomicrografia do músculo tibial anterior do animal do Grupo LC₅, em que se observa presença de fibroblastos(a), fibras colágenas(b), vaso sanguíneo(c) e miotubo(d). H/E = 400x.

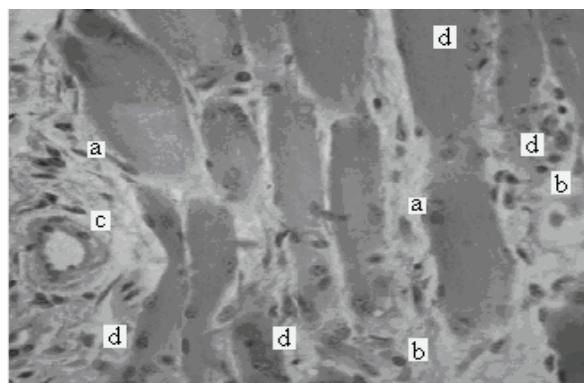


Figura 4. Fotomicrografia do músculo tibial anterior do animal do Grupo LUSC₅, mostrando fibroblastos(a), linfócitos(b), vaso sanguíneo(c) e vários mioblastos se organizando para futura formação de miotubo(d). H/E = 400x.

Na determinação da área de lesão, por meio das fotomicrografias, foi possível verificar que o Grupo-controle apresentou uma área média de $1.304,22 \mu\text{m} \pm 81,25 \mu\text{m}$, o Grupo LUS média de $1.136,31 \mu\text{m} \pm 59,52 \mu\text{m}$, o Grupo LC média de $1.041,10 \mu\text{m} \pm 93,60 \mu\text{m}$ e o Grupo LUSC média de $943,76 \mu\text{m} \pm 79,85 \mu\text{m}$. Houve diminuição na área da lesão em ambos os grupos tratados com o gel à base de calêndula (LC e LUSC), assim como nos grupos tratados com o ultrassom terapêutico, quando comparados ao Grupo-controle. Porém, na análise estatística, ao se comparar o Grupo-controle com os demais grupos, apenas os animais do Grupo LUSC se apresentaram com a área da lesão significativamente menor, sugerindo ser o tratamento com fonoforese, dos meios utilizados para o tratamento de lesões musculares, o que mais acelera o reparo muscular.

A irradiação prévia na pele humana com ultrassom terapêutico aumentou a absorção transcutânea do diclofenaco de sódio, uma droga antiinflamatória (ROSIM et al., 2005). Neste estudo

foi utilizado o ultrassom na frequência de 1 MHz e foi demonstrado, portanto, que este protocolo é eficaz para a absorção de drogas.

Em nossa pesquisa, observamos que os grupos que foram submetidos ao ultrassom apresentaram redução da área lesionada, porém não-significativa quando comparados ao Grupo-controle. A utilização do ultrassom terapêutico foi efetivo na reparação muscular, aumentando a capacidade do reparo da lesão, a resistência no local e o limite elástico das fibras musculares tratadas (MENEZES et al., 1999).

A associação de tintura e gel de calêndula ao barbatimão foi utilizada na recuperação de lesões de pele ou úlceras varicosas. Este tratamento promoveu redução da dor, sendo eficaz na cura da ferida, produzindo cicatrização mais rápida (NETO et al., 1996). Em outro estudo realizado por Balducci-Roslindo et al. (1999), foi demonstrado o efeito de um medicamento fitoterápico composto por *Symphytum officinale* (confrei) e *Calendula officinalis* no processo de reparo em fendas de extração dentária em camundongos, evidenciando aceleração na maturação do tecido ósseo neoformado. Nossos resultados indicaram que os animais submetidos ao tratamento tópico de gel à base de calêndula se apresentaram com áreas de lesão relativamente menores quando comparados as do Grupo-controle, demonstrando a ação cicatrizante desta preparação.

Várias são as vantagens da utilização da fonoforese, dentre elas, a ação localizada da droga e a somatória dos efeitos do ultrassom associado aos efeitos da droga (POLACOW et al., 2004). Nesta pesquisa, observamos que o grupo em que se utilizou a combinação do ultrassom com o gel de calêndula a área de lesão se apresentou significativamente menor, demonstrando ser o melhor tratamento neste modelo experimental de lesão muscular.

Conclusão

Esses resultados estão de acordo com a literatura, que mostra efeitos benéficos da fonoforese na recuperação de lesão muscular experimental e indica que a aplicação tópica do gel extraído da *Calendula Officinalis* beneficia o tratamento destas lesões.

Referências

- BALDUCCI-ROSLINDO, E.; SILVÉRIO, K. G.; MALAGOLI, D. M. Processo de reparo em feridas de extração dentária em camundongos tratados com complexo *Symphytum officinale* e *Calendula officinalis*. *Revista Odontologia USP*, v. 2, n. 13, p. 1-12, 1999.
- CECCATO, J.; PACHECO, I.; BOCK, G.; PACHECO, A. M. Efeitos do ultra-som na migração das células

- satélites após uma lesão experimental em ratos. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 1, n. 6, p. 10-12, 2005.
- DIONÍSIO, V. C.; VOLPON, J. B. Ação do ultra-som terapêutico sobre a vascularização pós-lesão muscular experimental em coelhos. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 1, n. 4, p. 19-25, 1999.
- GUIRRO, E.; GUIRRO, R. **Fisioterapia dermatofuncional**. São Paulo: Manole, 2004.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- MENEZES, D. F.; VOLPON, J. B.; SHIMANO, A. C. Aplicação de ultra-som terapêutico em lesão muscular experimental aguda. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 1, n. 4, p. 27-31, 1999.
- MITRAGOTRI, S. Sinergistic effect of enhancers for transdermal drug delivery. **Pharmaceutical Research**, v. 11, n. 17, p. 1354-1359, 2000.
- NETO, J. J.; FRACASSO, J. F.; NEVES, M. C. L. C.; SANTOS, L. E.; BANUTH, V. L. Tratamento de úlcera varicosa e lesões de pele com *Calendula officinalis* L. e/ou com *Stryphnodendron barbadetiman* (Vellozo) martius. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v. 17, n. 1, p. 181-186, 1996.
- PALIWAL, S.; MITRAGOTRI, S. Ultrasound-induced cavitation: applications in drug and gene delivery. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 3, n. 6, p. 713-726, 2006.
- PARENTE, L. M. L.; PAULA, F. R.; COSTA, E. A.; SILVEIRA, N. A. *Calendula officinalis*: Características, propriedades químicas e terapêuticas. **Arquivo de Ciências da Saúde Unipar**, v. 2, n. 6, p. 165-169, 2002.
- PAULA, J. L. Ultra-som: considerações gerais. **Revista de Fisioterapia da PUC**, v. 1, n. 7, p. 9-16, 1994.
- PÉREZ, L. O. V.; LEYVA, I. T.; MIRIAM, S. S.; FERRER, B. B. S.; VERANES, M. S.; SUÁREZ, V. M. Efecto *in vitro* de un extracto de *Calendula officinalis* L. sobre linfócitos humanos. **Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia**, v. 3, n. 18, p. 1-6, 2002.
- PETERSON, L. **Lesões do esporte**: prevenção e tratamento. São Paulo: Manole, 2002.
- POLACOW, M. L.; PIRES-DE-CAMPOS, M. S. M.; LEONARDI, F. R.; CARVALHO, L. S.; RIBEIRO, M. C. A. P.; MONTEBELLO, M. I. L. O efeito do ultra-som na permeação cutânea do tiratrilol: Análise histológica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 1, n. 8, p. 53-60, 2004.
- ROSIM, G. C.; BARBIERI, C. H.; LANÇAS, F. M. Diclofenac phonophoresis in human volunteers. **Ultrasound in Medicine and Biology**, v. 31, n. 3, p. 337-343, 2005.

Received on August 13, 2008.

Accepted on May 12, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.