

Estudo da ação do ultrassom terapêutico em modelo experimental de tendinite em ratos Wistar

Study of the therapeutic efficacy of ultrasound in experimental model of tendinitis in Wistar rats

José Mário Nunes da Silva¹; Janderson Pereira de Carvalho¹; Manoel de Jesus Moura Júnior²; Emilia Ângela Lo Schiavo Arisawa³; Airton Abrahão Martin⁴; Hochtávio Pereira de Sá¹; José Figueiredo Silva⁵

¹Fisioterapeuta – FSA, Teresina, PI – Brasil.

²Mestre em Engenharia Biomédica – Univap, São José dos Campos, SP – Brasil, Coordenador de Fisioterapia – FSA, Professor – UESPI, Teresina, PI – Brasil.

³Professora Doutora e Diretora – Univap, São José dos Campos – SP – Brasil.

⁴Professor Doutor – Univap, Coordenador – LEVB e PROBES – Desenvolvidores de Projetos em Biomedicina e Engenharias, São José dos Campos – SP – Brasil.

⁵Professor Doutor e Chefe do Departamento de Patologia – UESPI, Teresina, PI – Brasil.

Endereço para correspondência

José Mário Nunes da Silva
Rua 8, 6209 – Residencial Primavera Leste
64057-180 – Teresina – PI [Brasil]
zemariu@hotmail.com

Resumo

Introdução: O ultrassom terapêutico acelera o reparo do tendão. **Objetivos:** Estudar a ação do ultrassom em tendinite experimental por análises histomorfométrica e histopatológica. **Método:** Vinte e cinco ratos Wistar, 220-250 g, foram divididos em três grupos experimentais (7 e 14 dias): A₇ e A₁₄, tendinite induzida sem tratamento; B7 e B14, tendinite induzida tratada com ultrassom pulsado de 1 MHz a 10% 0,5 W/cm², e C, o grupo sem indução de tendinite. **Resultados:** A histomorfometria mostrou-se altamente significativa (p <0,001) do ultrassom em contra-relógio de 14 dias, comparado com o grupo saudável (C), e muito significativamente em comparação com o mesmo grupo tendinite (A7 e A14) (p <0,01). **Conclusão:** A histologia e a histomorfometria demonstraram qualitativa e quantitativamente, um aumento do número de fibroblastos, em sete dias, e das fibras de colágeno, em 14 dias, para o grupo tratado com ultrassom em relação ao tendinite.

Descritores: Inflamação; Tendinite; Terapia por ultrassom.

Abstract

Introduction: The therapeutic ultrasound accelerates repair of tendon. **Objectives:** Analyze the action of ultrasound in experimental tendonitis in histomorphometric and histopathological analysis. **Methods:** Twenty-five Wistar rats, 220 – 250 g, were divided into three experimental groups (7 and 14 days): A7 and A14 induced tendinitis and without treatment; B7 and B14, induced tendinitis and treated with pulsed ultrasound 1 MHz to 10% 0.5 W/cm², and C, the group without induction of tendinitis. **Results:** Histomorphometry was highly significant (p <0.001) of ultrasound against the clock for 14 days, compared with the healthy group (C), and very significantly in relation to the same group tendinitis (A7 and A14) (p <0, 01). **Conclusion:** The histology and histomorphometry demonstrated qualitatively and quantitatively, an increased number of fibroblasts in seven days, and the collagen fibers, in 14 days, for the group of ultrasound compared with the group of tendinitis.

Key words: Inflammation; Tendinitis; Ultrasonic therapy.

Introdução

A tendinite é uma condição inflamatória de um tendão agredido¹. A inflamação aguda é condição desencadeante do processo de reparação tecidual que, muitas vezes, é exagerado e pode acarretar complicações, prejudicando a qualidade do tecido formado².

Lesões do tendão são comuns no esporte, e estima-se que correspondam de 30% a 50% das ocorrências nesse tipo de atividade^{2,3,4}. De acordo com Aglietti et al.⁵, tendinite é um dos principais problemas relacionados à lesão por esforço repetitivo e a distúrbios osteomusculares relacionados ao trabalho.

O processo de reparação tecidual é complexo e pode ser conceituado como uma cadeia de eventos, cada um completando o anterior e iniciando o subsequente: hemostasia, inflamação, demolição, proliferação e maturação^{6,7}.

A terapia de ultrassom tem sido utilizada na medicina há mais de 50 anos para tratar a inflamação decorrente de lesões ligamentares e musculares, a inflamação da cápsula articular, a bursite e a tendinite. Ela pode ser aplicada em animais e homens, mostrando sua eficácia na solução dessas patologias^{8,9,10,11}.

O aparelho de ultrassom terapêutico gera corrente elétrica de alta frequência e é conectado a uma cerâmica piezoelétrica sintética chumbo-zinco-titânio (PZT), alojado em um transdutor^{12,13}. Como terapêutica de alta frequência, ele promove a regeneração tissular e reparação dos tecidos moles, a síntese de proteína, o aumento da circulação sanguínea, a normalização do tônus muscular, a ativação do ciclo do cálcio, a estimulação das fibras nervosas aferentes, o aumento de mobilidade da articulação e da extensibilidade em tecidos ricos em colágeno, a redução de espasmos musculares, o alívio da dor, a resolução de processos inflamatórios crônicos¹⁴.

Neste estudo, analisaram-se os efeitos anti-inflamatórios em um modelo experimental de tendinite, utilizando ultrassom terapêutico pelas análises histopatológica e histomorfométrica.

Materiais e métodos

Todos os experimentos foram realizados de acordo com as orientações para o cuidado animal, seguindo as premissas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da Faculdade Integral Diferencial, sob o protocolo: n ° 086/09. Foram utilizados 25 ratos (*Rattus norvegicus, albinus*), linhagem Wistar entre 30 e 60 dias de idade, peso médio 230 g. Os animais foram mantidos em gaiolas-padrão coletivas de polietileno, devidamente etiquetadas, com cinco animais por gaiola, temperatura ambiente controlada de 24±1°C e umidade do ar de 60%, fotoperíodo de 12 horas claro, e 12 horas, escuro, recebendo água e alimentação padrão *ad libitum*.

A indução da tendinite

Os animais foram anestesiados com ketamina (100 mg/kg, ip) e xilazina (20 mg/kg, p) e, posteriormente, submetidos à indução da tendinite. Para induzir experimentalmente a tendinite, aplicou-se uma injeção intratendínea de 10µL de colagenase (10mg/mL; SIGMA; C6885) no tendão do calcâneo direito dos ratos. A colagenase foi dissolvida em uma solução salina tamponada estéril de fosfato. Os animais receberam a injeção de colagenase no primeiro dia e foram sacrificados com dose excessiva de anestésico (tiopental), 7 e 14 dias após a indução da tendinite.

Intervenção terapêutica experimental

O tratamento com ultrassom de cada animal dos grupos teve início 24 horas após a indução da tendinite, sendo mantido a cada 24 horas, depois da primeira aplicação da terapia com ultrassom, cuidando-se para que todos tivessem igual manipulação diária, em mesmo horário. Para a realização do procedimento terapêutico, os ratos foram posicionados em decúbito ventral,

numa bancada devidamente coberta de tecido não texturizado, com imobilização manual da pata direita para aplicação da terapêutica indicada em contato direto com a área a ser tratada. O ultrassom utilizado foi um modelo *Sonopulse Special*, série 000827, da empresa IBRAMED, com gel de acoplamento a base de água, numa ERA de 1 cm².

Protocolo de tratamento e grupos experimentais

Os animais foram divididos em grupos experimentais com cinco indivíduos cada, conforme descrito na Tabela 1, a seguir:

Tabela 1: Divisão dos grupos experimentais

Grupos (n=15)	Subgrupos (n=5)	Indução da tendinite	Tratamento
A	A ₇	Sim	Não
	A ₁₄	Sim	Não
B	B ₇	Sim	UST
	B ₁₄	Sim	UST
C	C	Não	Não

Após a indução experimental da tendinite, os animais do grupo A₇ e A₁₄ (tendinite) – foram mantidos em gaiolas, sem qualquer tratamento; já os do B₇ e B₁₄ (ultrassom) – receberam diariamente terapia com ultrassom (Tabela 2).

Tabela 2: Parâmetros de tratamento utilizados

Ultrassom modelo	Ultrassom <i>Sonopulse</i>
Modo	Pulsado 10%
Intensidade	0,5 W/cm ²
ERA	1 cm ²
Tempo	120 seg
Contato	Gel a base de água 0,5ml

O grupo C (sadio) foi composto pelos tendões da pata esquerda dos animais de A₇ e A₁₄, seguindo as premissas do COBEA.

Preparação da amostra

Todos os cinco animais de cada grupo foram sacrificados aos 7 ou 14 dias, após a indução experimental de tendinite. Os tendões foram removidos por dissecação dos tecidos da pata direita, iniciando a primeira incisão na região do tendão do osso, e a segunda, na inserção do tendão do músculo. Os ratos dos grupos A₇ e A₁₄ tiveram os tendões da pata esquerda dissecados para ser analisados e compor o grupo sadio C.

A análise histológica

Os tendões foram seccionados, longitudinalmente desidratados em soluções crescentes de álcool e diafanizados em xilol, em seguida, incluídos em parafina. Obtiveram-se em micrótomo *American Optical* quatro cortes semi-seriados com 5µm de espessura, sendo dois corados com hematoxilina-eosina (HE), e dois, pelo Tricrômico de Masson (TM), o qual permite visualizar as fibras colágenas. O material foi examinado com um microscópio óptico trinocular Olympus CX31, modelo YS100, equipado com câmera digital Olympus SC20 e acoplado a um microcomputador.

Avaliação histomorfométrica

Foi realizada nas lâminas coradas com o tricrômico de Masson uma avaliação histomorfométrica, sendo quantificado o número de fibroblastos. As imagens digitalizadas foram avaliadas com auxílio do programa de análise computacional de imagens Image-J® (Versão 1,32 para *Windows*) de domínio público. Os dados foram apresentados como média e desvio-padrão (média±DP).

Análise estatística

Os dados foram coletados e avaliados quanto ao coeficiente de variação e a distribuição amostral para determinação do teste estatístico, considerando o nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$). Realizou-se a análise

estatística da variação do número de células inflamatórias, obtidos nos grupos tratados e não tratados, utilizando-se o teste de ANOVA, com pós-teste de Tukey, por meio do programa estatístico *GraphPad Prism*®, versão 3.0. Para confecção da barra de rolagem dos gráficos, levou-se em consideração o erro padrão da amostra.

Resultados

Avaliação histológica

Na análise dos cortes histológicos, foi encontrado, após sete dias de tratamento, um padrão histológico menos organizado do que no décimo quarto dia do tratamento. No grupo tendinite (A_7), havia espessamento do epitendão e endotendão. Observou-se também a formação de fibroblastos volumosos, com citoplasma abundante, sem formar feixes bem definidos ou orientados longitudinalmente (Figura 1). Por sua vez, os espécimes que compunham o grupo tratado com ultrassom (B_7), nesse mesmo tempo experimental, mostravam tanto o epitendão quanto o endotendão alargados por aumento do número de tenoblastos. Em comparação com o grupo tendinite (A_7), as células inflamatórias mononucleadas apareceram em menor número, e os vasos neoformados exibiram paredes mais espessadas (Figura 1).

No grupo tendinite (A_{14}), as células inflamatórias mononucleadas e os vasos neoformados no epitendão e endotendão aparentemente reduziram, enquanto o número de fibroblastos continuou elevado. No grupo tratado com ultrassom (B_{14}), o número de vasos recém-formados diminuiu significativamente e foram encontradas mais células mononucleares. Em nenhum dos espécimes estudados os setores lesados chegaram a reconstruir a estrutura normal do tendão do grupo sadio (C) (Figura 2).

Nas amostras que compõem o grupo saudável, os tendões normais demonstraram características histológicas, fibrócitos alongados, com pouco citoplasma e núcleo fusiforme, es-

parças entre densos feixes paralelos de colágeno (Figura 1C e 2C).

Avaliação histomorfométrica

Após sete dias de tratamento, o grupo de ultrassom (B_7) mostrou um maior número de fibroblastos, em comparação com os outros grupos, ilustrado pela variação do número de fibroblastos ao longo do tempo ($p < 0,001$), quando comparado com o grupo sadio (C) (Figura 3).

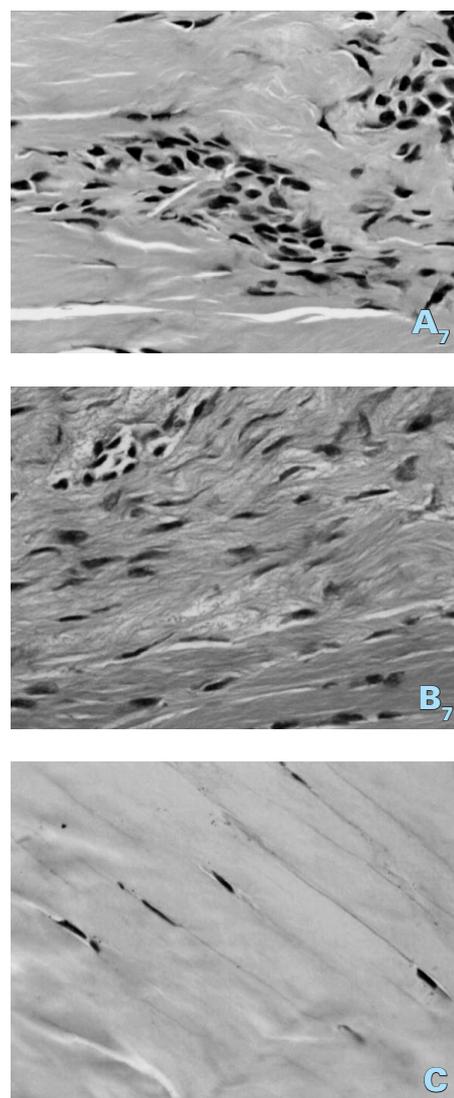


Figura 1: Aspectos histológicos do tendão dos animais dos grupos experimentais – A_7 , grupo tendinite, sete dias; B_7 , grupo ultrassom, sete dias, e C, grupo sadio

A comparação dos resultados do grupo que recebeu tratamento (B_{14}) e do tendinite (A_{14}) com os do grupo sadio (C), quanto ao número de fibroblastos na área de lesão, foram estatisticamente significantes. Deve-se considerar que, conceitualmente, na evolução do processo de reparo e com a maturação do tecido conjuntivo ocorre aumento expressivo na quantidade de fibras colágenas, com conseqüente diminuição no número de fibroblastos e fibrócitos presentes, bem como dos vasos neoformados. Por outro

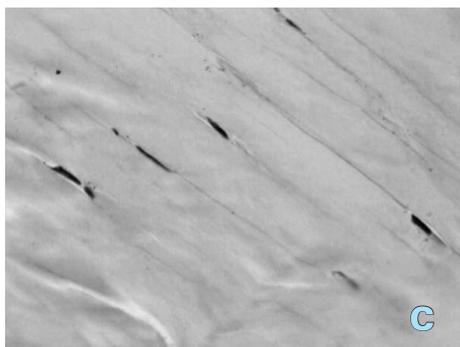
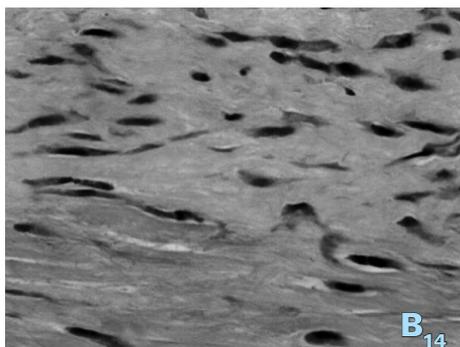
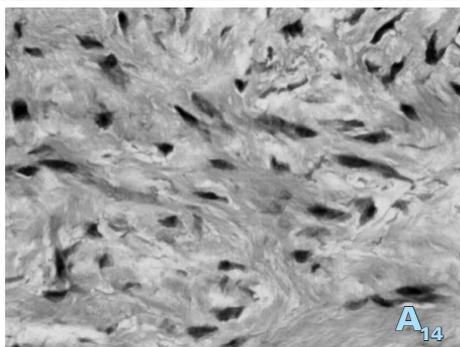


Figura 2: Aspectos histológicos do tendão dos animais dos grupos experimentais – A_{14} , grupo tendinite, 14 dias; B_{14} , grupo ultrassom, 14 dias, e C, grupo sadio

lado, quando se compararam os grupos ultrassom e tendinite, somente os espécimes tratados com ultrassom apresentaram resultado significativo (Figura 4).

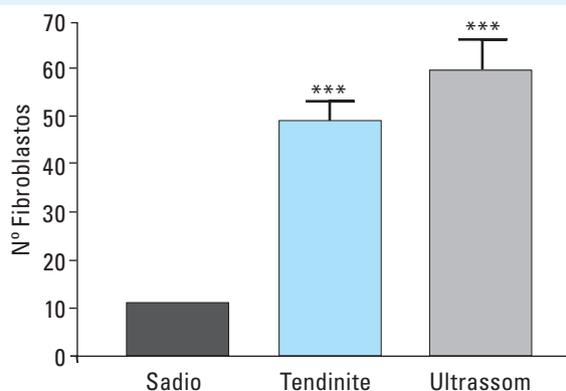


Figura 3: Gráfico comparativo da variação (Δ) do número de fibroblastos após sete dias de tratamento *** $p<0,001$, extremamente significativa em relação ao grupo sadio

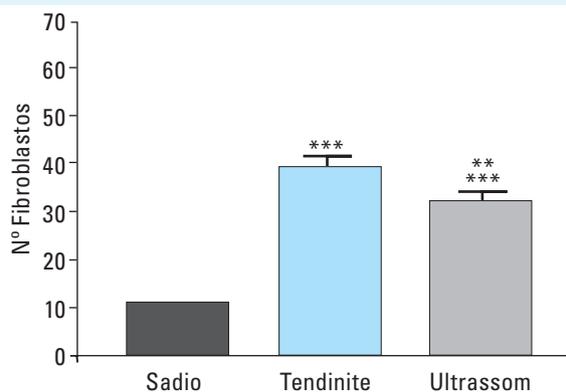


Figura 4: Gráfico comparativo da variação (Δ) do número de fibroblastos após quatorze dias de tratamento *** $p<0,001$, extremamente significativa em relação ao grupo sadio; ** $p<0,01$ muito significativa em relação ao grupo tendinite.

Discussão

Resultados concordantes com os obtidos neste estudo foram descritos por Kitchen¹⁵ que relatou ser essa fase do reparo tecidual extremamente dinâmica com numerosos tipos de célu-

las, tais como plaquetas, mastócitos, macrófagos e neutrófilos, que entram e saem do local da ferida. Evidências indicam que o ultrassom terapêutico pode interagir com as células citadas, influenciando sua atividade e levando à aceleração do reparo. Os espectros dos espécimes tratados com ultrassom no tempo experimental de 14 dias também se mostraram espalhados, apresentando alterações bioquímicas. Segundo Machado¹⁶, na fase proliferativa e de remodelação, o ultrassom auxilia na reorganização do colágeno (arranjo e alinhamento) – fenômeno que se deve ao efeito piezoelétrico.

Estudo experimental no tendão de Aquiles de um rato demonstrou a migração celular, avaliada em filtros, e mostrou ser essa dependente da dose do ultrassom. Além disso, foi observado que α -actina, associada à migração celular, também apresentou expressão elevada¹⁷.

No entanto, os efeitos terapêuticos do ultrassom dependem não apenas da dose, mas também do intervalo entre o estabelecimento da lesão e o início do tratamento e de sua duração. Em um estudo realizado, a terapia de duas semanas, iniciada um dia após a instalação do dano, melhorou significativamente a potência mecânica do tendão e promoveu o alinhamento do colágeno. Entretanto, nenhum benefício foi comprovado quando o mesmo tratamento aplicado anteriormente foi iniciado no 15° ou no 29° após o dano tecidual.

Durante a fase proliferativa (reparação tendínea), o ultrassom também tem efeito estimulante, aumentando a síntese protéica, a proliferação de fibroblastos e a produção de colágeno, acelerando também a angiogênese¹⁹. Baker et al.²⁰ afirmaram que não há nenhuma prova direta da ocorrência de benefícios clínicos do ultrassom quando ocorre alteração da permeabilidade da membrana, pois os experimentos *in vitro* têm descrito pouca relevância para a prática clínica. Essas mudanças incluem aumento da síntese proteica, da proliferação de mastócitos, tecido de granulação, absorção de cálcio e mobilidade de fibroblastos, que, segundo vários estudos, poderiam acelerar o processo cicatricial^{15, 19, 21}.

Dos muitos trabalhos que investigaram os efeitos fisiológicos do ultrassom, boa parte foi dirigida especificamente para a cicatrização tendinosa^{23, 24, 25, 26, 27, 28}. Dentre essas pesquisas, algumas mostraram, num extremo, que o ultrassom acelerou o processo de cicatrização do tendão^{26, 27, 28}.

Todavia, de acordo com a análise realizada por Baker et al.²⁰ ainda existem controvérsias, pois conforme esses autores não existe, atualmente, fundamentação científica suficiente para fornecer um alicerce para o uso clínico do ultrassom terapêutico, visto que a maioria dos efeitos biofísicos foram examinados por meio de estudos *in vitro*, havendo poucos indícios de que essas mudanças ocorram *in vivo*, e a extrapolação desses resultados para o homem é, por conseguinte, conjuntural, pois a influência de mecanismos reguladores, como a homeostase devem ser levados em conta. Olsson et al.²² afirmam que apesar desse instrumento ser usado no tratamento de diversos tipos de lesões, ainda existem controvérsias relacionadas ao seu real valor terapêutico e a dosimetria indicada para cada caso.

Cunha et al.⁸ mostram em estudos similares que o ultrassom, utilizado no modo pulsado, tem efeito estimulatório sobre a taxa de reparação tecidual do tendão, efeito esse não visualizado quando aplicado no modo contínuo.

Moura Junior²⁹ realizou ensaio clínico sobre o tratamento da tendinite, aplicando ultrassom terapêutico, e comparou sua ação com a de um aparelho de LED por meio da espectroscopia ramam. Ele concluiu que, aos 14 dias de tratamento, o ultrassom terapêutico foi mais eficaz para tratar o processo inflamatório, quando comparado os grupos controle e o tratado com LED, corroborando este estudo e o de Maia Filho et al.³⁰ e Backhaus et al.³¹.

A aceleração do processo de reparo foi elucidada por Ramirez et al.²⁹. Segundo ele, a taxa de cicatrização do tendão é acelerada pelo ultrassom em razão do aumento da síntese de proteínas e de colágeno pelos fibroblastos. Além disso, em outros estudos o ultrassom demons-

trou aumento da taxa de reparo em tendões de Aquiles de ratos e da síntese de colágeno no local da lesão³².

Conclusão

A análise histológica e a histomorfométrica revelaram que os espécimes tratados com ultrassom apresentaram maior ação anti-inflamatória, quando comparados ao grupo tendinite (A₇ e A₁₄), no tempo experimental de 14 dias.

As análises histológica e histomorfométrica demonstraram qualitativa e quantitativamente aumento no número de fibroblastos aos sete dias de tratamento, e das fibras colágenas, aos 14 dias, para o grupo ultrassom (B₁₄), quando relacionadas com as dos grupos tendinite (A₁₄).

Com base nos parâmetros utilizados e dados encontrados no estudo experimental aqui apresentado, sugere-se que novos trabalhos sejam realizados para verificar diferenças ou similaridades nos resultados, utilizando diferentes comprimentos de onda, dose e tempo de aplicação do tratamento.

Referências

- Maffulli N, Kader D. Tendinopathy of tendo achillis. *J Bone Joint Surg*. 2002;184-B(1):1-7.
- Paavola M, Pekka K, Tero A.H. Järvinen, MD, Karim K, Lászlo J, MD, and Markku J. Achilles tendinopathy. *Bone Joint Surg Am*. 2002;84:2062-76.
- Maffulli N, Ewen SWB, Waterston SW, Reaper J, Barras V. Tenocytes from ruptured and tendinopathic achilles tendons produce greater quantities of type III collagen than tenocytes from normal achilles tendons. An in vitro model of human tendon healing. *Am J Sports Med*. 2000;28:499-505.
- Covizi DZ, Felisbino SL, Gomes L, Pimentel ER, Carvalho HF. Regional adaptations in three rat tendons. *Tissue Cell*. 2001;33:483-90.
- Aglietti P, Buzzi R, Insall JN. Disorders of patellofemoral joint in Insall. *Surgery of the knee*. New York: Churchill Livingstone; 1993. p. 241-385.
- Majno G, Joris I. Wound Healing. In: *Cells, tissues, and disease: principles of general pathology*. Oxford: University Press; 2004. p. 477-303.
- Schepesis AA, Jones H, Haas AL. Achilles tendon disorders in athletes. *Am J Sports Med*. 2002;30:287-305.
- Cunha A, Parizotto NA, Vidal BC. The effect of therapeutic ultrasound on repair of the achilles tendon (tendo calcaneus) of the rat. *Ultrasound Med Biol*. 2001;27(12):1691-6.
- Planas J, Cervelli V, Planas G. Five-year experience on ultrasonic treatment of breast contractures. *Aesth Plast Surg*. 2001;25:89-93.
- Koeke PU, Parizotto NA, Carrinho PM, Salate ACB. Comparative study of the efficacy of the topical application of hydrocortisone, therapeutic ultrasound and phonophoresis on the tissue repair process in rat tendons. *Ultrasound Med Biol*. 2005;31(3):345-50.
- Weichenthal M, Mohr P, Stegmann W, Breibart EW, et al. Low-frequency ultrasound treatment of chronic venous ulcers. *Acta Derm Venereol*. 1997;77(4):311-4.
- Oliveira RMR. A Abordagem das lesões por esforços repetitivos/distúrbios osteomusculares relacionados ao trabalho – LER / DORT no Centro de Referência em Saúde do Trabalhador do Espírito Santo – CRST/ES [Dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, Centro de Estudos de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana; 2001.
- Wang ED. Tendon repair. *J Hand Ther*. 1998;11(2):105-10.
- Silva EJ. Espectroscopia Ramam e histopatologia clássica na avaliação de tendinite induzida por colagenase em ratos Wistar [Dissertação]. Franca: Universidade de Franca; 2005.
- Kitchen S. Eletroterapia: prática baseada em evidências: ultrassom. São Paulo: Manole; 2003.
- Machado C. M. Eletroterapia prática: ultrassom. São Paulo: Pancast; 2004.
- Tsai WC, Chen JY, Pang JH, Hsu CC, Lin MS, Chieh LW. Therapeutic ultrasound stimulation of tendon cell migration. *Connect Tissue Res*. 2008;49:367-73.
- Fu SC, Shum WT, Hung LK, Wong MW, Qin L, Chan KM. Low-intensity pulsed ultrasound on tendon healing: a study of the effect of treatment duration and treatment initiation. *Am J Sports Med*. 2008;36:1742-79.



19. Watson T. Ultrasound in contemporary physiotherapy practice. *Ultrasonics*; 2008.
20. Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *Phys Ther.* 2001;81(7):1351-8.
21. Borges FS. Modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas: ultrassom. São Paulo: Phorte; 2006.
22. Olsson DC, Martins, VMV, Martins E, Mazzanti A. Estimulação ultra-sônica pulsada e contínua no processo cicatricial de ratos submetidos à celiotomia. *Cienc Rural Santa Maria.* 2006;36(3):865-72.
23. Roberts M, Rutherford JH, Harris D. The effect of ultrasound on tendon repairs in the rabbit. *Hand.* 1982;14:17-20.
24. Stevenson JH, Pang CHJ, Lindsay WK, Zuker RM. Functional, mechanical, and biochemical assessment of ultrasound therapy on tendon healing in the chicken toe. *Plast Reconstr Surg.* 1986;77(6):965-72.
25. Turner SM, Powell ES, NG SS. The effect of ultrasound on the healing of repaired cockerel tendon: is collagen cross-linkage a factor? *Hand Surg.* 1989;14b:428-33.
26. Enwemeka CS. The effects of therapeutic ultrasound on tendon healing: a biomechanical study. *Am J Phys Med Rehabil.* 1989;68(6):283-7.
27. Gan BS, Sherebrin MH, Scilley CG. The effects of ultrasound treatment on flexor tendon healing in the chicken limb. *J Hand Surg.* 1995;20b(6):809-14.
28. Barros JR. Os efeitos do ultra-som na cicatrização de tendões flexores de coelhos após tenorrafia [Dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2001.
29. Moura Junior MJ. Estudo por ft-raman da ação do led de baixa potência e do ultra-som terapêutico em modelo experimental de tendinite em ratos [Dissertação]. São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba; 2010.
30. Maia Filho AL, Villaverde AB, Munin E, Aimbire F, Albertini R. Comparative study of the topical application of Aloe Vera gel, therapeutic ultrasound and phonophoresis on the tissue repair in collagenase-induced rat tendinitis. *Ultrasound Med Biol.* 2010;36(10):1682-90.
31. Backhaus M, Ohrndorf S, Kellner H, Strunk J, Backhaus TM, Hartung W. et al. Evaluation of a novel 7-joint ultrasound score in daily rheumatologic practice: a pilot project. *Arthritis Rheum.* 2009;61:1194-1201.
32. Ramirez A. Schwane JA, McFarland C, Starcher B. The effect of ultrasound on collagen synthesis and fibroblasts proliferation in vitro. *Med Sci Sports Exerc, Hagerstown.* 1997;29(3):326-32.