

(Artículo Original)

# Análisis del efecto de la apitoxina introducido en el tejido muscular esquelético por vía transdérmica mediante la fonoforesis en ratas Wistar

Universidad de de Uberaba (UNIUBE)

Maxwell Souto Guimarães<sup>1</sup>, Jakeline Nayara Evangelista<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduado en Fisioterapia por la Universidad de Uberaba (UNIUBE); Graduado en tecnología de Alimentos por el Instituto Federal de Educación Tecnológica del Triangulo Mineiro (IFTM); Posgrado en Fisioterapia del Trabajo por el Centro Brasileño de Estudios Sistemicos (CBES). <sup>2</sup>Graduada en Fisioterapia por la Universidad de Uberaba (UNIUBE).

## RESUMEN

**Objetivo:** Analizar los efectos de la práctica de la apiterapia con el uso de la apitoxina asociado al ultrasonido terapéutico (UST) mediante la fonoforesis.

**Método:** Se realizó un análisis del efecto fisiológico muscular del principio activo, (apitoxina) inducido por vía transdérmica y las variaciones de la masa corporal en cuatro grupos de ratas albinas Wistar, distribuidas de la siguiente forma: G1, con UST continuo (control), G2, con UST pulsado (control), G3, con UST continuo y apitoxina, y G4, con UST pulsado y apitoxina. Durante quince días consecutivos, se realizaron aplicaciones diarias a través de la combinación de la apitoxina con carbopol, gel utilizado para la realización de esta técnica. Transcurrido los 15 días, las ratas se sacrificaron para verificar los efectos presentados. El músculo gastrocnemio se retiró, disecó y sometió al ensayo mecánico. Luego del análisis estadístico se observaron variaciones entre los grupos, con respecto a los cuatro parámetros estudiados.

**Resultados:** El músculo gastrocnemio se retiró (disecó) y sometió al ensayo mecánico. Después del análisis estadístico se observaron variaciones entre los grupos con respecto a los parámetros estudiados: Deformación en el límite máximo, rigidez, tenacidad y fuerza en el límite máximo. La variación fue mayor para el grupo G4, cuando se comparó con los demás grupos, principalmente con el grupo G2, destacando la variable fuerza en el límite máximo, que para el grupo G4 presentó variaciones entre  $46,00 \pm 2,51$  cuando se comparó con el G2, donde se observaron variaciones entre  $25,83 \pm 3,68$ . En el análisis de la masa corporal, el grupo G3 mostró reducción significativa en relación con el resto de los grupos.

**Conclusiones:** Los efectos producidos por la apiterapia, con el uso de la apitoxina asociada al ultrasonido terapéutico mediante la fonoforesis, demuestra ser una alternativa eficaz para la penetración de esta sustancia y la obtención de mejoría con respecto a las propiedades mecánicas de la musculatura esquelética en ratas Wistar.

**Palabras clave:** Fonoforesis; ultrasonido; abeja; propiedades mecánicas.

## INTRODUCCIÓN

Dentro de las sustancias encontradas en la naturaleza, la apitoxina es un veneno producido por la abeja africana *Apis mellifera*, que en su composición contiene péptidos y enzimas, con potentes propiedades antiinflamatorias. (1)

En Brasil, su utilización está restringida por la ausencia de información sobre los efectos de dicha sustancia, que garantizan la eliminación o disminución de los riesgos alérgicos que, de manera eventual, presentan algunas personas. (2)

El veneno de la abeja se utiliza en la ciudad de Beijing, China, para el tratamiento de la artritis. Mientras que, en Estados Unidos, algunas compañías farmacéuticas

manipulan el veneno de las abejas, con la finalidad de elaborar medicamentos para enfermedades como la esclerosis múltiple.

En el siglo XIX se publican los primeros estudios clínicos con respecto a la influencia de las picaduras de abejas en enfermedades reumáticas. (3, 4, 5, 6)

Algunos polipéptidos de la apitoxina se citan como toxinas, pues actúan sobre los mastocitos del tejido conjuntivo y los basófilos sanguíneos, con la liberación de gránulos cargados de aminas biogénicas, como la histamina, cuya acción perdura por algunos minutos; aunque, los efectos tóxicos aparecen con la utilización de dosis excesiva. (7) Otras manifestaciones clínicas (edemas, eritemas y pus), se encuentran como mecanismos no inmunológicos (tóxicos) inducidos por el veneno de las abejas. (8)

Varios son los medios de aplicación de la apitoxina, entre ellas se encuentran: la picadura directa de la abeja, los comprimidos sublinguales, las inyecciones, las pomadas, la acupuntura y su aplicación a través de la transferencia de iones químicos presentes en el veneno por la iontoforesis y fonoforesis.(7,9) La actividad antiinflamatoria de la apitoxina permanece incierta. Por eso, se realizan estudios con modelos experimentales, a través de la inducción de artritis por antígenos en conejos, que en muchos aspectos se compara con la artritis reumatoide humana. (1)

La transferencia de iones presentes en los medicamentos a través del uso de corrientes eléctricas se hace mediante la técnica llamada iontoforesis y por ondas mecánicas con ultrasonido terapéutico (UST), denominada fonoforesis. (10, 1,12) Esta es una técnica fisioterapéutica que utiliza el UST para transportar iones con fines curativos a través de la dermis. Este método posibilita la introducción de diferentes iones en otras regiones del cuerpo, mediante una vía no oral, capaz de minimizar los posibles efectos indeseables que pueden ocurrir en la administración del fármaco, siendo una técnica segura, sin dolor y no invasiva.

El uso del UST, asociado con distintos medicamentos se utiliza desde hace varios años. Algunos buscan determinar los posibles beneficios aportados por esta técnica, a través de estudios de las drogas más utilizadas, sus principales indicaciones y el éxito de la absorción de estos iones. (11,13)

El UST se caracteriza como un movimiento ondulatorio en forma de onda mecánica de alta frecuencia, que transmite energía a través de la vibración de las partículas del medio (14). Está constituido por dos partes: un transductor y un circuito eléctrico. Para que ocurra la conversión de energía eléctrica en mecánica, el circuito eléctrico convierte la tensión de la red en corriente alterna y pasa este voltaje para el transductor de la misma frecuencia del cristal. Este aparato promueve efectos térmicos y mecánicos, aparecen en primer lugar los efectos mecánicos y luego los térmicos. En Brasil, la frecuencia ya está predeterminada de 1 MHz o 3 MHz, y a mayor frecuencia de la onda, menor es su penetración. (14)

Debido al aumento de la permeabilidad de la membrana durante la aplicación del UST, ocurre el transporte activo de las sustancias compuestas en los medicamentos, lo que luego facilita la penetración de las drogas en cuestión. (15) El UST continuo o pulsado se utiliza para obtener efectos en la fonoforesis, método que al contrario de la iontoforesis, mueve las moléculas enteras, y no los iones, hacia dentro de los tejidos; (15) además, el potencial de profundidad de penetración de la fonoforesis es mayor que la iontoforesis y disminuye los riesgos de lesiones y quemaduras de la piel que pudieran presentarse con el uso de esas técnicas. (13)

Este estudio experimental tuvo el objetivo de analizar los efectos de la práctica de la apiterapia con el uso de la apitoxina asociado al UST. Por no existir datos anteriores publicados sobre esta asociación, este trabajo considera inédita la metodología utilizada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Animales:** En el trabajo experimental se utilizaron 30 ratas albinas (*Rattus Novergicus*) de linaje Wistar, con una masa corporal desde 200 g hasta 300 g y alrededor de 100 días de vida. Durante el experimento, los animales se mantuvieron en el bioterio de la institución, con iluminación y temperatura controlada, un ambiente higienizado, agua y alimentos en abundancia.

Se observaron respuestas a las siguientes variables utilizadas:

- **Propiedades mecánicas del músculo:** Se tuvieron en cuenta los límites de fuerza en el límite máximo (Fmax) dado en N, la deformación en el límite máximo (Dmax) dado en mm, la rigidez dado en N/m y la tenacidad dado en N.mm.

- **Aplicación de la apitoxina:** Se tuvo en cuenta su aplicación o no.

- **Ultrasonido terapéutico:** Se tuvo en cuenta su aplicación en el modo continuo o pulsado y su asociación o no con la apitoxina.

Para la aplicación del método, las ratas se dividieron de forma aleatoria en cuatro grupos:

**GRUPO 1 (n=7):** UST continuo. Los animales se sometieron a la aplicación de UST, modo continuo, con frecuencia de 1 MHz, intensidad de 0,5 W/cm<sup>2</sup>, durante 5 minutos y asociado con el gel carbopol.

**GRUPO 2 (n=7):** UST pulsado. Los animales se sometieron a la aplicación de UST, modo pulsado, con una frecuencia de 1 MHz, intensidad de 0,5 W/cm<sup>2</sup>, durante 5 minutos, asociado con el gel carbopol.

**GRUPO 3 (n=8):** Apitoxina y UST continuo. Los animales se sometieron a la aplicación de UST, modo continuo con intensidad 0,5 W/cm<sup>2</sup>, frecuencia de 1 MHz, durante 5 minutos, más el gel carbopol asociado con el principio activo (apitoxina).

**GRUPO 4 (n=8):** Apitoxina y UST pulsado. Los animales se sometieron a la aplicación de UST, modo pulsado con intensidad 0,5 W/cm<sup>2</sup>, frecuencia de 1 MHz, por 5 minutos, asociado con el gel carbopol más el principio activo (apitoxina).

La concentración diaria de apitoxina en el gel carbopol fue de 0,5 µg/g de gel, que simuló una picadura de abeja por día, en cada aplicación.

El procedimiento se realizó en las patas izquierdas, sobre los músculos gastrocnemios, después de someterse a la aplicación del anestésico local, se retiraron los pelos, se higienizó con jabón, agua templada y luego se secaron las patas con una toalla. La aplicación se realizó en todos los grupos, durante 15 días consecutivos.

Tras la realización del procedimiento, las ratas se sometieron a un proceder de eutanasia con dosis excesiva de tiopental (0,2ml/100 g de animal) y se disecaron sus músculos gastrocnemios izquierdos. Se preservaron, además, las extremidades para la fijación y la realización del ensayo en la máquina de tracción.

La realización del trabajo se realizó conforme con las normas del comité de ética, se siguieron todos los principios propuestos por autores acreditados por la UNESCO, que elabora la declaración de los derechos de los animales. (16) El experimento se direccionó de acuerdo con los cuidados necesarios para evitar el sufrimiento de los animales. (17)

#### Análisis biomecánico del tejido muscular

Para el análisis del tejido muscular, se realizó el ensayo de tracción del conjunto femur-gastrocnemio-calcáneo izquierdo de las ratas. La máquina de ensayo EMIC- modelo DL3500, del Laboratorio de Investigación en Materiales Odontológicos de la Universidad de Uberaba (UNIUBE), equipada con una célula de carga 50 kgf, se utilizó para la ejecución del ensayo mecánico. La máquina de ensayo se conectó a una microcomputadora equipada con software capaz de obtener, con precisión, los valores de carga y estiramientos del tejido muscular.

Se utilizó un accesorio especial para la fijación de las patas que permitió el desarrollo de los ensayos de tracción de los músculos, preservando su origen e inserción muscular.

Los parámetros escogidos para el ensayo fueron: Una precarga de 0,30 kgf, velocidad del ensayo de 10 mm/min, límites de carga y estiramientos de 8,00 kgf y 25 mm, respectivamente. Después de cada ensayo se observó donde ocurrió la rotura de las fibras musculares. Para cada aumento de carga aplicada al músculo se obtuvo un valor resultante de estiramiento, lo que permitió la construcción de los gráficos de carga en función del estiramiento, a través del programa Microsoft Excel XP Professional®.

A continuación, se analizaron los siguientes parámetros referentes a las propiedades mecánicas: Límite de fuerza máxima (FMax); límite de deformidad máxima (DMax); rigidez y tenacidad.

#### Análisis estadístico

Para el análisis simultáneo de los grupos, se utilizó el test ANOVA y para la comparación entre los grupos, se aplicó el test "Tukey-Kramer", en pares y "Kruskal-Wallis", en individuales, siendo adoptado para ambos un nivel de significación menor de 5%.

## RESULTADOS

En el ensayo de tracción muscular se priorizó la ruptura de la fibra muscular. Por lo tanto, los tejidos que sufrían ruptura en el tendón calcáneo, se excluyeron del análisis. La tabla 1 refiere la desviación estándar de la masa corporal (g) de los animales antes de la aplicación del procedimiento y antes de la eutanasia para los cuatro grupos de animales subdivididos de forma aleatoria en G1 (control UST continuo), G2 (control UST pulsado), G3 (apitoxina asociada con el UST continuo) y G4 (apitoxina asociada con el UST pulsado).

A pesar de no ser objeto de estudio en esta investigación, se verificó que los grupos de UST continuo (G1), UST pulsado asociado con apitoxina (G4) y UST pulsado (G2), no presentaron diferencias significativas relacionadas con las masas corporales antes del procedimiento y antes de la eutanasia, sin obtener ganancia o pérdida significativa de sus masas en 15 días. Mientras tanto, el grupo apitoxina asociado con UST continuo (G3) demostró una reducción significativa de los valores de masa corporal.

La tabla 2, demuestra los resultados referentes a los valores obtenidos con el ensayo de tracción muscular de los músculos gastrocnemios de las patas izquierdas de los animales. Se observó desviación estándar referente a la fuerza en el límite máximo (FMax), deformación en el

**Tabla 1:** Valores de masa corporal (gramas) inicial y final al procedimiento.

	UST continuo		UST pulsado		Apitoxina e UST continuo		Apitoxina e UST pulsado	
	Inicia	Final	Inicia	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Media	256,71	253,08	301,71	288,86	271,875	•257,43	283,5	280,69
Desviación estándar	24,067	22,486	32,464	27,14	22,3443	20,099	37,0752	20,764

• p<0,05 vs. Apitoxina UST Continuo – inicial.

Leyenda: UST = ultrasonido terapéutico

**Tabla 2:** Valores estandarizados de los resultados encontrados para las variables biomecánicas: fuerza en el límite máximo (Fmax), deformación en el límite máximo (Dmax), rigidez y tenacidad, a partir del ensayo de tracción muscular referente a cada grupo estudiado.

	FMAX (N)	DMAX (mm)	RIGIDEZ (N/m)	TENACIDAD (N.mm)
Grupos				
G 1 (UST continuo)	33,28 ± 8,75	15,94 ± 6,59	3714,89 ± 1418,83	0,30 ± 0,16
G 2 (UST pulsado)	25,83 ± 3,68	11,86 ± 3,67	3812,92 ± 1551,14	0,16 ± 0,07
G 3 (apitoxina y UST continuo)	33,77 ± 8,00	16,21 ± 3,70	4033,20 ± 1477,15	0,26 ± 0,09
G 4 (apitoxina y UST pulsado)	•46,00 ± 2,51	15,65 ± 0,94	•■ 6059,43 ± 338,64	•0,31 ± 0,03
Basal	45,67 ± 1,44	12,96 ± 1,43	5951,63 ± 766,90	0,28 ± 0,055

• p < 0,05 vs. UST Pulsado.

\* p < 0,05 vs. UST. Continuo.

■ p < 0,05 vs. Apitoxina y UST Continuo.

límite máximo (DMax), rigidez y tenacidad.

En relación con la variable (FMax), se percibió diferencia significativa entre los grupos apitoxina asociada con el UST pulsado y UST pulsado, con valores mayores para el primero. No hubo diferencia significativa entre los grupos para la variable deformación máxima (DMax). En cuanto a la rigidez, se observó diferencias significativas cuando se comparó el grupo apitoxina asociada con al UST pulsado y los grupos UST continuo y UST pulsado asociados con la apitoxina y el UST continuo.

Para la variable biomecánica tenacidad, hubo diferencia significativa entre los grupos apitoxina y UST pulsado y UST pulsado.

## DISCUSIÓN

El UST es muy utilizado en las últimas décadas para terapias físicas y como promotor de permeabilidad cutánea de fármacos, lo que facilita la absorción cutánea conocida por fonoforesis o sonoforesis.(18) El ultrasonido es el recurso físico más utilizado en el tratamiento de lesiones

de tejidos flácidos, pudiendo acelerar la reparación de los mismos en sus diferentes aspectos.(19) Mendonça y colaboradores hacen referencia a la propagación de las ondas ultrasónicas de dos modos: el continuo y el pulsado. (20) La diferencia entre ellos está en la interrupción de la propagación de energía. En el modo continuo no ocurre esta interrupción, por lo tanto, se percibe un depósito constante de energía sobre los tejidos radiados. En el modo pulsado, hay interrupciones frecuentes en la propagación de energía.

De acuerdo con algunos autores, (21, 22) el ultrasonido pulsado maximiza el efecto mecánico de la radiación, lo que resulta un aumento de la síntesis de colágeno, que llega a 30% contra 20% con el ultrasonido continuo, para la misma intensidad. Dentro de una de las investigaciones se evidencia efectos biológicos del ultrasonido que están relacionados con la cavitación, microampollas gaseosas en el estrato córneo, las que al romperse permiten el paso de la droga. (14) Estos efectos son más pronunciados con el ultrasonido pulsado.

Los efectos atérmicos relatados por Oliveira y colaboradores

(10) auxilian la penetración de la droga por medio de la oscilación de partículas en el tejido que alteran el potencial de la membrana y promueven de forma transitoria la desnaturalización de la estructura proteica del estrato córneo, lo que aumenta la permeabilidad celular. Algunos estudios (23, 24) comparan el UST pulsado y UST continuo con respecto al transporte transdérmico de ketoprofen, gel en los humanos. Esos trabajos concluyen que el UST pulsado aumenta el poder de penetración del producto, actuando como promotor. Los resultados detectados en este trabajo coincidieron con esas investigaciones. Al compararla con los demás grupos, las variables biomecánicas de fuerza máxima y rigidez fueron significativas en el grupo sometido a la aplicación de UST pulsado asociado con la apitoxina. Se observa que el gel carbopol es el medio para la transmisión de la onda ultrasónica, siendo, por lo tanto, el agente de acoplamiento de UST más indicado.(25) La asociación de apitoxina con este gel permitió una buena conducción de las ondas sonoras y en consecuencia de la toxina para el interior del tejido muscular.

Esta sustancia, no está estudiada en lo que se refiere a las variaciones en los parámetros musculares. Conforme con los resultados encontrados, se observaron mejores valores biomecánicos para el grupo de animales tratados con apitoxina y UST pulsado. El hecho de presentar mayor fuerza en el límite máximo, además de mayor rigidez y tenacidad, indicó una mayor resistencia muscular en estos animales al compararlos con los otros grupos. El uso de UST aumenta la resistencia del músculo tratado en relación a la carga impuesta al mismo, presentando mejores propiedades mecánicas en su deformación y también un mayor soporte de carga, obteniéndose acciones benéficas sobre el tejido muscular. (26) La terapia asociada con el UST y la apitoxina demuestra que el tejido muscular presentó mayor almacenamiento de energía elástica; además, la capacidad de soportar mayor carga hasta el límite para la modificación de su estructura que consecuentemente generó ruptura de las fibras musculares.

Este resultado es una indicación positiva de la acción de la apitoxina sobre el músculo, una vez que también se observaron mayores valores para la carga del límite máximo en estos músculos, dejándolos más resistentes a las lesiones y rupturas, resistencia que en otras circunstancias de análisis ya se verificaron por algunos autores e indica ser el ensayo de tracción, una forma de

análisis para preservar las características fisiológicas del músculo. (34,35,36,37)

La veracidad de que los músculos gastrocnemios de los animales que recibieron la apitoxina con ultrasonido pulsado presentaron mejores resultados para las propiedades mecánicas estudiadas, indica posiblemente una modificación en la estructura de los músculos gastrocnemios de las ratas, el que no fue posible confirmar por la falta de análisis histológico, esta fue una limitación del estudio.

Conforme a lo relatado por varios autores, (3,25,26, 27,28,29,30,31,32,33) la apitoxina se indica para el tratamiento de afecciones reumáticas. Se sabe que muchas de esas enfermedades llevan a la pérdida de masa muscular. Una vez que la terapia con apitoxina ocurre, hay una disposición a la prevención de la flaqueza muscular. No obstante, en animales experimentales, como los utilizados en este estudio, se verificó un aumento cuando la sustancia se asoció con el UST pulsado. Posiblemente eso se debe a factores asociados o aislados: asociación con el carbopol; transmisión no continua de propagación de energía, lo que puede facilitar la absorción de la apitoxina. Debido al hecho de poseer calcio en su composición, además, de fosfato de magnesio, la apitoxina podría contribuir para una mayor absorción del mineral y, así, aumentar la resistencia muscular. (22)

## CONCLUSIÓN

La terapia con el UST pulsado, en los parámetros utilizados, demuestra ser una alternativa eficaz para la penetración de la sustancia, así como presenta mejores resultados referentes a los parámetros biomecánicos en ratas, como la fuerza y deformación en el límite máximo, tenacidad y rigidez. El efecto protector encontrado indica que la apitoxina actúa de manera directa o indirecta sobre el tejido muscular, aumentando la resistencia de las cargas impuestas. Todos los grupos presentan una pérdida de la masa corporal no significativa durante el tratamiento; mientras que, el grupo G3 muestra valores de pérdida significativos para esta variable. Se deben realizar más estudios para identificar la acción directa de la apitoxina en el tejido muscular, así como la variación del tiempo de tratamiento y la dosis a utilizar.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Rached ICFS. Efeito do veneno de abelha na artrite induzida por antígeno em coelhos.[Tese de Doutorado], São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2003.
- 2- Arruda VM, Alves VJ, Moraes MMB, Netto JC, Suárez YR. Análise Morfológica da Glândula de veneno de *Apis mellifera* L. em população do Mato Grosso do Sul. *Neotropical Entomology*. E. 2007; 36: 203-209.
- 3- Mraz C. Bee venom therapy for multiple sclerosis. *American Bee Journal* 1993; 3: 192.
- 4- Beck BF. *The bible of bee venom therapy: bee venom, its nature, and its effect on arthritic and rheumatoid conditions*. 1997; 260.

- 5- Maia AB. O potencial terapêutico da apitoxina. [serial online] 2007. Available from: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/66/apitoxina.htm>.
- 6- Castro FFM, Rached ICFS. Alergia a veneno de himenópteros: Alergia e imunologia na infância e adolescência. Atheneu, São Paulo; 2001.p .215-221.
- 7- Rangel R. Productos de la comena secretados por lãs abejas: Cera de abejas, jalea real y veneno de abejas. Rev. Del Instituto Nacional de Higiene; 2005.p.35-42.
- 8- Low J, Reed A. Eletroterapia explicada: Princípios e Práticas. 1ªed, Monde; 2001.p.34-56.
- 9-Minervi E. Avaliação da fonoforese em pacientes com artrite reumatóide. [Dissertação de pós-graduação] Curitiba: Universidade Tecnológica do Paraná, Curitiba; 2006.
- 10- Oliveira AS, Guaratini MI, Castro CES. Fundamentação Teórica para iontoforese. Revista brasileira de fisioterapia; 2005. p.1-7.
- 11- Prentice WE. Modalidades Terapêuticas em Medicina Esportiva. São Paulo:Manole; 2002. p. 230-233.
- 12- Koeke PV. Estudo comparativo da fonoforese, do ultra-som terapêutico e da aplicação tópica de hidrocortisona no tratamento do tendão de rato em processo de reparo tecidual.[ Dissertação de pós-graduação] Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2003.
- 13- Pires MSMC. Influência do ultra-som na permeação cutânea da cafeína: estudo em fragmentos de pele e em adipócitos isolados de suínos. [Dissertação de mestrado] Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2004.
- 14- Campos MSMP, Kassisse MG, Spadari RC. Influência do ultras-som na permeação cutânea da cafeína: estudo em fragmentos de pele e em adipócitos isolados de suínos. [Tese Doutorado em Biologia Funcional e molecular] São Paulo: Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas; 2004.
- 15- Olsson DC, Martins VMV, Pippi AM, Tognoli GK. Ultra-som terapêutico na cicatrização tecidual. Ciência rural, Santa Maria, v.38, n.4, p.1199-1207, jul, 2008.
- 16- Russel WMS, Burch RL. The Principles of Humane Experimental Technique. London: Methuen; 1959.
- 17- Zimmermann M. Ethical Guidelines for Investigations of Experimental Pain in Conscious Animals. Pain. 1983; 16: 109-10.
- 18- Kitchen SS, Partridge CJ. A review of therapeutic ultrasound: Background, physiological effects and hazards. p.593, 2000.
- 19- Webster DF, Pond JB, Dyson M, Harvey W. The role of cavitation in the in vitro stimulation of protein synthesis in human fibroblasts by ultrasound. Ultrasound Med.Biol. 1978 p. 343-345.
- 20- Mendonça AC, Ferreira AS, Barbieri CH, Thomazine JA, Mazzer N. Efeitos do ultra-som pulsado de baixa intensidade sobre a cicatrização por segunda intenção de lesões cutâneas totais em ratos. Acta ortop. bras.[online]. 2006, v.14, n.3, pp.152-157.
- 21- Cagnie B, Vinck E, Rimbaut S, Vanderstraeten G. Phonoforeses versus Topical application of ketoprofen: comparasion between tissue and plasma levels. Physical therapy. 83(8): pp.700-7012, 2003.
- 22- Abrams SA, Grusak MA, Stuff J, Brien KOO.Calcium and magnesium balance in 9-14 y-old children. Am J Clin. Nutr. 1997; 66:1172-7.
- 23- Madergan MFB, Guirro RRJ. Agentes de acoplamento de ultra-som terapêutico e fonoforese. Fisioterapia Brasil; 2005.
- 24- Menezes DF, Volpon JB, Shimano AC. Aplicação do ultra-som terapêutico em lesão muscular experimental aguda. Revista Brasileira de Fisioterapia. 1999.
- 25- Goldberg A, Confino CR, Mekori YA. Deliberate bee sting challenge of patients receiving maintenance venom immunotherapy at 3-mounth intervals. Journal of Allergy and Clinical Immunology; 1994.p. 997-1001.
- 26- Won CH, Hong SS, Kim CMH .Efficacy of apitox (bee venom) for osteoarthritis: a randomized actived-controlled trail. Journal of the American Apitherapy Society; 2000.p.53-60.
- 27- Lee JD et al. Anti-inflammatory effect of bee venom on type II collagen-induced arthritis. American Journal of Chinese Medicine; 2004. p.361-367.
- 28- Behrens MI, Jalil P, Serani A,Vergara F, Alvarez O. Possible role of apamin sensitive K+ channels in myotonic dystrofy. Muscle e Nerve. 1994.p.1264-1270.
- 29- Wagner P. Provisional patent granted for bee venom eye drops. Journal of the American Apitherapy Society; 2000. p.1-4.
- 30- Kikuchi Y, Miyauchi M, Nagata I. Inhibition of human ovary cancer cell proliferation by calmodulin inhibitors and the possible mechanism. Gynecologic Oncology; 1989.p. 156-158.
- 31- Andreu D et al.Shortened cecropin A-melittin hybrids. Significant size reduction retains potent antibiotic activity. 2º ed.FEBS-Letters; 1992. p. 190-194.
- 32- Simics M. Bee venom therapy and multiple sclerosis. Richmond: Apitherapy Education Service; 1998. p.40.
- 33- Roy L. Enhancing sclerolysis with bee venom. Journal of the American Apitherapy Society; 2000.p.33-41.
- 34- Kodama FY et al. Propriedades mecânicas do músculo de ratos adultos e idosos, exercitado pós-imobilização. Acta Ortop Bras. 2012;20(4):218-22.
- 35- Jarvinen M, Einola SA, Virtanen EO. Effect of the position of immobilization upon the tensile properties of the rat gastrocnemius muscle. Arch Phisys Med Rehabil.1992; 73(3): 161-4.
- 36- Carvalho LC, Shimano AC, Picado CHF. Estimulação elétrica neuromuscular e o alongamento passivo manual na recuperação das propriedades mecânicas do músculo gastrocnêmio imobilizado. Acta Ortop Bras. 2008;16(3):161-4.

37- Abdalla DR, Araújo ESC, Carvalho LC, Bertinello D. Suplemento com *Cystoseira canariensis* promove aumento de resistência à carga máxima em músculo gastrocnêmio de ratas. *Fisioterapia* 2014;21(2): 174-179.

## SUMMARY

### **Analysis of the affect of apitoxinc introduced in the muscular-skeletal tissue through phonophoresis in Wistar rates using the transdermic via**

**Objective:** to analyze the effects of the practice of apitherapy with the use of apitoxine associated to therapeutic ultrasound (TUS) through the phonophoresis.

**Method:** an analysis was done on the physiological muscular effect of the active principle (apitoxim) induced by transdermic via and the variations on the corporal mass in four groups of albinic Wistar rats, distributed as follow: G1 with continuous TUS (control), G2 with pulsed TUS (control), G3 with continuous TUS and apitoxine, and G4 with pulsed TUS and apitoxine. During consecutive fifteen days, we did daily appliances with the combination of apitoxine and carbopol, a gel used in this technique. After those days, the rats were sacrificed to check the effects presented. The gastronemic muscle was put out, stuffed and submitted to clinical testing. After the statistic analysis, variations among the groups were observed regarding to the four parameters studied.

**Results:** the gastronemic muscle was put out, stuffed and was mechanically tested. After the statistic analysis we observed variations among the groups regarding to the parameters studied: deformation was at the maximum limit; rigidity, tenacity and force also at the maximum limit. Variation was greater for G4 when compared to the rest of the groups, specially to G2, emphasizing the variable force at the maximum limit, which in G4 presented variation between 46,00+- 2,51 when compared to G2 where there were observed variations between 25,83+- 3,68. In the analysis of body mass, G3 showed a significant reduction related to the rest of the groups.

**Conclusions:** the effects produced by apitherapy, with the use of apitoxine associates to therapeutic ultrasound through phonophoresis, shows that it is an effective alternative for the penetration of the substance and the obtainancs of betterment in respect of the mechanical properties of the skeletal musculature in Wistar Rats.

**Key words:** phonophoresis, ultrasound, bees, mechanical properties.

**Dirección para la correspondencia:** Maxwell Souto Guimarães. Carretera Panamericana, Km 3 1/2 Santa Fe, Playa, La Habana. Torre 01, Edificio 04, Piso 2.

**Correo electrónico:** maxwellsouto@estelacm.sld.cu