



PUCPR

!
!

!
!
!
!
!
!

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA EM SAÚDE**

SILVIA MARIA PRESTES JORGE

**EFEITOS DA APLICAÇÃO TÓPICA DA CAFEÍNA ASSOCIADA AO
ULTRASSOM TERAPÊUTICO: ESTUDO EM HUMANOS NA HIPODERME
ABDOMINAL**

**CURITIBA
2010**

SILVIA MARIA PRESTES JORGE

EFEITOS DA APLICAÇÃO TÓPICA DA CAFEÍNA ASSOCIADA AO
ULTRASSOM TERAPÊUTICO: ESTUDO EM HUMANOS NA HIPODERME
ABDOMINAL

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia em Saúde, Área de Concentração: Bioengenharia
Orientador: Prof. Dr. João Antônio Palma Setti.

CURITIBA
2010

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

J82e 2010	<p>Jorge, Sílvia Maria Prestes</p> <p>Efeitos da aplicação tópica da cafeína associada ao ultrassom terapêutico : estudo em humanos na hipoderme abdominal / Sílvia Maria Prestes Jorge ; orientador, João Antônio Palma Setti. -- 2010. 109 f. : il. ; 30 cm</p> <p>Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2010 Bibliografia: f. 90-104</p> <p>1. Fonoforese. 2. Tecido adiposo. 3. Cafeína – Efeito fisiológico. 4. Ultra-som - Uso terapêutico. I. Setti, João Antônio Palma. II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde. III. Título.</p> <p>CDD 20. ed. – 610.28</p>
--------------	---



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA EM SAÚDE
DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 130

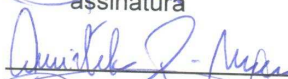
Aos 26 dias de outubro de 2010 realizou-se a sessão pública de defesa da dissertação: "**Efeito da Aplicação Tópica da Cafeína Anidra Associada ao Ultrassom Terapêutico: estudo *in vivo* em Hipoderme Abdominal.**", apresentada por **Silvia Maria Preste Jorge** como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia em Saúde – Área de Concentração – **Bioengenharia** perante uma Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. João Antonio Palma Setti
PUCPR (Orientador)


assinatura

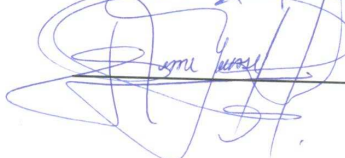
APROVADO
parecer (aprov/ reprov.)

Prof^a. Dr^a. Auristela Duarte Lima Moser,
PUCPR



APROVADO

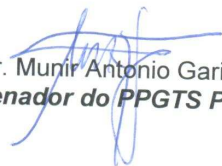
Prof. Dr. Seme Youssef Reda
FG



APROVADO

Conforme as normas regimentais do PPGTS e da PUCPR, o trabalho apresentado foi considerado APROVADO (aprovado/reprovado), segundo avaliação da maioria dos membros desta Banca Examinadora. Este resultado está condicionado ao cumprimento integral das solicitações da Banca Examinadora registradas no Livro de Defesas do Programa.

Prof. Dr. Munir Antonio Gariba,
Coordenador do PPGTS PUCPR



!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!
!

!
!
!
!
!
!
!

Aos meus pais, José Antonio Cursino Jorge
e Leocádia Aparecida Prestes Jorge
Às minhas sobrinhas Maria Luiza Dinies
e Giulia Jorge Dinies.
Aos meus avós Sebastião Prestes (*in memoriam*)
e Clementina Iglesias Prestes (*in memoriam*).

!
!
!
!
!
!

!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela superação de todos os obstáculos;

Ao Diretor de Pesquisa e Pós-Graduação da PUCPR, Prof. Dr. Waldemiro Gremski, pelos preciosos ensinamentos oferecidos;

Ao Orientador, Prof. Dr. João Antônio Palma Setti, por ter me guiado por este longo caminho com muita dedicação, paciência e competência, além de todo o ensinamento prestado;

À Profa Márcia Orlandoski pela disponibilidade e competência na análise estatística;

Ao biólogo Léo Periollo pelas excelentes sugestões prestadas e análises bioquímicas realizadas nesta dissertação;

À Faculdade Guairacá, da cidade de Guarapuava, por ceder suas instalações para realização da fase experimental deste estudo;

À médica radiologista Flávia Virmond Francischeti pela disponibilidade e competência na análise das imagens ultrassonográficas;

Ao coordenador do curso de Fisioterapia da Faculdade Guairacá, Prof. Ernani Zampier, pela confiança, convivência, apoio e incentivo;

À Fisio Line Ltda, juntamente com a BIOSET equipamentos eletrônicos Ltda;

Aos acadêmicos do terceiro ano (2010) do curso de Fisioterapia da faculdade Guairacá pelo importante auxílio na extenuante fase experimental do trabalho;

Ao meu querido namorado e amigo Valci Dapieve Junior por toda a paciência, incentivo e companheirismo;

Às pessoas com quem convivi durante este período pela paciência e compreensão a mim dedicadas.

“... todo um mundo vago se abre a nossa alma,
nossa sensibilidade perde-se nele como o
nosso olhar; e nós aspiramos entregar todo o
nosso ser, para que a volúpia de um
sentimento grande, único e majestoso o encha
completamente ...”

Johann Wolfgang Von Goethe

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo caracterizar a influência do UST no tecido adiposo em mulheres. A amostra foi constituída por 54 mulheres saudáveis com idade entre 18 e 52 anos, randomizadas em três grupos. As pacientes foram submetidas à avaliações prévias ao tratamento, por meio de exames bioquímicos do perfil lipídico, ultrassonografia para avaliar a espessura do tecido adiposo subcutâneo e avaliação do índice de massa corpórea (IMC). O grupo B foi exposto ao UST de 3MHz associado ao gel de cafeína 5%. O grupo A foi exposto somente à aplicação tópica do gel de cafeína e ultrassom desligado, sendo C o grupo controle exposto à aplicação tópica de gel à base de água e ultrassom desligado. Ao término das aplicações as pacientes foram submetidas novamente às avaliações realizadas na fase pré tratamento do estudo. A avaliação bioquímica consistiu na quantificação do Colesterol total (CT), HDL, LDL e Triglicérides plasmáticos. O tratamento estatístico foi considerado o modelo de análise de covariância, sendo as variáveis idade e avaliação pré-tratamento incluídas como covariáveis nas comparações dos grupos no momento pós-tratamento. Nas comparações dos grupos em relação à avaliação pré-tratamento e em relação à diferença entre pré e pós-tratamento, a variável idade foi incluída como covariável. Para avaliação do efeito do tratamento dentro de cada grupo, foi usado o teste t de Student para amostras pareadas. A condição de normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os resultados mostraram diferença significativa para CT e uma tendência à um aumento do HDL e redução do LDL para o grupo B quando comparado ao grupo A. Em relação ao grupo controle não foi verificada diferença estatística. Para espessura do tecido adiposo não houve diferença significativa entre os grupos. No que refere-se ao IMC, também não houve alteração significativa para esta variável. A partir destes resultados, pode-se concluir que a aplicação do UST de 3MHz associado ao gel com o princípio ativo cafeína, nas condições propostas, promove tendência à diminuição nas concentrações de CT; tendência à redução do LDL e aumento do HDL, porém sem diferença significativa nos macro-efeitos como na espessura do tecido adiposo e IMC.

Palavras-chave: Ultrassom Terapêutico, fonoforese, cafeína uso tópico, tecido adiposo subcutâneo, humanos.

ABSTRACT

The present study aimed to characterize the influence of the TUS in adipose tissue in women. The sample consisted of 54 healthy women aged between 18 and 52 years, randomized into three groups. The patients underwent assessments prior to treatment, through biochemical analysis of lipid profile, ultrasound to measure the thickness of subcutaneous adipose tissue and assessment of body mass index (BMI). Group B was exposed to TUS 3MHz associated with caffeine gel 5%. the group A was exposed only to the topical application of caffeine and ultrasound gel off, and group C was the control group exposed to topical application of water-based gel and ultrasound off. At the end of the applications patients were submitted again to the assessments made in the pre study treatment. The biochemical evaluation was the measurement of total cholesterol (TC), HDL, LDL and triglyceride. Statistical analysis was done by the Student t test for independent samples. To evaluate the effect of treatment within each group, we used the Student t test for paired samples. The condition of normality of variables was assessed by Kolmogorov-Smirnov test. P values <0.05 indicated significance. Regarding the results, significant differences between TC and a trend towards an increase in HDL and LDL reduction for group B compared to group A, compared with the control group there was no statistical difference. For adipose tissue thickness did not differ between groups. From these results, we can conclude that the application of UST 3MHz gel associated with the active ingredient caffeine, the proposed conditions, promotes the trend: the decrease in concentrations of TC and the reduction of LDL and HDL, but no significant difference in the macro-effects such as the thickness of adipose tissue and BMI.

Keywords: Ultrasound Therapy, phonophoresis, caffeine, topical, subcutaneous fatty tissue, humans.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Fotomicrografia de tecido adiposo unilocular.....	6
Figura 2 -	Omento maior mostrado em posição “normal”.....	8
Figura 3 -	Acúmulo de triacilglicerol nos adipócitos.....	14
Figura 4 -	Representação esquemática do mecanismo atual proposto para a regulação da lipólise.....	17
Figura 5 -	Representação esquemática da mobilização dos ácidos graxos.....	18
Figura 6 A -	Camadas da parede abdominal ântero-lateral.....	24
Figura 6 B -	Ilustração das camadas da parede abdominal.....	24
Figura 7 -	Intensidade irregular de um feixe ultrassonoro.....	27
Figura 8 -	Feixe axial e transverso-variação espacial.....	28
Figura 9 -	Perfil transverso do feixe de UST: variação espacial.....	28
Figura 10 -	Fotomicrografia de pele.....	33
Figura 11 -	Fotomicrografia de corte de pele do abdome.....	33
Figura 12 -	Processo de absorção percutânea e passagem transdérmica.....	34
Figura 13 -	Fórmula estrutural da cafeína.....	38
Figura 14 A	Área delimitada com um lápis dermatográfico e fita métrica inelástica	48
e B -		
Figura 15 -	Padrões de movimento do transdutor ultra-sonoro na superfície da pele....	49
Figura 16 -	Padrão do movimento circular aplicado na região delimitada e tratada pelo estudo.....	49
Figura 17 -	Desenho representando o corte que será visualizado pelo equipamento médico de ultrassonografia.....	53
Figura 18 A	Imagem de ultrassonografia da região abdominal.....	54
e B -		
Figura 19 -	Média da Ultrassonografia em corte paramediano inferior direito.....	58
Figura 20 -	Média da Ultrassonografia em corte paramediano inferior esquerdo.....	58
Quadro 1 -	Procedimentos para aditivção de princípios ativos em gel.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores definidos como fatores de risco para doenças cardiovasculares.....	13
Tabela 2 -	Terminologia comumente utilizada na terapia de ultrassom.....	26
Tabela 3 -	Algumas variáveis que podem afetar a dosagem do ultrassom.....	26
Tabela 4 -	Vantagens e desvantagens do uso da fonoforese.....	37
Tabela 5 -	Valores de p do teste estatístico para idade.....	56
Tabela 6 -	Comparação dois a dois dos valores de p em relação a média de idade.....	56
Tabela 7 -	Valores de p das comparações entre pré e pós-tratamento.....	59
Tabela 8 -	Valores das médias para as variáveis Colesterol Total, HDL, LDL e Triglicerídeos.....	59
Tabela 9 -	Grupos comparados quanto a variável Colesterol Total.....	60
Tabela 10	Variáveis HDL,LDL, Col. Total e Triglicerídeos dentro do mesmo.....	60
Tabela 11 -	Média da variável IMC entre os dois grupos tratados.....	61
Tabela 12 -	Variável IMC pré e pós, dois momentos do estudo.....	61
Tabela 13 -	Concentrações séricas do colesterol, triacilgliceróis e demais frações.....	62
Tabela 14 -	Concentrações séricas do colesterol, triacilgliceróis e demais frações.....	63
Tabela 15 -	Concentrações séricas do colesterol, triacilgliceróis e demais frações.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS

UST:	Ultrassom terapêutico
TAG:	Triacilglicerol
HE	Hematoxilina eosina
βAR:	Beta-adrenoceptor
β1- AR:	Adrenoceptor do subtipo beta 1
β2- AR:	Adrenoceptor do subtipo beta 2
β3- AR:	Adrenoceptor do subtipo beta 3
CEP :	Comitê de Ética e Pesquisa
ERA:	Área efetiva de radiação
PZT:	Titanato zirconato de chumbo
TAM:	Tecido adiposo marrom
TAB:	Tecido adiposo branco
IMC:	Índice de massa corporal
QSP:	Quantidade suficiente para
pH:	Concentração de íons hidrogênio (H ⁺) existente num meio
pH ácido:	prevalece no meio o íon hidrogênio (H ⁺), valores inferiores a 7
pH básico:	prevalece no meio o íon hidroxila (OH ⁻), valores superiores a 7
pH neutro:	as quantidades de íons hidroxila e hidrogênio são iguais (pH=7)
AMPc:	adenosina monofosfato cíclico
ADP:	adenosina difosfato
AC:	adenilato ciclase
PKA:	proteoquinase A
PUCPR:	Pontifícia Universidade Católica do Paraná

SUMÁRIO

!
!

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	9
LISTA DE TABELAS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
CAPÍTULO 1.....	14
1 INTRODUÇÃO	14
1.1 OBJETIVOS.....	16
1.1.1 Objetivo Geral	16
1.1.2 Objetivos Específicos	16
CAPÍTULO 2.....	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 TECIDO ADIPOSEO.....	17
2.2 DIGESTÃO E ABSORÇÃO DAS GORDURAS NA DIETA.....	22
2.3 LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS E COLESTEROL.....	24
2.4 ACÚMULO DE TRIACILGLICEROL EM ADIPÓCITOS.....	30
2.5 MOBILIZAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO TECIDO ADIPOSEO: LIPÓLISE.....	36
2.6 FOSFODIESTERASE (PDE).....	37
2.7 Regulação da lipólise	39
2.8 OBESIDADE E REDUÇÃO DE PESO.....	40
2.9 Obesidade Central	45
2.9.1 ESTRUTURA DA PAREDE ABDOMINAL	47
2.10 ULTRASSOM.....	48
2.10.1 EFEITOS FÍSICOS DO ULTRASSOM	48
2.11 FONOFORESE.....	50
2.12 PRINCÍPIO ATIVO.....	51
2.13 ELABORAÇÃO DO GEL.....	55
CAPÍTULO 3.....	58
3 MATERIAL E MÉTODOS	58
3.1 EQUIPAMENTOS.....	58
3.2 ESCOLHA DOS PACIENTES A SEREM TESTADOS.....	58
3.3 PREPARAÇÃO DO GEL COM A CAFEÍNA.....	59
3.4 CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO.....	60
3.5 POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	60
3.6 PROTOCOLO.....	61
3.6.1 Aplicação do ultrassom	61
3.6.2 Grupo A	62
3.6.3 Grupo B	63
3.6.4 Grupo C	63
3.7 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICAS, IMAGEM POR ULTRASSONOGRRAFIA E IMC.....	64
3.7.1 Análise Bioquímica e definição dos indicadores de dislipidemia	64
3.7.2 IMC	65
3.7.3 Imagens ultrassonográficas	65
3.7.4 Coleta de Dados	67
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	67

CAPÍTULO 4	69
4 RESULTADOS	69
4.1 IDADE.....	69
4.2 COMPARAÇÃO DOS GRUPOS DEFINIDOS PELO TRATAMENTO.....	70
4.2.1 Comparação dos momentos de avaliação.....	70
4.2.2 Resultados da Ultrassonografia abdominal.....	70
4.2.3 Efeitos Sistêmicos.....	72
4.2.4 Resultados do IMC.....	74
CAPÍTULO 5	78
5 DISCUSSÃO	78
5.1 QUANTO AOS RESULTADOS.....	
CAPÍTULO 6	87
6 CONCLUSÃO	87
CAPÍTULO 7	88
7 SUGESTÕES, PERSPECTIVAS FUTURAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS	88
REFERÊNCIAS	90
ANEXOS	105

!

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O ultrassom é um recurso amplamente utilizado na prática dos tratamentos fisioterapêuticos, embora as bases fisiológicas dos seus efeitos ainda não sejam totalmente conhecidas. O ultrassom terapêutico (UST) vem sendo utilizado e estudado para aumentar o transporte através da pele de várias drogas incluindo macromoléculas (MITRAGOTRI e KOST, 2003).

O uso do UST como facilitador da absorção cutânea é conhecido por fonoforese ou sonoforese. A fonoforese é a aplicação tópica de drogas pela camada externa da pele dirigida pelas ondas sonoras do UST para os tecidos subjacentes (SOUZA DE JESUS; FERREIRA; MENDOÇA, 2006).

O transporte transdérmico de drogas é um método alternativo para as vias de administração oral e injetável. Entretanto, esse método de aplicação é limitado devido a função de barreira da pele (MUTOH et al., 2003).

Devido à dificuldade em carrear drogas pela pele, pesquisas com variados agentes químicos e físicos vêm sendo realizadas no sentido de limitar as barreiras da pele, e conseqüentemente, acentuar a penetração cutânea (SOUZA DE JESUS; FERREIRA; MENDOÇA, 2006). Uma variedade de estudos sugerem que, para aumentar o sistema de transporte de drogas pela pele, pode-se utilizar, entre outros recursos, as correntes elétricas e a aplicação do UST (MITRAGOTRI, 2008; FERREIRA, 2007; NAIK, KALIA; GUY, 2000).

De acordo com Pires de Campos (2007), o efeito do ultrassom sobre a permeação cutânea da cafeína, sobre a pele de suínos, em estudo in vitro revelou-se eficiente, com resultados significantes no estudo histológico, onde foram observadas alterações morfológicas do tecido adiposo e aumento da resposta lipolítica em adipócitos isolados.

A Cafeína, a qual é um tipo de metilxantina, atua diretamente na célula adiposa, promovendo a lipólise e inibindo a fosfodiesterase e aumentando o AMP cíclico. Esta reação ativa a enzima sensível à hormônio (HSL) e transformam triglicérides em ácidos graxos livres e glicerol. Cafeína também pode estimular a microcirculação cutânea (HEXSEL; ORLANDI; DO PRADO, 2005).

O tecido adiposo é o principal reservatório energético do organismo, composto por células especializadas de tecido conjuntivo (adipócitos), com capacidade de armazenamento de lipídios na forma de triacilglicerol em seu citoplasma, sem que isto seja nocivo para sua integridade funcional. Além de haver evidências de que o mesmo secreta fatores com papel na resposta imunológica, doenças vasculares e regulação do apetite (GARCIA et al., 2002).

Algumas regiões nunca acumulam adiposidade, em contrapartida, outras regiões acumulam-na em grandes quantidades, cabendo citar a porção proximal dos membros e a parede abdominal (GUIRRO e GUIRRO, 2002).

Segundo a *World Health Organization* (WHO, 2003) existem mais de um bilhão de indivíduos adultos acima do peso, e dentre eles, pelo menos trezentos milhões são clinicamente obesos. Além disso, grande parte dos indivíduos com peso dentro dos padrões de normalidade, ou mesmo com baixo peso, são acometidos por adiposidades localizadas e lipodistrofias de modo geral, com grandes repercussões estéticas, funcionais, circulatórias, psicológicas, dentre outras (GUIRRO e GUIRRO, 2002; RUSSO, 2005).

No que se refere às intervenções, diversas técnicas terapêuticas são utilizadas objetivando promover ou auxiliar a redução da adiposidade, sendo uma dessas técnicas a mesoterapia, que consiste em técnica não cirúrgicas para o acúmulo de gordura e lipomas realizada por injeções contendo substâncias lipolíticas, como a popular fosfatidilcolina (Lipostabil[®]), o sal biliar deoxicolato sódico (BECHARA et al., 2007), a cafeína, o isoproterenol, a aminofilina, a L-carnitina, o buflomedil e a calcitonina, (PARK et al., 2008) no tecido adiposo subcutâneo. Técnica esta que, a despeito de seu uso freqüente, possui mecanismo de ação não totalmente elucidado (BROWN, 2006; BISHARA, IBRAHIM, DIBO, 2008).

Outro recurso que vem sendo amplamente estudado para servir como uma opção de tratamento para o depósito de gordura localizada e celulite é a aplicação tópica da cafeína (NICOLI; COLOMBO; SANTI, 2005; CHORILLI et al., 2004; PADULA et al., 2007; PIRES DE CAMPOS et al., 2008). Estudos experimentais indicaram que esta substância atua por inibição da enzima fosfodiesterase, enzima que induz a degradação de AMPc transformando-o em 5'AMP inativo, acarretando na manutenção da taxa de AMPc. A disponibilidade de AMPc ativa a proteinoquinase A e conseqüentemente a lipase hormônio sensível (LHS), induzindo à lipólise através da mobilização de ácidos graxos e glicerol (CHORILLI et al., 2005).

Pires de Campos (2004), estudou a cafeína gel associada ao ultrassom terapêutico, sob a pele de suínos in vivo, com objetivos de avaliar os possíveis efeitos de lipólise da técnica,

além de evitar os efeitos indesejáveis da forma injetável através da aplicação tópica da cafeína a 5%, com resultados significativos verificados em imagens histológicas do tecido adiposo.

A aplicabilidade desta modalidade terapêutica na tela subcutânea apresenta um grande potencial clínico, porém pesquisas em humanos utilizando o UST associado ao princípio ativo cafeína são escassos. Assim, estudos que avaliem a eficácia da associação da tecnologia do ultrassom terapêutico com o uso tópico da cafeína em concentrações terapêuticas são importantes sob o ponto de vista clínico, além de ser um procedimento minimamente invasivo, tornando-o interessante também ao paciente.

1.1 HIPÓTESES

- (1) O ultrassom terapêutico possui capacidade de acentuar a veiculação da substância cafeína para hipoderme (TAS) de mulheres;
- (2) O uso do ultrassom associado a cafeína tem atividade lipolítica em hipoderme de mulheres a ponto de alterar a espessura do tecido adiposo subcutâneo;
- (3) O ultrassom associado a cafeína possui efeito sobre o índice de massa corporal;
- (4) O ultrassom associado a cafeína tem efeitos sistêmicos como alteração nos indicadores de colesterol (colesterol total, LDL e HDL).

1.2 OBJETIVOS

De acordo com as hipóteses levantadas pelo estudo foram traçados os seguintes objetivos:

1.2.1 Objetivo geral

O presente estudo teve como objetivo geral caracterizar a influência do Ultrassom Terapêutico de 3MHz associado ao princípio ativo Cafeína em gel no tecido adiposo subcutâneo em mulheres pré menopausa.

1.1.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos compreenderam:

- (1) Analisar comparativamente os efeitos das intervenções propostas sobre o perfil lipídico, através de exames do plasma sanguíneo dosando os níveis séricos do Colesterol total, HDL, LDL, e Triglicerídeos;
- (2) Avaliar a resposta lipolítica do tecido adiposo subcutâneo humano submetido ao tratamento tópico com cafeína associada e também não associada ao ultrassom terapêutico através de imagens de ultrassonografia;
- (3) Avaliar o índice de massa corporal para investigar possíveis alterações nesse método de composição corporal das voluntárias pertencentes aos grupos experimental e controle.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TECIDO ADIPOSEO: ANATOMIA, FISIOLOGIA, ASPECTOS HISTOLÓGICOS E ESPECIFICIDADES

O tecido adiposo é um tipo especializado de tecido conjuntivo. De modo sucinto, constitui uma associação frouxa de células que armazenam gordura, denominadas células adiposas ou adipócitos, agrupados em lóbulos separados por tramas do tecido conjuntivo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008) (figura 1). Células do leito vascular, fibroblastos e leucócitos também fazem parte deste tecido, embora ocupem um volume bastante diminuto (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002).

Atua primariamente como um grande reservatório de gordura sob forma de triacilgliceróis (TAG). Ele armazena essas moléculas em períodos de excesso de energia e as mobiliza quando há necessidades energéticas, sendo o principal reservatório de energia do organismo (FONSECA-ALANIS *et al.*, 2006; GREGOIRE, SMAS, SUL, 1998; FRÜHBECK *et al.*, 2001 e GARCIA, CHAVES e AZEVEDO. 2002). Os triglicerídeos armazenados no tecido adiposo constituem 98% de todas as reservas energéticas do organismo. Por serem hidrofóbicos e não exercerem pressão osmótica sobre as membranas celulares, são mais facilmente armazenados em relação ao glicogênio (GUYTON; HALL, 2002).

A anatomia topográfica do tecido adiposo inclui duas camadas separadas por uma fáscia superficial. A camada mais externa (em contacto com a derme), chamada de camada areolar, é formada por adipócitos globulares e grandes dispostos verticalmente com vasos sanguíneos numerosos e frágeis. Mais profundamente encontra-se a camada lamelar, as células são fusiformes, menores e dispostas horizontalmente; aqui os vasos são maiores. Esta segunda camada aumenta na espessura quando uma pessoa ganha peso, principalmente devido ao aumento do volume do adipócito que invade a fáscia superficial. O tamanho relativo das duas camadas varia de acordo com a espessura da pele, região, segmento corporal, gênero e idade (mulheres e crianças têm uma espessa camada areolar) (ROSSI; VERGNANINI, 2000).

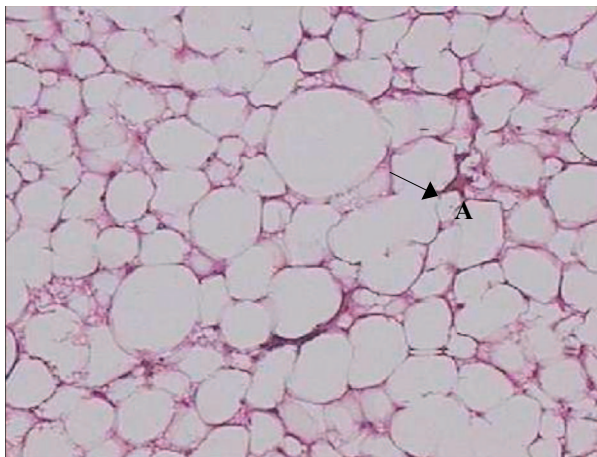


Figura 1¹ - Fotomicrografia de tecido adiposo unilocular corado com hematoxilina e eosina (HE). Cada espaço (A) representa o local ocupado por uma só gota lipídica antes da sua dissolução durante a preparação do tecido. O material circundante representa o citoplasma das células adjacentes e algum tecido conjuntivo, aumento 100x. Fonte: Figura adaptada de Rheingantz; Machado (2003).

Os adipócitos são as únicas células especializadas no armazenamento de lipídios na forma de TAG em seu citoplasma, sem que isto seja nocivo para a sua integridade funcional. Essas células possuem todas as enzimas e proteínas reguladoras necessárias para sintetizar ácidos graxos (lipogênese) e estocar TAG em períodos em que a oferta de energia é abundante, e para mobilizá-los pela lipólise quando há déficit calórico (FONSECA-ALANIS et al., 2006).

Nos mamíferos existem dois tipos de tecido adiposo: os quais diferem-se pela cor, quantidade, vascularização, atividade metabólica, número de organelas e distribuição no organismo, a saber: tecido adiposo unilocular, branco ou amarelo (TAB) e tecido adiposo multilocular ou marrom (TAM) (FONSECA-ALANIS et al., 2006; GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002)

O primeiro é o tecido distribuído amplamente ao nível do subcutâneo e, em decorrência do acúmulo de carotenóides, apresenta variação da coloração entre o branco e o amarelo, justificando sua denominação. O TAM é especializado na produção de calor e, por outro lado, apresenta distribuição corpórea limitada, os depósitos estão praticamente ausentes em humanos adultos, mas são encontrados em fetos recém-nascidos Sua coloração decorre da vascularização abundante, bem como do número elevado de mitocôndrias (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002; GUIRRO; GUIRRO, 2002).

O TAB é composto por células grandes, esféricas quando isoladas e poliédricas quando agrupadas (figura 7) (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Estas células apresentam gotas lipídicas, sendo uma principal, grande,

¹ Observa-se nesta imagem somente o citoesqueleto dos adipócitos, pois a técnica histológica elimina o conteúdo lipídico de dentro da célula adiposa.

responsável por empurrar o núcleo celular alongado contra a membrana citoplasmática (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Essas gotas são envolvidas e estabilizadas por uma proteína estrutural denominada perilipina (HOLM, 2003). Importa ressaltar que as células adiposas multiloculares contém inúmeras gotículas lipídicas, assim como os adipócitos uniloculares em desenvolvimento, ocorrendo, nos últimos, a posterior coalescência das mesmas em uma inclusão lipídica grande na célula madura (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002). Este tecido, ainda, apresenta septos de tecido conjuntivo que contém vasos, nervos, fibras colágenas e reticulares. A vascularização é muito abundante tendo em vista a pequena quantidade de citoplasma funcionante. Junqueira e Carneiro (2008) ressaltaram que a relação entre o volume de capilar sanguíneo e o volume citoplasmático é maior no tecido adiposo do que no músculo estriado. Ambos os tipos de tecido adiposo são inervados pelo sistema nervoso autônomo, mais especificamente pelas fibras simpáticas. No tecido unilocular, as terminações nervosas são encontradas apenas nas paredes dos vasos sanguíneos, logo, os adipócitos não são diretamente inervados (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Entretanto, Trayhurn e Beatie (2001) e Trayhurn (2005) referiram a presença de inervação simpática direta adjacente aos adipócitos, tendo em vista as relações entre este sistema e as concentrações de leptina. No tecido multilocular, por outro lado, as terminações nervosas simpáticas atingem diretamente as células adiposas (HERMSDORFF E MONTEIRO, 2004).

O adipócito branco maduro armazena os TAG em uma única e grande gota lipídica que ocupa de 85-90% do citoplasma, são células grandes, muitas vezes maiores do que as hemácias e os fibroblastos e podem alterar acentuadamente o seu tamanho conforme a quantidade de TAG acumulada. A proporção de lipídios no TAB pode ocupar até 85% da massa total do tecido, sendo o restante da massa representado por água e proteínas (FONSECA-ALANIS *et al.*, 2006).

O TAB é amplamente distribuído subcutaneamente, mas, em certas regiões, a sua quantidade difere de acordo com a idade e o sexo. Na criança e no adolescente existe uma camada gordurosa subcutânea contínua, o panículo adiposo ou hipoderme, que no adulto torna-se fina em algumas regiões e desenvolvida em outras. Essas áreas são diferentes nos homens e nas mulheres e isto influencia nas diferenças de contorno do corpo entre os gêneros (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002).

As mulheres possuem maior taxa de gordura corporal (27%) quando comparado com a taxa de gordura corporal no homem (15%), na proporção de um corpo saudável (ALSTER; TANZI, 2005). Os estrogênios aumentam ligeiramente o metabolismo de todo o corpo, porém

este aumento representa apenas um terço do aumento produzido pela testosterona. Além disso, os hormônios femininos causam deposição de quantidades aumentadas de gordura nos tecidos subcutâneos, nas nádegas e nas coxas, características da figura feminina (GUYTON; HALL, 2002).

Está bem estabelecido que existem variações regionais na lipólise induzida por catecolaminas, pois os hormônios são muito mais lipolíticos nos adipócitos abdominais do que naqueles localizados na área glútea e femoral. Foi sugerido que essas variações locais na lipólise podem ter importância na determinação das diferenças na deposição de gordura em homens e mulheres e no desenvolvimento dos diferentes tipos de obesidade regional (ARNER et al., 1990b).

Em alguns estudos *in vitro* foi observado que adipócitos subcutâneos da região abdominal apresentam maior taxa lipolítica basal do que a taxa encontrada em adipócitos omentais de igual tamanho (figura 2). Além disso, a lipólise do adipócito visceral em homens é mais intensa do que a subcutânea abdominal, já em mulheres pré-menopausa esses fatos se sucedem de forma contrária à dos homens. Outro fator a ser observado é que o balanço líquido entre a captação e liberação de ácidos graxos determina se um dado depósito de gordura terá maior ou menor quantidade de triacilgliceróis estocados (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002).

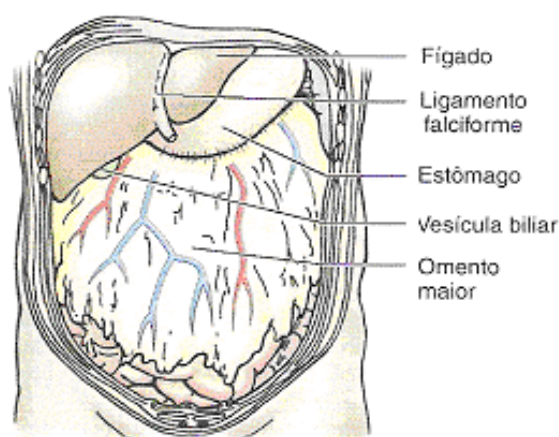


Figura 2 - Omento maior mostrado em posição “normal” cobrindo a maior parte das vísceras abdominais
Fonte: MOORE; DALLEY (2001).

A massa do tecido adiposo depende do tamanho e do número de adipócitos. O aumento do tecido pode ocorrer por hiperplasia (aumento do número) ou hipertrofia (aumento do tamanho) das células. O aumento do tecido adiposo em ratos ocorre em estágios bem definidos. Até a quarta semana após o nascimento o aumento se dá por hiperplasia. Alimentação em excesso nesta fase pode levar a um aumento permanente no peso corporal e

no número de células. A partir da quarta, até a 14^o semana, ocorre hiperplasia e hipertrofia. Após a 14^o semana, o aumento se dá predominantemente por hipertrofia (GARCIA et al., 2002). No homem o desenvolvimento da reserva adiposa ocorre no quinto mês de gestação, tornando-se máxima no oitavo mês de crescimento intra-uterino, constituindo cerca de 17% do peso corporal (CUNHA; COSTA; ROSADO, 2006).

O tecido adiposo sofre dois períodos de crescimento, o primeiro, como citado no parágrafo anterior, ocorre a partir do primeiro trimestre de vida intra-uterina até 18 meses de vida, e o segundo ocorre durante a puberdade. O desenvolvimento do tecido adiposo no segundo período é muito maior em mulheres do que nos homens, o que pode ser explicado pela influência do estrogênio, que estimula a replicação dos precursores de adipócitos. Nas mulheres, os adipócitos dentro da região do quadril são maiores e são influenciados por hormônios sexuais femininos, o que os torna metabolicamente mais estáveis e resistentes a lipólise. Portanto o aumento do tecido adiposo na região do glúteo caracteriza o tipo de obesidade ginóide feminino (ROSSI; VERGNANINI, 2000).

O tecido adiposo pode ser considerado um órgão endócrino complexo que secreta ácidos graxos livres e vários hormônios, as adipocitocinas as quais conferem a função de regulação do metabolismo corpóreo a tal tecido (CARMINA et al., 2008).

Essas substâncias, em sua grande maioria, estão relacionadas aos processos que contribuem na aterosclerose, hipertensão arterial, resistência insulínica, diabetes não insulino-dependente, dislipidemias, obesidade, além do próprio controle intrínseco do tecido em questão. Dentre elas, destacam-se a interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), inibidor de plasminogênio ativado-1 (PAI-1), proteína C reativa (PCR), resistina, proteína estimulante de ascilação (ASP), leptina, adiponectina e fatores envolvidos no sistema renina-angiotensina (TRAYHURN; BEATTIE, 2001; HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004; TRAYHURN; BING; WOOD, 2006).

A IL-6, por estimular a lipólise independentemente da modulação de catecolaminas, glucagon e insulina, é um fator importante no metabolismo lipídico. O TNF- α é uma citocina que age diretamente no adipócito, promovendo indução da apoptose, inibição da lipogênese, bem como aumento da lipólise (GUIMARÃES et al., 2007).

A ASP, por outro lado, inibe a lipólise e estimula a lipogênese, e a angiotensina II estimula igualmente a lipogênese, bem como a diferenciação dos adipócitos. A adiponectina, por sua vez, é uma proteína expressa exclusivamente nos adipócitos diferenciados, responsável por regular a sensibilidade à insulina, e conseqüentemente melhorar o controle

dos níveis séricos de glicose, ácidos graxos livres e triglicerídeos (HERMSDORFF E MONTEIRO, 2004; TRAYHURN; BING; WOOD, 2006, COSTA; DUARTE, 2006).

A leptina, descoberta em 1994, é sintetizada, principalmente, pelo tecido adiposo branco e exerce efeitos primordiais na regulação do balanço energético de acordo com a gordura corpórea. Como ação primária, atua sobre os neurônios do núcleo hipotalâmico arqueado, onde estimula a expressão de neurotransmissores e hormônios ligados aos mecanismos de inibição da ingestão alimentar e aumento do gasto energético total, via ativação do sistema nervoso simpático. Ao mesmo tempo, inibe a expressão do neuropeptídeo Y (NPY) e peptídeo agouti, considerados orexígenos (estimuladores da fome). A leptina, ainda, pode ativar a adenosina ciclase, aumentando a oxidação lipídica, assim como, reduzir a síntese de triglicerídeos. Sua expressão varia com o tamanho do adipócito e massa adiposa total (TRAYHURN; BEATTIE, 2001; HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004; TRAYHURN; BING; WOOD, 2006). Sendo assim, um maior grau de supressão da produção de leptina é decorrente da liberação de catecolaminas, sendo esta mediada primariamente através dos β_3 adrenorreceptores (TRAYHURN; BEATTIE, 2001). O sistema nervoso simpático, através de um mecanismo de *feedback* negativo, é o principal regulador fisiológico da produção de leptina (TRAYHURN, 2005).

Novos compostos, relativos ao tecido adiposo, foram caracterizados recentemente, o que em associação às adipocitocinas já citadas evidenciam a alta complexidade de tal tecido (BUSETO et al., 2008). Dentre as moléculas secretadas e que fazem o tecido adiposo ser classificado como órgão endócrino estão a já citada anteriormente leptina, a interleucina-1 β (IL-1 β), a proteína quimiotática 1 de monócitos (MCP-1), a lipase de lipoproteínas (LPL), a apolipoproteína E, a proteína de transferência de éster de colesterol (CETP), o angiotensinogênio, o fator β de transformação do crescimento (TGF- β), o fator tecidual, o fator de crescimento insulina-símile (IGF-1), os glicocorticóides, os esteróides sexuais, a adipofilina, a adipsina, a monobutirina e prostaglandinas (FERRAZ DE CAMPOS, 2007).

2.2 DIGESTÃO E ABSORÇÃO DAS GORDURAS NA DIETA

Os lipídios armazenados nas células adiposas são, principalmente, triglicerídeos ou ésteres de ácidos graxos e glicerol (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002) e em menor quantidade o colesterol (TRAYHURN; BEATTIE, 2001). Tais lipídios são provenientes da

alimentação e carreados até as células adiposas como triglicerídeos a partir dos quilomícrons, oriundos do fígado e transportados até o tecido adiposo sob a forma de triglicerídeos constituintes das lipoproteínas plasmáticas de densidade muito baixa (VLDL), (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002) e da síntese nas próprias células adiposas, a partir da glicose (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002; HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004). Os quilomícrons são partículas formadas pelas células epiteliais do intestino delgado, a partir dos nutrientes absorvidos. São constituídos por triglicerídeos e pequenas quantidades de colesterol, fosfolipídeos, proteínas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Após deixarem as células epiteliais, atingem a circulação sistêmica, por intermédio do sistema linfático e sangue venoso. Nos capilares sanguíneos do tecido adiposo, ocorre a hidrólise dos quilomícrons e das VLDL através da lipase lipoproteica, com conseqüente liberação de ácidos graxos e glicerol. Os mesmos são absorvidos pelos adipócitos e se difundem para o citoplasma, onde se recombina para formar novas moléculas de triglicerídeos (figura 9), bem como pelas células musculares para produção de adenosina trifosfato (ATP) (TRAYHURN; BEATTIE, 2001; HOLM, 2003). Após depositar parte de seus triglicerídeos nas células adiposas, as VLDL são convertidas em lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (VERNON, 1992).

Grande parte dos ácidos graxos consumidos na dieta é depositada no tecido adiposo. A concentração plasmática de triacilglicerol em uma pessoa que acaba de se alimentar sobe gradativamente e alcança um pico em 3 a 4 horas após e retorna ao normal em 6 a 8 horas. Já o aumento excessivo e prolongado (hipertrigliceremia) após comer gordura é anormal (HENRY, 1995).

2.3 LIPOPROTEÍNAS E COLESTEROL

Uma grande quantidade de lipídeos precisa ser movimentada para ser transportado para ser metabolizadoe um órgão para outro e o sistema circulatório é a rede de transporte através da qual este movimento tem lugar (MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994).

Os principais lipídeos no plasma humano são o colesterol, ésteres de colesterol, triglicerídeos, fosfolipídeos e os ácidos graxos não esterificados (ETHERTON; YU, 1997). Os lipídeos são utilizados como fonte energética e fazem parte dos componentes das membranas celulares. Por outro lado, a insolubilidade dos lipídeos em água aumenta a complexidade de seu transporte, criando a necessidade de um sistema carregador (LIMA,

2002). Este sistema transporta os lipídeos como complexos macromoleculares miscíveis em água. O sistema mais simples é formado de ácido graxo e albumina e pode ser chamado de ácido graxo livre FFA (free fatty acid). O outro sistema é composto de micelas que contêm uma mistura de lipídeos e proteínas específicas. Estas são chamadas de lipoproteínas plasmáticas e transportam colesterol e triacilglicerol na circulação (MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994).

O processo de transporte serve a quatro finalidades principais. Os triacilgliceróis da dieta precisam ser transportados do intestino para outros tecidos do corpo humano. Os triglicerídeos formados no fígado precisam ser secretados e a seguir depositados no tecido adiposo para armazenamento. Os ácidos graxos armazenados como triglicerídeos no tecido adiposo precisam ser removidos para outros tecidos quando estes precisarem de uma fonte de energia. E finalmente, o colesterol precisa ser levado de um lugar ao outro no corpo (MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994).

Sabe-se que o fígado tem papel central na regulação da síntese, degradação e armazenamento de lipídios e lipoproteínas (LIMA, 2002). Quase todas as lipoproteínas são formadas no fígado, onde ocorre também a síntese da maior parte do colesterol, dos fosfolipídios e dos triglicerídeos plasmáticos, além disso são sintetizadas pequenas quantidades de lipoproteína de alta densidade, no epitélio intestinal, durante a absorção de ácidos graxos pelo intestino (GUYTON; HALL, 2002).

O colesterol da dieta que é absorvido pelo intestino tem de ser entregue ao fígado e o colesterol formado no fígado precisa ser levado para outros tecidos para a síntese de membranas e hormônios esteróis. Além disso, o colesterol em excesso, contido nos tecidos extra-hepáticos ou no plasma, precisam ser levados ao fígado, onde ele é excretado na bile (MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994).

As lipoproteínas são pequenas partículas contendo em sua composição triglicerídeos, colesterol, fosfolipídios e proteínas. A concentração total de lipoproteínas no plasma é em média 700mg/dl (GUYTON; HALL, 2002).

O excesso de calorias que entram na circulação com cada refeição é transportado principalmente como triglicérides, para serem armazenados no tecido adiposo para uma futura utilização entre as refeições, havendo prévia transformação destas triglicérides em ácidos graxos. O colesterol é também sintetizado, pois precisa ser transportado para os tecidos extra-hepáticos, para servir como substrato para estrutura das membranas plasmáticas e das diferentes formações intracelulares. (WINTROBE, 1979).

Existem cinco classes de lipoproteínas plasmáticas: quilomícrons, lipoproteína de muita

baixa densidade ou em inglês, very-low density lipoproteins (VLDL), lipoproteínas de densidade intermediária (intermediate-density lipoprotein - IDL), lipoproteínas de baixa densidade (low-density lipoproteins - LDL) e lipoproteínas de alta densidade (high-density lipoprotein - HDL) (MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994).

A função principal das lipoproteínas consiste em transportar seus componentes lipídicos no sangue. As lipoproteínas de densidade muito baixa transportam triglicerídeos sintetizados no fígado principalmente para o tecido adiposo, enquanto as outras lipoproteínas são importantes nas diferentes etapas do transporte de fosfolipídios e do colesterol do fígado para os tecidos periféricos, ou da periferia para o fígado (GUYTON; HALL, 2002).

O Colesterol é um componente estrutural das membranas celulares e das lipoproteínas plasmáticas e também o material de partida para a síntese de ácidos biliares e de hormônios esteróides. Uma anomalia no metabolismo do colesterol ou no seu transporte no plasma estar relacionado com o desenvolvimento de aterosclerose (MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994).

As frações de colesterol: colesterol total, HDL, VLDL e o LDL, são a maneira mais prática de aferir o colesterol sanguíneo. E a razão do LDL e o HDL é usado pelos médicos para determinar o fator de risco de infarto do coração (tabela 1), quanto menor a razão tanto menor o fator de risco. (WALTERS; ESTRIDGE; REYNOLDS, 1998; WINTROBE, 1979).

Tabela 1 - Valores definidos como fatores de risco para doenças cardiovasculares

FATORES DE RISCO PARA DOENÇAS CARDIOVASCULARES	
Triglicérides	≥ 150 mg/dl
Níveis de colesterol total	≥ 200
Níveis de LDL	≥ 130 mg/dl
Níveis de HDL	< 40 mg/dl para homens e < 50 mg/dl para mulheres
Valores de Pressão arterial sistólica	Sistólica ≥ 130 mmHg
Pressão arterial Diastólica ≥ 85 mmHg.	Diastólica ≥ 85 mmHg

Fonte: (REZENDE et al., 2006).

Segundo o Consenso Brasileiro sobre Dislipidemia (1999), Coelho et al. (2005), Hu *et al.* (1999) e Shekelle, Shryock e Oblesby (1981) consideram que a determinação do perfil lipídico está sob a influência de variáveis ambientais, incluem-se dentro de tais variáveis o tabagismo, o sedentarismo e a dieta. Em complemento, Fisberg et al. (2001) e Rabelo et al. (1999) relataram que indivíduos com hábitos alimentares inadequados, como ingestão calórica excessiva, ingestão elevada de carne vermelha, frituras e elevado teor de gordura e colesterol,

está associada a um aumento da lipogênese, níveis séricos aumentados de colesterol total e fração de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL).

2.4 ACÚMULO DE TRIACILGLICEROL EM ADIPÓCITOS

A captação dos ácidos graxos pelo adipócito, em sua maior parte, ocorre por difusão facilitada através de proteínas transportadoras transmembrana. Uma vez no citoplasma, o ácido graxo se liga a outra proteína de ligação que transporta a molécula para ser acilada com a coenzima A, através da acetilCoAsintetase. Na sequência, por fim, o ácido graxo é transferido para a gotícula adiposa (FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2006). O aumento de triglicerídeos e, conseqüentemente, da gotícula adiposa, promove hipertrofia adipocitária. Na presença de gordura em demasia, precursores de adipócitos são recrutados e na seqüência submetidos à diferenciação celular, culminando em aumento, em diferentes graus, deste tecido (VERNON, 1992).

A figura 3 mostra o resumo do processo de acúmulo de triacilglicerol em adipócitos.

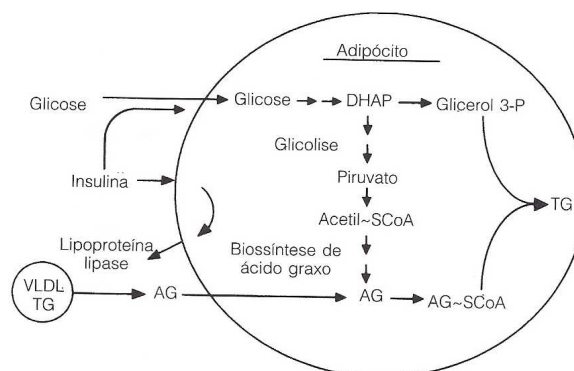


Figura 3 - Acúmulo de triacilglicerol nos adipócitos. TG - triacilglicerol; DHAP - diidroxiacetona fosfato; AG - ácido graxo.

Fonte: (MONTGOMERY, CONWAY e SPECTOR, 1994).

2.5 MOBILIZAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO TECIDO ADIPOSEO: LIPÓLISE

O excesso de energia consumido na alimentação é convertido em moléculas de triacilgliceróis, sob ação do hormônio insulina, como explicado acima, enquanto que na

situação de restrição energética, os estoques de energia são rapidamente mobilizados, sob a influência das catecolaminas (adrenalina e noradrenalina, neurotransmissores adrenérgicos) e outros hormônios lipolíticos (GUIMARÃES et al., 2007).

O metabolismo do adipócito é controlado por hormônios e pelo Sistema Nervoso Autônomo (SNA). As fibras simpáticas em sua maioria secretam norepinefrina, também chamada de noradrenalina (NA) (transmissor simpático adrenérgico), que irá estimular seu órgão efetor através de receptor específico (localizado no lado externo da membrana plasmática). No caso específico do tecido adiposo a estimulação simpática produz sobre os receptores beta (β) o efeito de lipólise ou hidrólise dos triglicerídeos (GUYTON; HALL, 2002).

Os beta adrenoceptores estão sujeitos a uma intensa regulação. Eles são regulados pela insulina, estrógenos e hormônios da tireóide e são alterados por fatores nutricionais, diabetes, neuropatias e tratamentos beta-bloqueadores (ARNER, 1992).

Como será exposto mais adiante, a lipólise é predominantemente inibida pela insulina enquanto que é promovida por influências catecolaminérgicas estimulada pela ação da adrenalina, noradrenalina, cortisol e hormônio do crescimento (GH). Os mecanismos endócrino e simpático afetam um ao outro na regulação da massa gorda e são coordenados pelo sistema nervoso central. A noradrenalina e adrenalina ativam a lipólise via adrenoceptores α_1 , α_2 e α_3 , porém essas catecolaminas também estimulam os adrenoceptores α_2 , os quais inibem a lipólise (DODT et al., 2003; ARNER et al., 1990a; BARBE et al., 1997).

Lipólise é definida como a hidrólise de lipídeos ou simplesmente o processo de dissolução de gordura. Esse processo é dependente de uma enzima chamada lipase hormônio sensível (HSL), que quebra a gordura em glicerol e ácidos graxos livres, os quais são liberados na corrente sanguínea, onde eles podem ser, tanto reesterificados pelos adipócitos ou metabolizados no fígado. Portanto a lipólise é o controle central na regulação da composição da massa gorda dos adipócitos em humanos (LIMA et al., 2002).

A ativação da HSL é o último passo de uma sequência de reações intracelulares que compõem o sistema de segundo mensageiro, o qual é assim denominado porque as catecolaminas agem como o primeiro mensageiro e adenosina monofosfato cíclico (AMPC) atua como o segundo mensageiro (KAROLCHYK, 2005), como será explicado detalhadamente a seguir.

Existem duas vias que envolvem a lipólise: o caminho beta-adrenérgico, que é mediado pelo AMPc (adenosina monofosfato cíclico), e o caminho peptídeo natriurético, o qual é mediado pelo GMPc (guanina monofosfato cíclico) (CARUSO, 2006).

O tecido adiposo e músculo esquelético têm adrenoreceptores abundantes sobre a sua superfície (KAROLCHYK, 2005). A via clássica para uma lipólise em células de gordura começa com a ativação do receptor pelo agonista beta-adrenérgico, via proteína Gs (estimulatória) nos adipócitos (CARUSO, 2006). A proteína G se localiza na superfície interna da membrana da célula, ligada ao receptor acoplado à proteína G. Quando um ligante ativa o receptor acoplado à proteína G, ele induz uma mudança conformacional no receptor (uma mudança no formato) que permite que o receptor funcione como um fator de troca do nucleotídeo guanina, colocando GTP no local do GDP (BEZERRA; LATRONICO; FRAGOSO, 2005). No tecido adiposo os receptores acoplados a proteína G são β (proteína G estimulatória) (LIMA et al., 2002).

A ligação do estímulo catecolaminérgico aos receptores beta-adrenérgicos e a ativação da proteína G constituem o segundo passo da lipólise, que então ativa uma enzima efetora, a adenilato ciclase (KAROLCHYK, 2005).

A ativação da adenilato ciclase converte ATP em AMPc e fosfato inorgânico (PPI). AMPc contém um único grupo fosfato que é atribuído tanto ao terceiro carbono quanto ao quinto carbono do açúcar ribose. Por isso é chamado de AMP "cíclico". Portanto a ativação da adenilato ciclase converte ATP em 3'-5' AMPc, aumentando os níveis de AMP cíclico intracelular (KAROLCHYK, 2005).

A elevação do AMP cíclico comporta-se como um segundo mensageiro, o que ativa a proteína quinase A (PKA) (LIMA et al., 2002; CARUSO, 2006). Uma vez estimulado pelo AMPc, a proteína quinase A libera sua subunidade catalítica. A subunidade catalítica fosforila a lipase hormônio sensível e a perilipina. Em continuidade, a lipase hormônio sensível fosforilada (HSL-P) ou simplesmente Lipase é translocada para a gotícula de gordura (HOLM, 2003; HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004; KAROLCHYK, 2005; CARUSO, 2006). Em detalhe, a perilipina fosforilada possibilita a entrada da lipase hormônio sensível à gotícula adiposa, onde os triglicerídeos são convertidos em diglicerídeos e estes em monoglicerídeos, esse é o terceiro e último passo do processo da lipólise, que refere-se à própria lipase hormônio sensível (HSL) atuando sobre os triacilgliceróis da célula (figura 4) (LIMA et al., 2002; CARUSO, 2006).

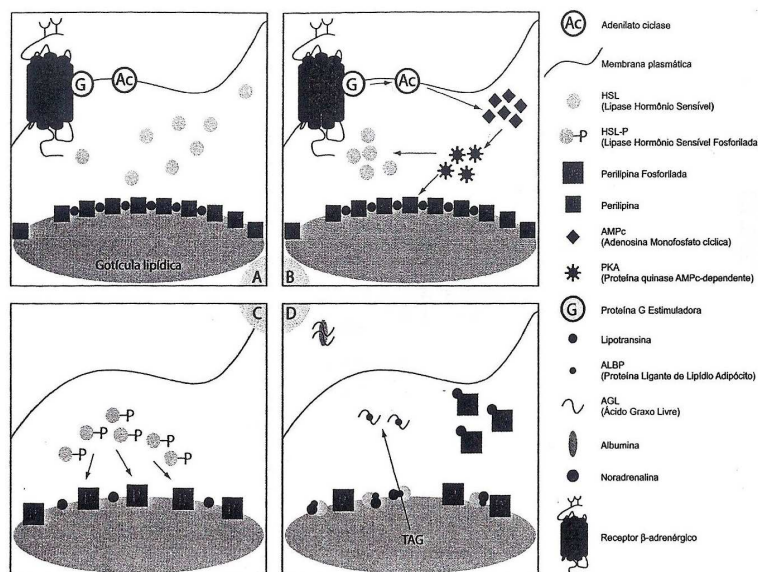


Figura 4² - Representação esquemática do mecanismo atual proposto para a regulação da lipólise.
Fonte: LIMA et al. (2002).

De modo resumido para a etapa final da lipólise, a HSL fosforilada catalisa a decomposição de triglicerídeos em três etapas (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002).

Cada uma das 3 etapas, a cada passo, remove um ácido graxo até obter-se glicerol e três ácidos graxos. Não se pode dizer que a gordura antes armazenada e agora eliminada acabou-se por completo. Se esta gordura não for queimada, ela será simplesmente reesterificada e voltará à forma triacilglicerol. Este processo de lipólise e lipogênese utilizando os mesmos ácidos graxos é chamado de um "ciclo fútil" por motivos óbvios (KAROLCHYK, 2005).

Garcia, Chaves e Azevedo (2002) relataram que os adipócitos uniloculares tornam-se multiloculares e diminuem de diâmetro à medida que mobilizam lipídios. Importa citar que a perilipina regula tanto a lipólise quanto a lipogênese, por intermédio do controle do acesso à gotícula lipídica por parte das enzimas lipolíticas. Esta proteína, em condições basais, protege

² (A) Em adipócitos não – estimulados, a lipólise é mínima, porque a HSL está sob a forma desfosforilada e por causa da barreira criada pelas perilipinas na superfície da gotícula lipídica. (B) Estimulo catecolaminérgico dispara uma elevação na concentração de AMPc que ativa PKA, resultando na fosforilação da HSL e das perilipinas. (C) A fosforilação das perilipinas provavelmente libera a barreira e permite a translocação de HSL-P para a gotícula. (D) A interação de HSL com ALBP favorece a rápida evacuação do AGL, resultante da hidrólise do TAG (triacilglicerol). Uma interação entre HSL-P e lipotransina ocorre na superfície da gotícula lipídica. Não se sabe com certeza se esse fato é necessário para o ancoramento da HSL às gotículas ou se tem função importante durante a inibição da lipólise pela insulina Fonte: (LIMA et al., 2002)

a gotícula adiposa da ação das enzimas citosólicas. Entretanto, quando fosforilada, permite o acesso das mesmas ao triglicerídeo intracelular.

Os ácidos graxos derivados da lipólise constituem o principal combustível usado durante exercícios e situações anabólicas de longa duração (ARNER et al., 1990a). Se o paciente não tiver um balanço calórico negativo, os ácidos graxos livres não são consumidos e retornam para o meio intracelular. Além disso, em elevados níveis plasmáticos de insulina e glicose, a triglicerídeo lipase sensível a hormônio torna-se inativa, acarretando na não-hidrólise dos triacilgliceróis (figura 5) (GUYTON; HALL, 2002).

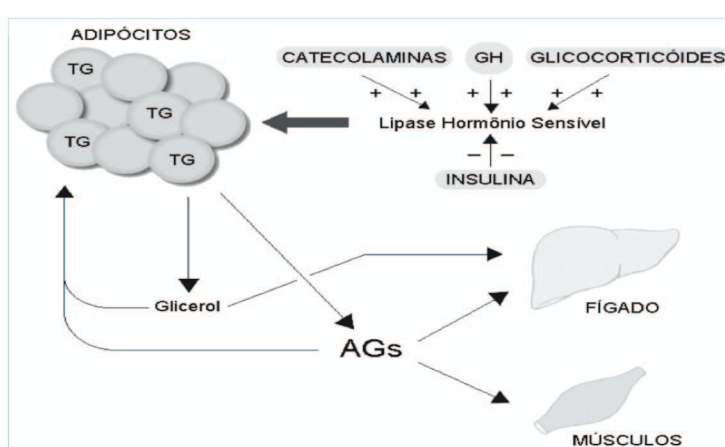


Figura 5 - Representação esquemática da mobilização dos ácidos graxos. (AGs) provenientes do tecido adiposo por meio da hidrólise dos triacilgliceróis (TAGs) nos adipócitos, + ativação, - inibição. Fonte: PRESTES, et al. (2006).

Ao deixarem as células adiposas, os ácidos graxos têm forte ionização no plasma, e a porção iônica combina-se imediatamente com moléculas de albumina das proteínas plasmáticas. O ácido graxo ligado dessa maneira é denominado de ácido graxo livre ou ácido graxo não-esterificado (GUYTON; HALL, 2002).

Os ácidos graxos liberados do tecido adiposo são transportados a todo o organismo e, além de atuarem como substratos energéticos, podem controlar a função das células. Portanto, a atividade lipolítica é eficientemente regulada para controlar os fluxos de entrada e saída de ácidos graxos do tecido adiposo. Fatores que regulam a lipólise podem ser utilizados como coadjuvantes no tratamento de patologias como a obesidade e diabetes, e, portanto merecem ser investigados (GARCIA; CHAVES; AZEVEDO, 2002).

A taxa de limitação da HSL é o fator que regula a lipólise no adipócito, que irá resultar em seguida na hidrólise dos triglicerídeos, e na liberação de glicerol e ácidos graxos livres. Este processo provoca aumento da lipólise. Por outro lado enzimas fosfodiesterases hidrolisam o AMP cíclico em 5 AMP inativo, o que provoca uma diminuição da lipólise (CARUSO, 2006). Através de uma série de reações, as catecolaminas, como a adrenalina e

noradrenalina, irão estimular a lipólise via receptores beta adrenérgicos ou inibição da lipólise via receptores alfa adrenérgicos. O efeito global lipolítico das catecolaminas é determinado pela razão entre receptores alfa e receptores beta em cada adipócito (KAROLCHYK, 2005).

Falar so do beta

A insulina inibe a lipólise e estimula o processo de lipogênese (síntese de ácidos graxos livres que ocorre em sítios citoplasmáticos e mitocôndrias dos adipócitos e hepatócitos no fígado) e esterificação (CURI et al., 2003), esta é o mais importante inibidor fisiológico da lipólise induzida por catecolaminas, além de estimular a lipogênese, atua sobre um receptor de membrana, uma proteína que possui atividade enzimática capaz de fosforilar substratos intracelulares (IRS – substrato do receptor de insulina). Em resumo, está bem estabelecido que ocorre propagação do sinal disparado a partir da ligação do hormônio (insulina) ao seu receptor IRS (no tecido adiposo os receptores que estão ligados a proteína G são receptores α -2 ou Gi, proteína G inibitória que inibe a formação do AMPc e a lipólise) através de uma cascata de fosforilações, recrutando determinadas proteínas, como a fosfodiesterase tipo 3B (PDE 3B), que leva a uma diminuição dos valores de AMPc e, concomitantemente, diminuição na atividade de PKA (proteína quinase A). A inibição específica da fosfodiesterase (PDE 3B), que será detalhada adiante, bloqueia completamente o efeito antilipolítico da insulina, indicando que a degradação de AMPc é o principal mecanismo pelo qual a insulina antagoniza o efeito lipolítico induzido pelas catecolaminas (LIMA et al., 2002).

2.6 FOSFODIESTERASE (PDE)

O processo da lipólise está sob controle de feedback e os atenuantes da lipólise podem atuar em vários níveis. Os produtos químicos envolvidos na eficácia da noradrenalina/adrenalina são as fosfodiesterases, prostaglandinas e adenosina (DULLOO et al., 1999).

As Fosfodiesterases (PDE) fazem parte de uma superfamília de enzimas que fazem degradação de adenosina monofosfato (AMPc) e guanosina monofosfato cíclico (GMPc). O AMPc e o GMPc atuam como segundos mensageiros, responsáveis pela transdução de diversos sinais extracelulares, incluindo os hormônios e neurotransmissores. Esses

nucleotídeos cíclicos (AMPc e GMPc) têm em sua meta a ativação de enzimas, a proteína quinase A e a proteína quinase G, que fosforilam substratos como canais iônicos, proteínas contráteis e fatores de transcrição, portanto regulam as principais funções celulares (MEYERS et al., 1997).

Na segunda etapa da lipólise, como visto na seção anterior, as proteínas G desempenham um papel fundamental na regulação do metabolismo de gordura nos adipócitos. As catecolaminas ligam-se aos receptores beta-adrenérgicos, ativando proteínas G estimulatórias (Gs) (CARUSO, 2006). Estas proteínas G, em seguida, irão ativar a adenilato ciclase, a qual irá transformar ATP em AMPc e PPI (Pirofosfato inorgânico). Tanto PPI como AMPc não podem existir nessas formas por muito tempo. O PPI é hidrolisado por pirofosfatase inorgânicas para formar dois Pi. A 3'-5'-AMPc é também inativado rapidamente pela enzima fosfodiesterase AMPc (PDE). Esta enzima rompe o vínculo entre o terceiro carbono (3') de ribose e o grupo fosfato para formar 5'-AMPc, que é inativo e não irá se ligar a proteína quinase A, conseqüentemente, não leva à ativação do HSL (KAROLCHYK, 2005).

Recentemente, foi demonstrado que a lipólise de adipócitos é mediada por ambas as AMPc-dependente e GMPc-dependente de proteínas quinases. Catecolaminas e insulina controlam o AMPc-dependente de proteína quinase, que modula a atividade da lipase hormônio sensível (CARUSO, 2006).

As PDEs são essenciais na regulação da sinalização intracelular, com diversas funções fisiológicas, PDEs se tornaram mais conhecidas pela importância para medicamentos-alvo, para o tratamento de várias doenças, tais como a falência cardíaca, asma, inflamação e disfunção erétil. Várias fosfodiesterases já foram identificadas, algumas delas são não-específicas (PDE1, PDE2, PDE3, PDE10, PDE 11), e outras são AMPc específicas (PDE4, PDE7, PDE8) ou GMPc específicas (PDE5, PDE6, PDE9). A Fosfodiesterase 3B (PDE3) é a PDE mais encontrada no tecido adiposo, fígado e ilhotas pancreáticas. Sua ativação desempenha um papel importante na ação antilipolítica da insulina no tecido adiposo. A insulina aumenta a atividade da PDE3, resultando na hidrólise de AMPc e diminuição da atividade da proteína quinase A e lipase hormônio sensível. Por outro lado, a inibição da PDE3 resulta em aumento da lipólise. A PDE3 não é AMPc específica, ela modula também a sinalização de GMPc e a ativação da proteína quinase G em adipócitos, mas este efeito é muito mais fraco do que a sua influência sobre a proteína quinase A. Fosfodiesterase 5 (PDE5) é um membro da família PDE5 GMPc específico. No entanto, não fica claro qual tipo predominantemente de PDE influencia a lipólise no tecido adiposo. Poderia ser um efeito de inibição de ambas, a PDE3 e PDE5, uma vez que ambas as formas são encontrados em tecido

adiposo (ALTABAS et al., 2009).

As fosfodiesterases (PDEs) agem hidrolisando o AMPc e o transformando em fragmentos inativos. Devido a isso, o efeito estimulatório de noradrenalina e adrenalina, que utilizam AMPc como segundo mensageiro, depende da contínua regeneração de AMPc (KAROLCHYK, 2005).

Como explicado detalhadamente acima, altos níveis de glicose e insulina no sangue estimulam o acúmulo de triacilglicerol no tecido adiposo. Quando isto ocorre, o conteúdo de AMPc do adipócito é reduzido. E a concentração baixa de glicose e insulina aumentam a mobilização de ácido graxo do adipócito. De modo geral, a lipólise e a lipogênese são reguladas por hormônios de mesma natureza. A ativação da lipólise é resultante do aumento da concentração intracelular de AMPc, podendo ser mediada pela adrenalina e noradrenalina, cortisol, hormônios tireoideanos, glucagon e fatores de crescimento (ARNER, 1996; HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004). Vale complementar que variações nas taxas de fluxo sanguíneo podem influenciar a atividade lipolítica (ARNER, 1996).

Além disso, metilxantinas, como cafeína e a teofilina, aumentam a mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo. Estas substâncias inibem a fosfodiesterase, a enzima que inativa o AMPc. Como resultado, o nível de AMPc na célula se eleva, ajudando a manter a lipase hormônio-sensível na forma ativa (SILVA et al., 2006; CHORILLI et al., 2005; MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994).

2.7 OBESIDADE E REDUÇÃO DE PESO

O corpo possui células mesenquimais especializadas, os adipócitos, com função de armazenar gordura na forma de triacilglicerol, a obesidade é o acúmulo excessivo de gordura no corpo e associada a um aumento do número, bem como do tamanho dos adipócitos. É portanto uma hipertrofia e hiperplasia do tecido adiposo (CEZAR, 2002).

2.7.1 Obesidade Central

A obesidade tem sido claramente identificada na literatura como um importante fator de risco no desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV). Entretanto, sabe-se que outros fatores têm influência nesse risco, independentemente de o indivíduo ser obeso ou não. Dentre esses fatores destaca-se a medida de cintura, indicador antropométrico que se correlacionou mais fortemente com o aumento da gordura abdominal, principalmente da glicemia, dos triglicérides, da pressão arterial e redução do HDL (REZENDE et al., 2006).

Hernsdorff e Monteiro (2004) relataram que mulheres em idade fértil, a ação da lipase hormônio sensível, via ativação catecolaminérgica, é aumentada no tecido adiposo subcutâneo abdominal em comparação ao glúteo-femoral. Entretanto, em mulheres climatéricas, a lipase hormônio sensível tem atividade reduzida, o que em associação a outros fatores pode justificar o maior acúmulo de adiposidade abdominal bem como a redistribuição da composição corpórea em mulheres acima de 50 anos.

O aumento da gordura visceral está ligado com o aumento do risco cardiovascular. Diversos estudos prospectivos atribuem ao aumento da gordura visceral grande importância como fator de risco para doenças coronarianas, acidente vascular encefálico e aumento da mortalidade na população geral (GUIMARÃES et al., 2007). Além disso, o tecido gorduroso intra-abdominal tem sido considerado fator relevante na associação entre obesidade, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia e morbidade cardiovascular (CASTRO; MATOS; GOMES, 2006).

A predominância de gordura visceral também foi estabelecida como fator de risco independente para diabetes mellitus tipo 2 em mulheres e homens. (GUEDES; GUEDES, 1998). Este fato provavelmente se deve a uma característica peculiar metabólica e anatômica do tecido gorduroso visceral. O sangue derivado dos depósitos viscerais é drenado pelo sistema porta para o fígado. No tecido adiposo visceral a mobilização de ácidos graxos livres (AGL) é maior que nos demais tecidos. Assim, em consequência da maior atividade lipolítica desse tecido, associado a sua localização anatômica e sistema de drenagem, o fígado acaba sendo exposto a altas concentrações de AGL. Níveis aumentados de AGL estimulam a gliconeogênese hepática e atenuam a depuração hepática de insulina derivada do pâncreas, contribuindo para a hiperinsulinemia periférica. O aumento da oferta de AGL ao fígado também contribui para a geração de outros fatores de risco cardiovasculares, tais como as anormalidades lipoproteicas (SPINA, 2005).

A composição do corpo humano pode ser estudada de diversas maneiras. A única maneira direta de mensuração é através da dissecação de cadáveres, sendo que todas as outras metodologias (densitometria, bioimpedância, marcação de potássio, ultrassom, espessura de dobras cutâneas e outras medidas antropométricas) são maneiras indiretas de mensuração (BÖHME, 2000).

Porém estudos como os de Radominiski et al. (2000) e Hirooka et al. (2005) relatam que o ultrassom é um método direto na verificação da espessura do tecido adiposo tanto intrabdominal (visceral) quanto subcutâneo.

Os métodos para avaliação da gordura visceral são complexos, sendo a circunferência abdominal um indicador simples e fiel da presença deste tipo de gordura (CASTRO; MATOS; GOMES, 2006).

Outro indicador para composição corporal é o índice de massa corporal (IMC), dado pela fórmula peso (Kg)/altura (m)² (REZENDE, et al., 2006) este é considerado melhor indicador para pacientes adultos jovens e não tão eficiente para pacientes idosos (SAMPAIO, 2002).

Os pontos de corte de IMC preconizados pela World Health Organ (WHO) (2003) são: baixo peso (IMC < 18.5); eutrofia (normal) (IMC 18.5-24.9); sobrepeso (IMC ≥ 25.0); pré-obeso (IMC 25.0-29.9); obesidade classe I (IMC 30-34.9); obesidade classe II (IMC 35.0-39.9) e obesidade classe III (IMC ≥ 40.0).

Kac, Velásquez-Meléndezba e Coelho (2001), em um estudo transversal na cidade do Rio de Janeiro investigaram as variáveis potencialmente associadas à obesidade abdominal em mulheres em idade reprodutiva (intervalo 16 a 45 anos de idade), utilizando a medida CA. Obtiveram maiores freqüências de obesidade abdominal em mulheres acima de 35 anos e com dois ou mais filhos (50,7%).

2.8 ESTRUTURA DA PAREDE ABDOMINAL (ÂNTERO-LATERAL)

Embora seja contínua a parede abdominal é subdividida para propósitos descritivos em parede anterior, paredes lateral direita e esquerda e parede posterior.

Na anatomia topográfica a parede abdominal ântero-lateral consiste em pele e tecido subcutâneo (fáscia superficial) e é composta principalmente de gordura, músculos, fáscia

profunda, gordura endoabdominal e peritônio parietal. O tecido subcutâneo sobre a maior parte da parede consiste em uma lâmina de tecido conectivo que contém uma quantidade variável de gordura (figura 6-A). Na obesidade mórbida a gordura tem muitos centímetros de espessura formando frequentemente uma ou mais pregas pendentes. Na parte inferior da parede, o tecido subcutâneo é composto de duas camadas: uma fáscia intermédia de revestimento (superficial) (fáscia de Camper) e uma camada membranácea (profunda) (fáscia de Scarpa) (figura 6-B) (MOORE; DALLEY, 2001).

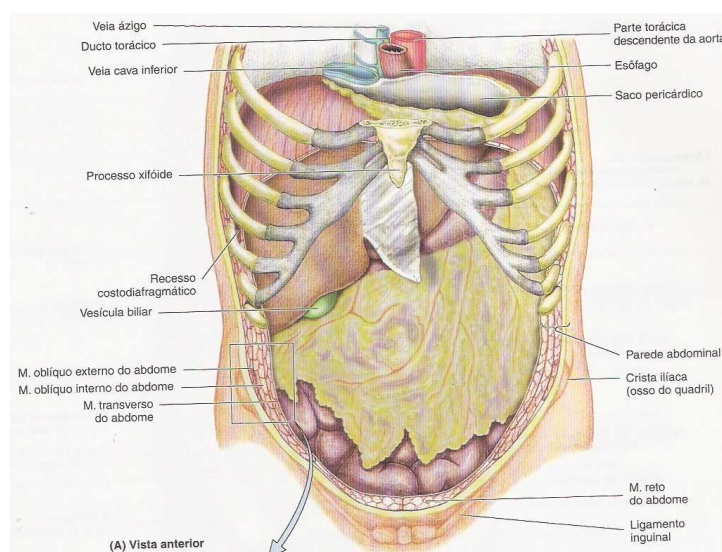


Figura 6 A - Camadas da parede abdominal ântero-lateral. As paredes abdominal e torácica anteriores foram retiradas. A maior parte do intestino esta coberta pelo omento maior, semelhante a um avental. Vista anterior. Fonte: (SCHÜNKE ET et al., 2006).

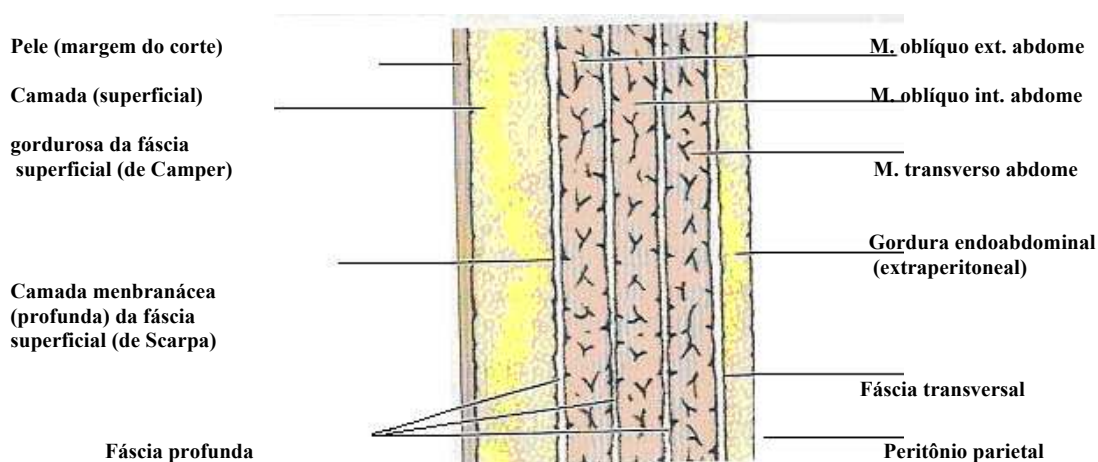


Figura 6 B - Ilustração das camadas da parede abdominal. Em corte longitudinal. Fonte: (SCHÜNKE ET et al., 2006).

2.9 ULTRASSOM: CONCEITOS E PRINCÍPIOS FÍSICOS DO ULTRASSOM

Podem-se definir os ultrassons como as vibrações sonoras que apresentam uma frequência superior a 16.000 Hz, embora para fins terapêuticos utilizem-se frequências na faixa de 500.000 Hz (0,5MHz) a 3.000.000 Hz (3MHz) (LOW; REED, 2001).

As ondas ultrassônicas possuem uma frequência que varia em torno de 20.000 e 20.000.000 ciclos por segundo (1 ciclo = 1 hertz), que se propaga como uma onda de pressão causando agitação das moléculas do meio em que estão se propagando, fazendo-as oscilarem (TER HAAR, 1987).

A fonte das ondas do ultrassom terapêutico é um equipamento que possui um cristal transdutor piezoelétrico, esses cristais são adequadamente cortados e ao serem submetidos a uma carga elétrica mudam de formato (TER HAAR, 2007). As ondas sonoras são produzidas em resposta a um impulso elétrico no cristal piezoelétrico, permitindo a conversão de energia elétrica em mecânica ou vibracional (CHAVEZ et al., 2009).

O som desloca-se sob a forma de ondas, que requerem um meio material para a sua transmissão, seja sólido, líquido ou gasoso (MARDEGAM; GUIRRO, 2005). O ultrassom é transmitido em forma de ondas de compressão, formando uma oscilação de partículas que se dá paralelamente à direção de propagação da onda, constituindo zonas de compressão e rarefação; ou em forma de ondas de cisalhamento (somente para meios sólidos) (BASSOLI, 2001).

A velocidade de propagação de uma onda é definida como a distância percorrida pela onda ultrassônica por unidade de tempo. No entanto, a velocidade de propagação da onda ultrassônica depende do tipo de onda considerada e das constantes elásticas do meio em que se propaga (LOW; REED, 2001). A velocidade de propagação das ondas sonoras aumenta com a densidade do meio sólido para o líquido e destes para o gasoso. Nos tecidos moles do corpo humano a velocidade de propagação da onda ultrassônica encontra-se em torno de 1.500 m/s (YOUNG, 1998).

Como citado anteriormente, a onda sonora ao atravessar o meio causa a agitação das partículas do mesmo que adquirem energia cinética. A energia fornecida pelas ondas do UST ao atravessar o meio é medida pela intensidade acústica (Watts/cm²). E pode ser definida como a energia que atravessa uma área em um intervalo de tempo (TER HARR, 1987).

A quantidade de energia que irá alcançar um local específico, por exemplo ossos, músculos, gordura e outros, depende de algumas características do ultrassom (frequência,

intensidade, amplitude, foco e uniformidade do feixe) e dos tecidos a qual a energia ultrassônica irá atravessar. Uma importante terminologia a respeito do ultrassom terapêutico e variações nas dosagens são apresentadas nas Tabelas 2 e 3, conforme Speed (2001).

Tabela 2- Terminologia comumente utilizada na terapia de ultrassom.

TERMOS	DEFINIÇÃO
Potência	Total de energia transmitida pelo aparelho de ultrassom (watts).
Impedância acústica do tecido	Produto entre a densidade do tecido e a velocidade com que o ultrassom o atravessa.
Atenuação	Queda progressiva de energia durante a passagem pelos tecidos.
Meio de propagação	Substância que previne a reflexão do ultrassom entre a interface tecido/ar. EX: gel, água.
Taxa do ciclo (liga/desliga)	Porcentagem de tempo que o ultrassom é disponibilizado ao tecido durante o ciclo liga/desliga (ex: ciclo pulsado ou ciclo contínuo)
Ondas estacionárias	Devido à reflexão nas interfaces, gera ondas fixas que causam um superaquecimento e efeitos adversos aos tecidos.
Intensidade	Como toda a energia suprida pelo aparelho de ultrassom é medida em watts (potência) e essa se espalha por toda a face do transdutor (que têm tamanhos diferentes), é comumente dada em w/cm^2 .

Fonte: SPEED et al. (2001).

Tabela 3- Algumas variáveis que podem afetar a dosagem do ultrassom para fonoforese.
VARIÁVEIS DA DOSAGEM DO ULTRASSOM PARA TRANSPORTE DE PRINCÍPIOS ATIVOS

Frequência do ultrassom terapêutico
Comprimento de onda
Intensidade
Amplitude
Área de radiação efetiva do cabeçote transdutor
Modo de terapia contínuo/pulsado
Meio de propagação da onda (meios de contato)
Composição dos tecidos
Movimento e angulação do transdutor
Frequência e duração da sessão de tratamento

Fonte: SPEED et al. (2001).

A intensidade do campo acústico emitido pelo transdutor é medida através de dosímetros de ultrassom em um meio de baixa atenuação geralmente em água. (BASSOLI, 2001). Para se garantir a fidelidade de resultados quando se trabalha com equipamentos de

ultrassom terapêutico, devem ser efetuadas calibrações periódicas, como foi observado por Byl (1995) em sua revisão de trabalhos científicos sobre fonoforese, que aponta trabalhos efetuados com metodologia científica inadequada e por isso resultando em conclusões pouco confiáveis.

Para descobrir se o aparelho de UST está calibrado é necessário avaliar o campo acústico gerado pelo transdutor. Para isto, muitas técnicas podem ser usadas; no Brasil a norma vigente para avaliação de campo acústico é a NBR-IEC 1689 (VALENTINI; MACIEL; PARIZOTTO, 2006).

Os parâmetros avaliados pela NBR 1689 estão divididos em dois parâmetros, primeiramente relacionados com o feixe de ultrassom no tempo (frequência de trabalho acústica, duração de pulso, período de repetição, fator de operação, potência de saída declarada, intensidade efetiva, intensidade máxima do feixe e forma de onda de modulação) e os parâmetros relacionados com o feixe no espaço (área de radiação efetiva-ERA, relação de não uniformidade do feixe e tipo de feixe) (VALENTINI; MACIEL; PARIZOTTO, 2006).

O campo acústico tem características de irregularidade, com duas regiões delimitadas. Na região próxima da face do transdutor, chamada de campo próximo ou zona de Fresnel, o feixe de ondas sonoras tem um padrão irregular e no campo distante ou zona de Fraunhofer, o feixe de ondas sonoras torna-se mais regular (figura 7) (LOW; REED, 2001).

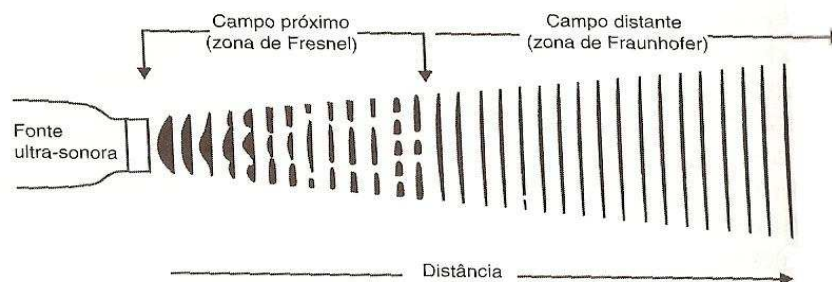


Figura 7 - Intensidade irregular de um feixe ultrassonor, o campo próximo e regular no campo distante
Fonte: LOW e REED, (2001).

Segundo LOW; REED (2001) o cálculo da extensão da zona de Fresnel de um transdutor circular estende-se até uma distancia r^2 / λ da face do transdutor, ou seja para um transdutor com diâmetro de 3 cm que trabalhe com 1 MHz o comprimento de onda (λ) é de 1,5mm, terá um campo próximo que se estende a 15 cm a partir do cabeçote ($r=1,5$ cm ou 15 mm, $r^2= 225$ e $\lambda = 1,5$ mm)

$$\underline{225} = 150 \text{ mm} = 15 \text{ cm}$$

1,5

Portanto dependente do diâmetro da área de radiação efetiva (ERA) e do comprimento de onda. O campo próximo é o utilizado para terapia, pois há mais energia na média espacial, na parte central do corte transversal do feixe, conforme mostram as figuras 8 e 9.

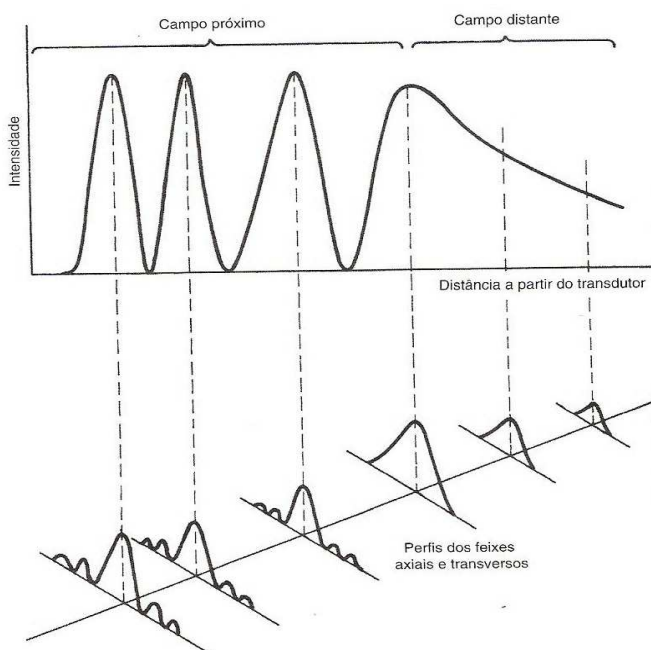


Figura 8 - Feixe axial e transverso-variação espacial.
Fonte: LOW; REED (2001).

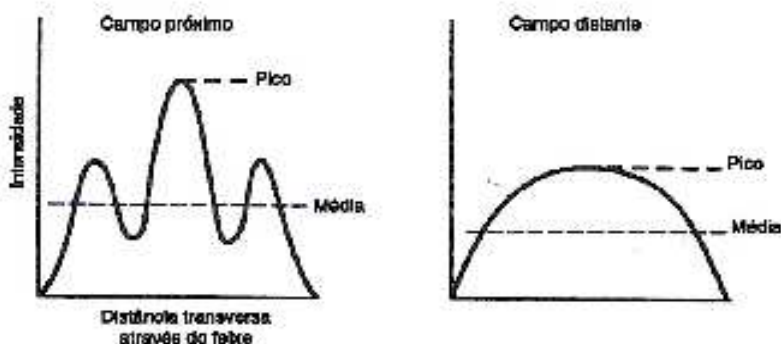


Figura 9 - Perfil transversal do feixe de UST: variação espacial
Fonte: LOW; REED (2001).

Podem ser produzidos três tipos de ondas: as longitudinais, as transversais e as estacionárias. A longitudinal é a onda mais comum, as partículas se deslocam paralelamente à direção do som, são transportadas em meios líquidos não viscosos.

As ondas transversais são formas comuns de propagação em meios sólidos. Na transversal ou de cisalhamento, as partículas se deslocam perpendicularmente à direção da onda sonora. Por fim as ondas estacionárias, que podem se formar se parte das ondas forem refletidas por uma interface entre meios com impedâncias acústicas diferentes, como, por exemplo, osso e músculo (LOW; REED, 2001; YOUNG, 1998).

Nos equipamentos de UST somente a onda longitudinal é utilizada, essa é um tipo de onda utilizada em meio líquido. Os tecidos moles do corpo humano podem ser considerados como um fluido. Os equipamentos disponíveis no mercado podem gerar pulsos com comprimento de onda variando de 1,5 a 0,5 mm no meio aquoso, nas frequências de 1 e 3 MHz, respectivamente (GUIRRO, 1999).

As ondas ultrassônicas podem se propagar de dois modos, o contínuo e o pulsado, a diferença entre estes dois modos está na interrupção da propagação de energia. No modo contínuo não ocorre esta interrupção, havendo, portanto um depósito ininterrupto de energia sobre os tecidos irradiados. No modo pulsado, no entanto, há interrupções frequentes na propagação de energia (BASSOLI, 2001).

Quando a energia sonora é passada de uma molécula a outra, parte dela se perde. As causas do decréscimo pertencem a duas categorias: aos fatores geométricos e aos mecanismos de absorção ou espalhamento da onda. No caso dos líquidos, a atenuação deve-se principalmente à viscosidade e aos mecanismos que envolvem absorção e relaxamento molecular, enquanto o espalhamento da energia se deve a presença das heterogeneidades, como partículas em suspensão, turbulência ou pequenas bolhas (DYSON, 1995).

A transmissão das vibrações ultrassônicas às células dos tecidos gera, dentro das mesmas e nos líquidos intersticiais, ondas de compressão e descompressão que atuam sobre as membranas celulares e produzem variação na densidade do meio (OKUNO; CALDAS; CHOW, 1986). O feixe ultrassônico pode atingir profundidades variadas, o que irá determinar a profundidade que se queira atingir são as diferentes frequências (0,75MHz, 1MHz, 1,5MHz e 3MHz). A frequência de 3 MHz tem indicação para a fonoforese e tecidos mais superficiais (GUIRRO, 1999), onde o maior índice de transmissão aponta para as frequências maiores.

2.10 EFEITOS FÍSICOS DO ULTRASSOM

Os efeitos do UST dividem-se em térmicos e não térmicos e prevalecerão de acordo com o regime de pulso aplicado, contínuo ou pulsado respectivamente (MACEDO, 2005). Na literatura sobre a ação do UST em meio biológico, atribuem-se os efeitos benéficos ou deletérios a quatro mecanismos físicos: o efeito térmico, e os não térmicos como a cavitação, correntes acústicas e ondas estacionárias (OKUNO; CALDAS; CHOW, 1986).

O efeito térmico do ultrassom decorre da absorção das ondas mecânicas pelo tecido e sua conversão gradual em calor, este predomina na aplicação de onda na forma contínua (OKUNO; CALDAS; CHOW, 1986). O aquecimento de estruturas constituídas por tecido fibroso, como as cápsulas articulares, ligamentos, tendões e tecido cicatricial, pode causar um aumento temporário na sua extensibilidade, e portanto uma diminuição na rigidez articular. A vantagem de utilizar o ultrassom para obter aumento da temperatura é a ocorrência de aquecimento preferencial do tecido colagenoso e a penetração efetiva dessa energia até estruturas profundamente localizadas (LOW; REED, 2001).

Os efeitos térmicos de UST estão ligados à absorção da radiação sonora com aumento da temperatura do meio. Na prática da fisioterapia o UST demonstrou ter efeitos térmicos severos em materiais que possuem maior coeficiente de absorção tais como os ossos, em comparação com o tecido muscular, que tem um menor coeficiente de absorção. O aumento na temperatura do meio após a exposição do UST a uma dada frequência varia com a intensidade e tempo de exposição. O coeficiente de absorção do meio aumenta diretamente com a frequência do UST, resultando em aumento da temperatura (LUBBERS; HEKKENBERG; BEZEMER, 2002).

No que refere-se aos efeitos atérmicos, a cavitação é o fenômeno em que, sob o efeito da micromassagem, os gases existentes nos tecidos podem se aglutinar em pequenas bolhas de ar que oscilam através do campo ultrassônico (YOUNG; DYSON, 1990), ou seja, é a formação de cavidades gasosas em um meio devido a exposição ao UST. A principal causa da cavitação é que o ultrassom induz à uma variação da pressão nos tecidos. Esse fenômeno envolve tanto o rápido crescimento e colapso de uma bolha de ar quanto um movimento oscilatório lento desta bolha de ar (CHÁVEZ, et al., 2009).

Caso a cavitação seja estável, a pressão da radiação produz uma alteração na permeabilidade da membrana celular, facilita o fluxo sanguíneo e o suprimento de oxigênio e nutrientes, aumentando o metabolismo celular. Estes efeitos poderiam explicar a resultante

aceleração do processo de reparo, em seguida à terapia por ultrassom (BAKER; ROBERTSON; DUCK, 2001).

O terceiro mecanismo físico de atuação do UST são as correntes acústicas, que referem-se ao movimento localizado unidirecional de um líquido num campo de ultrassom (YOUNG, 1998), como se fosse o resultado de algum tipo de cavitação, onde há vibração de uma bolha. Esses movimentos de líquido muito pequenos também ocorrem em torno das células, fibras de tecidos e outras interfaces. Tal efeito, chamado microcorrenteza, exerce sobrecarga viscosa sobre a membrana da célula e portanto pode aumentar a permeabilidade da membrana (LOW; REED, 2001; YOUNG, 1998). Isso pode alterar a taxa de difusão de íons, causando alterações terapêuticamente úteis, que incluem aumento na secreção pelos mastócitos, aumento na captação de cálcio e maior produção do fator de crescimento pelos macrófagos (YOUNG; DYSON, 1990).

Por derradeiro, as ondas estacionárias, que são efeitos deletérios do ultrassom, ocorrem como resultado da sobreposição das ondas refletidas sobre as ondas incidentes. O resultado é um conjunto de ondas fixas com picos de alta pressão, separados por zonas sem pressão. Esse padrão de pressão causa estagnação das células dos vasos sanguíneos nas zonas de pressão. O endotélio dos vasos sanguíneos expostos às ondas estacionárias pode também ser lesado levando à formação de trombos (LOW; REED, 2001). Existe também a possibilidade de aquecimento local acentuado, portanto é importante compreender que o cabeçote do transdutor deve ser movido continuamente durante o tratamento para evitar a possibilidade de formação de ondas estacionárias (YOUNG, 1998).

Recentemente o UST tem sido utilizado na área médica para provocar hidrolipoclasia, uma forma de degeneração dos adipócitos. Esta técnica provoca lipólise, seguido por lipoaspiração, e é usado durante os procedimentos cirúrgicos (lipoescultura). Nesses casos o ultrassom age apenas no tecido subcutâneo (tecido adiposo), com resultados no que diz respeito à gordura localizada (ROSSI; VERGNANINI, 2000).

Na fisioterapia, o UST tem sido utilizado no tratamento de diversas patologias e seus efeitos sobre os tecidos têm sido objeto de investigações. A fim de elucidar a sua influência em compostos orgânicos o estudo do ultrassom tem incluído condições traumáticas e inflamatórias agudas e subagudas, condições reumatóides e artríticas crônicas, tecido fibroso cicatricial excessivo, para o alívio da dor e também a associação com drogas com finalidades terapêuticas (YOUNG, 1998).

2.11 FONOFORESE

A fonoforese ou sonoforese, é um termo que descreve a habilidade do ultrassom em incrementar a penetração de agentes farmacologicamente ativos através da pele. Trata-se de uma alternativa eficiente de transporte de substâncias além da utilização medicamentosa via oral, ou injeções intradérmicas (CHÁVEZ et al., 2009).

Na fisioterapia, essa técnica vem sendo amplamente utilizada, associada a vários agentes anti-inflamatórios (ROSIM et al., 2005), mas levanta dúvidas quanto à confiabilidade de seus efeitos positivos, necessitando de novas investigações com a finalidade de estabelecer as condições ideais para sua utilização (POLACOW et al., 2005).

A aplicação de drogas através da pele oferece varias vantagens em relação a aplicação injetável, porém a aplicação tópica é uma forma de administração de fármacos limitada pela propriedade de barreira da pele (FANG et al., 2002), (figura 10 e 11).

A função de barreira da pele é especialmente atribuída à camada superficial da epiderme, o estrato córneo, que possui uma densa estrutura de células mortas achatadas ricas em queratina, denominadas corneócitos. Estas células estão rodeadas por uma mistura complexa de lipídios, ou seja, ceramidas, ácidos graxos livres, colesterol e colesterol sulfato envolvidos por uma bicamada lipídica, a qual confere alta impermeabilidade de membrana (SUHONEN; BOUWSTRA; URTTI, 1998; OGURA; PALIWAL; MITRAGOTRI, 2008).

Mitragotri e Kost (2000) monitoraram a permeabilidade da pele usando a condutividade elétrica da mesma. A condutividade da pele é um excelente indicador de sua permeabilidade. Isso ocorre porque a camada lipídica do estrato córneo, a qual oferece resistência elétrica para a pele, também retarda o transporte transdérmico de moléculas. O estudo usou macromoléculas de alto peso molecular como o manitol e a insulina, e ultrassom de baixa frequência (1MHz), primeiramente aplicou-se o ultrassom e em seguida medida a condutividade elétrica do local e então aplicou-se uma das drogas. Observou-se que o ultrassom aumentou em sessenta vezes a condutividade elétrica e o aumento da permeabilidade da pele por um período de cinco horas.

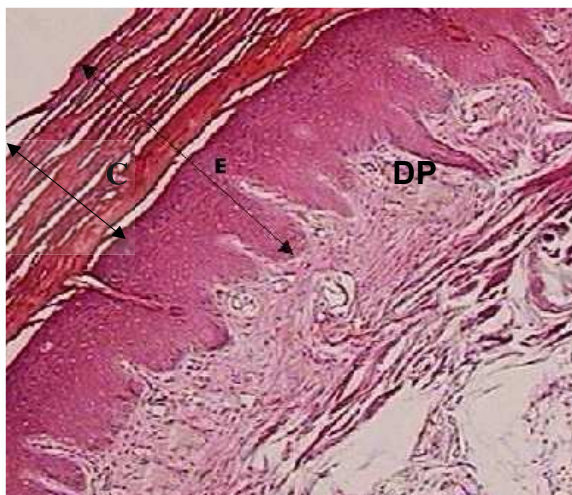


Figura 10 - Fotomicrografia de pele (tecido epitelial de revestimento pavimentoso estratificado queratinizado) em corte transversal corado com hematoxilina e eosina (HE). A seta maior (E) indica a espessura total da epiderme, tecido avascular, a seta menor (C) indica espessura parcial da epiderme, somente a camada córnea (células mortas queratinizadas), (DP) Derme papilar (tecido vascularizado, camada mais superficial da derme), Aumento: 40x. Figura adaptada de Rheingantz; Machado (2003).

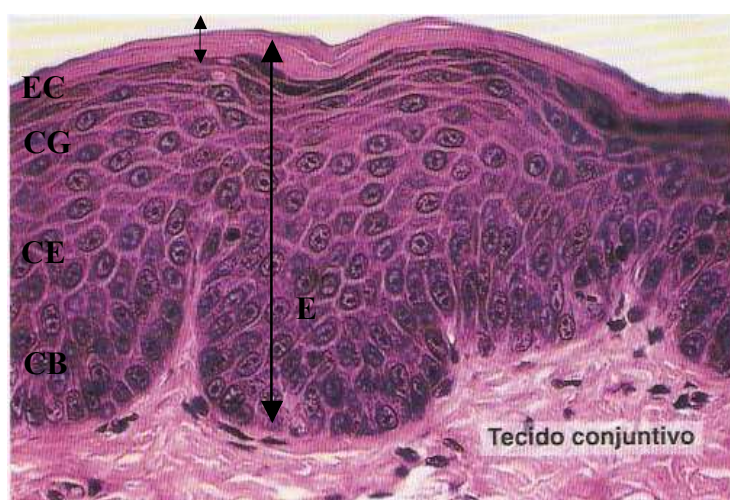


Figura 11³ - Fotomicrografia de corte de pele do abdome (pele fina), corado com com hematoxilina e eosina (HE). A seta maior (E) indica a epiderme com todas as suas camadas indicadas pelas siglas (CB) camada basal, (CE) camada espinhosa, (CG) camada granulosa e a seta menor o (EC) estrato córneo. Aumento: médio. Fonte: Figura adaptada de Junqueira e Carneiro (2008).

O caminho que predomina na difusão tópica para uma molécula atravessar o estrato córneo parece ser o intercelular (entre as células) (figura 12-c). As outras camadas neste caminho de difusão são: as demais camadas da epiderme (epiderme viável ou intacta), a derme e os tecidos subcutâneos. Existem também vários apêndices associados a pele como folículos pilosos, glândulas apócrinas e unhas. Em um contexto geral, a pele possui funções que podem ser classificadas como protetora, regulação da homeostase e sensorial (CHÁVEZ et al., 2009).

³ Em comparação com a figura 4, a epiderme é menos espessa (HE), Aumento médio.

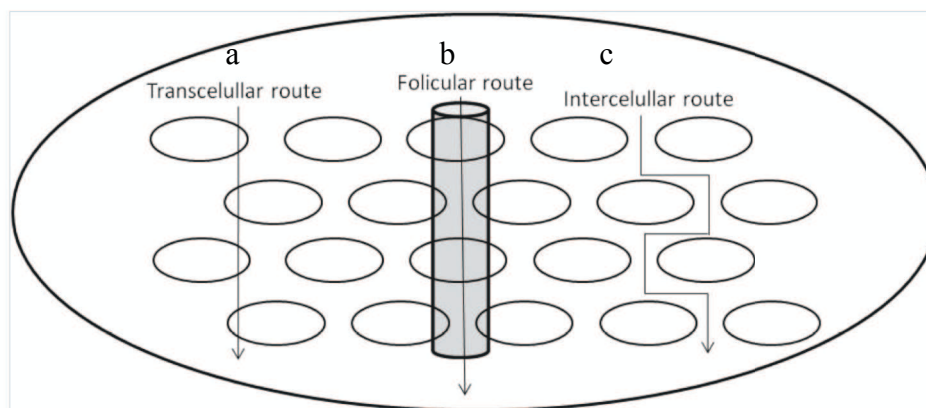


Figura 12 - Processo de absorção percutânea e passagem transdérmica a) rota transcelular (passagem através das células); (b) Rota folicular (passagem pelos folículos pilosebáceos); (c) Rota entre as células.
Fonte: CHAVEZ *et al.* (2009).

Drogas de alto peso molecular são de difícil ou até impossível penetração com os processos químicos convencionais (MACHET; BOUCAUD, 2002).

No entanto, tanto o efeito térmico como o mecânico produzidos pelo UST e as alterações químicas dos tecidos biológicos expostos ao mesmo, podem facilitar a difusão dos princípios ativos presentes nos medicamentos de uso tópico, embora não haja consenso entre os autores (POLACOW *et al.*, 2005).

Byl (1995) em sua revisão sobre fonoforese ressalta que 75% dos estudos avaliados comprovaram efeitos positivos da fonoforese e que os resultados considerados negativos se deram devido a erros metodológicos dos estudos avaliados nessa revisão.

Nos últimos anos, considerável atenção têm sido dada à investigação da fonoforese, os seus mecanismos não foram claramente compreendidos, refletindo o fato de possíveis fenômenos ocorrerem na pele após a exposição ao UST. Estes fenômenos incluem os efeitos da cavitação, efeitos térmicos, indução do transporte convectivo e efeitos mecânicos (CHÁVEZ *et al.*, 2009).

O UST é responsável por aumentar a penetração de drogas em razão das alterações térmicas, químicas, e ou mecânicas no estrato córneo (NAIK; KALIA; GUY, 2000). Segundo Mitragotri e Kost (2000), a hipótese que baseia o mecanismo de aumento da condutividade através do ultrassom, é que sua aplicação produz a cavitação.

Especificamente a cavitação, que é a formação de pequenas bolhas responsáveis por induzir uma abertura entre os queratinócitos devido à exposição ao ultrassom, pode elevar transitoriamente a temperatura. As oscilações das pequenas bolhas causam perturbação na camada lipídica do estrato córneo que aumentam a permeabilidade dos tecidos, esse efeito

pode provocar o aumento do tamanho dos poros e abertura de canais pela ação mecânica do UST. A alteração reversível dos poros de passagem da pele amplia a superfície de absorção efetiva da pele, criando mais poros e ou diminuindo a tortuosidade dos mesmos (TING; VEST; SONTHEIMER, 2004; MITRAGOTRI, 2005; MACHET; BOUCAUD, 2002).

Outra hipótese é a de que os folículos pilosos são mais suscetíveis à ação do UST para aumentar a penetração de princípios ativos para dentro da célula, o que sugere uma via de transporte facilitado transfolicular (MONTI et al., 2001), (figura 6-b).

Segundo Byl (1995) o aquecimento produzido pelo UST aumenta a energia cinética das moléculas dos medicamentos e da membrana celular, dilatando os óstios dos folículos pilosebáceos e os orifícios adenaxiais das glândulas sudoríparas, além de aumentar a circulação local, facilitando a difusão das moléculas através do estrato córneo até a rede capilar da derme.

Hippius et al. (1998) acreditam ser o efeito térmico o mecanismo responsável pelo sucesso da fonoforese. Justificam-se argumentando que o aquecimento gerado pelo UST incrementa a energia cinética das moléculas dos princípios ativos dos fármacos e da membrana celular, aumentando o tamanho das entradas (folículos pilosebáceos e orifícios adenaxiais das glândulas sudoríparas).

No que refere-se ao transporte convectivo, o movimento dos fluídos em tecidos biológicos, quando expostos ao UST é gerado devido à interferência das ondas sonoras incidentes e refletidas na difusão celular e às oscilações das bolhas formadas pela cavitação. Esta geração de indução de transporte convectivo pode afetar o transporte transdérmico, alterando a permeabilidade da pele exposta ao campo acústico, especialmente nos folículos pilosebáceos (CHÁVEZ et al., 2009).

O efeito mecânico do ultrassom terapêutico pode causar alteração na densidade do meio, esta mudança cíclica na densidade do meio gera tensões que podem desordenar a bicamada lipídica da pele resultando no aumento da permeabilidade da bicamada. Este aumento, no entanto, não é significativo e, conseqüentemente, os efeitos mecânicos não desempenham um papel importante na fonoforese terapêutica. Assim a cavitação induzida pode ser a causa mais importante para valorização do transporte transdérmico (TEZEL; MITRAGOTRI, 2003).

Um consenso entre os pesquisadores tem indicado a cavitação como o mecanismo mais importante no entendimento da fonoforese (MITRAGOTRI; KOST, 2004; MITRAGOTRI, 2005; MACHET; BOUCAUD, 2002).

Outra forma física de aumentar a penetração de drogas através da pele é a Iontoforese, definida como o processo de transferência de drogas ionizadas através da pele pelo uso de uma diferença de potencial elétrico (correntes elétricas), e o seu transporte depende da força eletromotiva que repele íons de um eletrodo de mesma carga e os faz migrar para um eletrodo de carga oposta. Envolve a aplicação de pequena corrente elétrica para realizar uma transferência transdermal de drogas. (FERREIRA et al., 2007). Ainda no contexto das correntes elétricas, há a Eletrolipólise caracterizada pela aplicação de agulhas no subcuâneo associada a microcorrente específica de baixa frequência que acredita-se atuar diretamente no nível dos adipócitos e dos lipídeos acumulados, levando à sua destruição e favorecendo posterior eliminação (SCORZA et al., 2008).

Tanto a iontoforese quanto a fonoforese são tecnologias que assistem a penetração de drogas através da pele, com mecanismos de ação muito semelhantes (NAIK; KALIA; GUY, 2000). A diferença básica reside no fato de que o princípio ativo a ser usado na terapia com a iontoforese deve ser uma droga ionizada e antes de usá-la deve-se realizar um teste prévio para saber qual a carga iônica da droga (FERREIRA et al., 2007).

Por outro lado, Mitragotri et al. (1997), discorrendo sobre a variação do aumento do transporte transdérmico de vários medicamentos, aponta que em alguns trabalhos realizados, a fonoforese não ocorreu, levando à dúvida em relação a tal conduta. Porém estudos recentes, com testes *in-vivo* aplicando o UST para o transporte transdérmico de antiinflamatório demonstraram a absorção deste por meio da verificação de maior concentração do medicamento presente no líquido sinovial quando comparado a amostras de plasma e tecido adiposo da região investigada (CAGNIE et al., 2003). Embora os mecanismos pelos quais a fonoforese funciona ainda não estejam muito claros, o fato é que o UST é um provável acentuador de princípios ativos, devido aos seus efeitos térmicos e/ou mecânicos, facilitando a permeação cutânea de produtos farmacológicos e cosmeceuticos, agindo como promotor na difusão assistida em quantidade suficiente para atingir níveis terapêuticos (SOUZA DE JESUS; FERREIRA; MENDONÇA, 2006).

Existem várias vantagens na utilização dessa modalidade de tratamento, dentre elas, a ação localizada da droga, com conseqüente ausência de efeitos colaterais decorrente de ações sistêmicas (MITRAGOTRI, 2005). Outra vantagem desta forma de tratamento é a somatória dos efeitos inerentes ao ultrassom associados aos efeitos da droga (BYL, 1995). As vantagens e desvantagens do uso da fonoforese como uma técnica física para aumentar a permeação de substâncias estão listadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Vantagens e desvantagens do uso da fonoforese como uma técnica física para aumentar a permeação de substâncias

VANTAGENS	DESvantagens
Aumenta a penetração da droga (droga selecionada) ao longo do transporte passivo	Para ser administrada requer um consumo de tempo
Permite um controle rigoroso das taxas de penetração transdérmica	Alguns relatos de pequeno formigamento, irritação, ardor (estes efeitos podem ser muitas vezes minimizados ou eliminados com o devido ajuste UST)
Permite cessar a entrega da droga através do desligamento do UST	Estrato córneo deve estar intacto para a eficaz penetração do medicamento
Pele permanece intacta, portanto, baixo risco de promoção de infecção	
Menor sensação de ansiedade ou dor (características estas provocadas pela técnica injetável)	
Em muitos casos, maior satisfação do paciente	
Não imunologicamente sensível	
Menos risco de absorção sistêmica do que a forma injetável ou oral	

Fonte: CHÁVEZ et al. (2009).

Segundo Mitragotri et al. (2000) a dose limite para o transporte sonoforético pode ser dependente do coeficiente de difusão passiva, variando linearmente com a intensidade do ultrassom e tempo de exposição à radiação acústica.

A profundidade que se pode fazer com que a droga penetre é uma questão incerta, assim que a droga passa pela epiderme é provável que seja dispersada na circulação em uma extensão que depende da vascularidade do tecido e da facilidade com que as moléculas da droga entram nos vasos sanguíneos (LOW e REED, 2001). O que ocorre é que o UST de 1,5 e 3MHz parecem ser mais efetivos para causar absorção de princípios ativos.

É interessante notar que Campos et al. (2004) e Polacow et al. (2005) utilizaram parâmetros semelhantes para o ultrassom contínuo (3 MHz, 0,2 W/cm² e 0,1W/cm²) respectivamente, sendo 1 min/cm² com intensidade muito baixa para produzir aumento de temperatura, produzindo basicamente efeito mecânico nos tecidos.

A atenuação da onda acústica é inversamente proporcional à frequência, isto é, quanto maior a frequência menor a penetração do ultrassom nos tecidos (MACHET; BOUCAUD, 2002). Se os efeitos terapêuticos devem ocorrer na derme e epiderme, espera-se que frequências mais altas (1 e 3 MHz) realizem um sistema de emissão mais efetivo, já que a energia do UST é absorvida nos tecidos superficiais (LOW; REED, 2001), como é o caso do tecido adiposo subcutâneo, que é um tecido superficial.

2.12 PRINCÍPIO ATIVO: CAFEÍNA

A cafeína é um alcalóide (Figura 13), um composto contendo nitrogênio, que apresenta propriedades básicas. Ela pertence a uma classe de compostos de ocorrência natural chamada metilxantina. Possivelmente, as xantinas são os estimulantes mais antigos conhecidos sendo que, neste contexto, a cafeína é um dos mais potentes (BRENELLI, 2003).

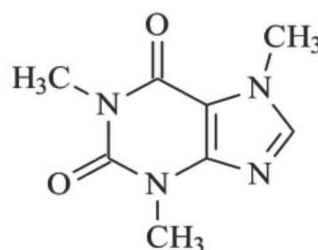


Figura 13 - Fórmula estrutural da cafeína.
Fonte: (BRENELLI, 2003).

As metilxantinas são alcalóides estreitamente relacionados que se diferenciam pela potência de suas ações farmacológicas sobre o sistema nervoso central (SNC). Nesse sentido a cafeína é uma substância capaz de excitar ou restaurar as funções cerebrais e bulbares, sem contudo ser considerada uma droga terapêutica, sendo comumente utilizada e livremente comercializada, por apresentar uma baixa capacidade de indução à dependência (ALTIMARI, 2000).

Os principais efeitos fisiológicos da atuação da cafeína no organismo humano são o efeito estimulante, o efeito diurético e a dependência química. Entre outros efeitos, causa o aumento da taxa metabólica, o relaxamento da musculatura lisa dos brônquios, do trato biliar, do trato gastrointestinal e de partes do sistema vascular. A ingestão de cafeína em excesso pode causar vários sintomas desagradáveis incluindo a irritabilidade, dores de cabeça, insônia, diarreia, palpitações do coração. A dose letal para uma pessoa adulta pesando 70 kg é cerca de 10 g o que é equivalente a se tomar 100 xícaras de café ou 200 latas de Coca-Cola ou ingerir 50 kg de chocolate (BRENELLI, 2003).

Segundo Caruso (2006), estudos recentes reportam o sucesso do uso combinado da efedrina com a cafeína (via oral) para perda de peso, e considerado uma combinação eficiente para tratamento da obesidade.

Estudos clínicos mostram aumento dos níveis de ácidos graxos livres no plasma sanguíneo após a aplicação tópica de cosméticos contendo cafeína. Estes compostos

demonstraram ter efeito lipolítico. A concentração plasmática de cafeína, após 1 mês de uso tópico de 1g diariamente em um gel hidroalcoólico, é equivalente a 25% da quantidade que recebemos depois de beber uma xícara de café (HEXSEL; ORLANDI; DO PRADO, 2005).

Acredita-se que a ação estimulante da cafeína no SNC envolve a estimulação do sistema nervoso simpático, aumentando a liberação e, conseqüentemente, a ação das catecolaminas, particularmente a epinefrina, mas essa hipótese ainda não está totalmente confirmada (ALTIMARI, 2000).

Metilxantinas são classificados como beta agonista (imitam a ação dos neurotransmissores que estimulam os beta receptores) e são a principal categoria, já documentada, de ação no tratamento da celulite. O princípio das metilxantinas são retirados de extratos botânicos e os extratos ativos obtidos são a cafeína, teobromina e teoflina. A mais usada e segura metilxantina é a cafeína, a qual é normalmente usada na concentração de 1 a 2%. Penetra facilmente na pele, facilitando a absorção e ação. Cafeína atua diretamente na célula adiposa, promovendo a lipólise e inibindo a fosfodiesterase e aumentando o AMP cíclico. Esta reação ativa a enzima sensível à hormônio (HSL) e transformam triglicérides em ácidos graxos livres e glicerol. Cafeína também pode estimular a microcirculação cutânea (HEXSEL; ORLANDI; DO PRADO, 2005).

A cafeína é usada em formulações cosméticas tópicas para o tratamento da celulite e gordura local, em concentrações de 1 a 2%, embora existam no mercado formulações com 5% (RAMALHO; CURVELO, 2006).

Estudos experimentais indicaram que tanto o tiratricol como a cafeína atuam por inibição da enzima fosfodiesterase, enzima que induz a degradação de AMPc transformando-o em 5'AMP inativo, acarretando na manutenção da taxa de AMPc (CHORILLI et al., 2004).

Velasco et al. (2008) analisou os efeitos da cafeína e Siloxanetriol Alginato cafeína (SAC) no tecido adiposo com avaliação histológica. Desenvolveu formulações (emulsão e gel) com a cafeína, a cafeína benzoato de sódio ou SAC e foram aplicados topicamente por 21 dias em ratos Wistar fêmea. Concluíram que a emulsão com Siloxanetriol Alginato cafeína apresentaram melhores resultados na redução do número de adipocitos (32%) e diminuição de diâmetro (16%), sendo considerada mais indicada para promover a ação lipolítica no tecido adiposo, agindo como um complemento nos tratamentos anticelulíticos. Já o benzoato de sódio quando foi adicionado para os preparativos, inibiu a eficiência da cafeína. Esse estudo considerou o gel não adequado para ser incorporado com cafeína e Siloxanetriol Alginato cafeína, porque, segundo o estudo, este veículo não promoveu a redução do diâmetro das células de gordura, e uma diminuição do número (26%) ocorreu somente após o tratamento do

gel contendo siloxanetriol Alginato cafeína.

Segundo Altabas (2009) as drogas já testadas que atuam como inibidores da fosfodiesterase, destacam-se as metilxantinas (teobromina, teofilina, aminofilina e de interesse especial a cafeína) que segundo o autor possuem diversos efeitos, mas principalmente resultados insuficientes. A pele é pouco permeável à essas drogas e de acordo com o mesmo, pode ser considerada a utilização de métodos auxiliares, tais como iontoforese, fonoforese a fim de aumentar a concentração de fármacos localmente.

Crems anticelulíticos, de uso tópico, não possuem muitas pesquisas científicas documentadas. No entanto, recentes investigações com cremes a base de ervas naturais contendo cafeína, extrato da semente de pimenta preta, casca de laranja doce, extrato de raiz de gengibre, extrato de chá verde, extrato da casca de cinnamon e resina de Capsicum, provaram ter evidências de melhoras clínicas na paniculite edemato fibrosa (celulite) (WOLLINA et al., 2008; AVRAM, 2004).

Bolzinger *et al.* (2008) estudou o transporte de cafeína para a hipoderme através de microemulsão e comparou com o transporte através de gel aquoso e emulsão. A microemulsão permitiu a entrega de uma grande fração da cafeína para a hipoderme: 23% da cafeína alcançou a hipoderme após 24h de difusão, uma fração bem maior do que quando se utilizou a emulsão e a dosagem com gel aquoso.

O uso de cremes tópicos com a tentativa de intensificar a redução da gordura local tem sido apresentado em estudos, porém não existe evidências de que os efeitos durem por um período de tempo relativamente longo. A combinação de tecnologias avançadas servem para contribuir ainda mais para a melhora clínica, assim como a longevidade dos resultados obtidos (ALSTER; TANZI, 2005).

A eficácia do uso tópico da cafeína em algumas formulações comerciais foi analisada por Dias *et al.* (1999). O estudo avaliou a permeação cutânea da cafeína em membranas sintéticas (celulose acetato impregnada com isopropil miristato e borracha de silicone embebida em isopropil miristato) e em pele humana *in vitro*. Foram avaliados os produtos Soma lotion (Natura, Brasil), Elancyl gel (Vichy, França) e Cellactia lotion (Pierre Fabre, França). Segundo os dados da pesquisa, o produto Elancyl apresentou maior coeficiente de penetração que os outros dois. Na avaliação da perfusão da cafeína 3% (Boehringer Ingelheim) nas membranas sintéticas e na pele, não permitindo definir com exatidão a rota de penetração da cafeína no tecido humano, não foi possível definir se a substância passa por poros de passagem. E nas membranas sintéticas não houve uma indicação exata de como a

substância irá se comportar na pele, além do fato que as membranas sintéticas apresentarem um coeficiente de difusão maior que o da pele humana *in vivo*.

A cafeína, com a finalidade de reduzir a gordura subcutânea, também é utilizada na forma injetável (PARK, et al., 2008). As drogas ou substâncias farmacológicas injetáveis mais freqüentemente usadas para o contorno corporal são: fosfatidilcolina, isoproterenol, aminofilina, a cafeína, L-carnitina, buflomedil, calcitonina, deoxicolato sódio e outros (ROTUNDA, et al., 2004; ROTUNDA; ABLON; KOLODNEY, 2005; ROTUNDA; KOLODNEY, 2006).

Browm (2006) em seu artigo de revisão sobre a técnica Mesoterapia, apresenta a posição do American Society of Plastic Surgeons' Device and Technique Assessment Committee (Comitê de Conselho e Técnica da Sociedade Americana de Cirurgia Plástica), o qual aconselha os pacientes à esperar até que a segurança e a efetividade desse procedimento seja confirmada. O artigo cita que o problema com a mesoterapia reside na sua técnica, pois esta seria envolta em mistérios (dosagens, concentrações dos ativos, etc). E ainda afirma que a mesoterapia é uma técnica sem subsídios científicos, porque a proposta de seus efeitos terapêuticos estariam baseados em hipótese ainda não confirmada por estudos científicos, baseado somente em observações empíricas.

Pires de Campos (2004), estudou a cafeína gel associado ao ultrassom terapêutico sob a pele de suínos *in vivo*, com objetivos de avaliar os possíveis efeitos de lipólise da técnica, além de evitar os efeitos indesejáveis da aplicação injetável, através da aplicação tópica da cafeína a 5%. De acordo com o estudo, a técnica revelou-se eficiente, com resultados significantes no estudo histológico, onde foram observadas alterações morfológicas do tecido adiposo e aumento da resposta lipolítica em adipócitos isolados.

2.13 ELABORAÇÃO DO GEL HIDROALCOÓLICO E DO GEL COM CAFEÍNA

Com base na prática de manipulação farmacotécnica a preparação do gel com o principio ativo cafeína deve ser realizada através de procedimento farmacotécnico, em que obterá o produto manipulado. Tal procedimento consiste na avaliação, manipulação, aditivção do produto industrializado cafeína, conservação e transporte (FERREIRA, 2000).

Como já visto, a fonoforese, é o uso do ultrassom para dirigir moléculas de fármacos através da pele, envolvendo a aplicação de formulações tópicas sobre a pele na área a ser tratada, associando-se à energia ultra-sônica (MARDEGAM; GUIRRO, 2005).

Para que um princípio ativo possa ser utilizado na fonoforese é necessário um excipiente, substância ou composto inerte (sem atividade farmacológica) utilizado para diluição ou transporte do princípio ativo (FERREIRA, 2000).

Mardegam e Guirro (2005), em um artigo de revisão abordaram vários tipos de agentes de acoplamento necessários nas aplicações do UST, em virtude deste não se propagar no ar. Alguns meios de acoplamento podem interferir na eficácia da terapia ultrassônica e na fonoforese, por apresentarem baixa transmissividade. Segundo a referência avaliada nesse estudo os géis são os melhores meios para serem empregados com o UST.

Quando se avalia a eficácia de preparações tópicas, existem variáveis que devem ser consideradas, uma vez que influenciam a biodisponibilidade do ingrediente ativo no local de ação.

A transposição do estrato córneo, que representa a principal barreira para a penetração dos ingredientes cosméticos, é essencial para que o ingrediente cosmético ativo exerça a sua ação nas camadas mais internas da pele (GUIRRO; GUIRRO, 2002). No sentido de ultrapassar o estrato córneo que constitui a principal barreira à penetração da cafeína e, atingir o tecido subcutâneo, desenvolvem-se formulações cosméticas tópicas, constituídas por substâncias que promovam a penetração cutânea como a incorporação em lipossomas (MULLER et al., 2007).

Outra estratégia atualmente utilizada para aumentar a penetração cutânea de substâncias como a cafeína é a fonoforese, já descrita anteriormente nesta dissertação, a qual pode acelerar e acentuar significativamente a penetração da cafeína, originando uma redução significativa da espessura da hipoderme, relacionada com uma diminuição do número de adipócitos presentes na região (RAMALHO; CURVELO, 2006).

De maneira geral a composição de uma fórmula é descrita conforme o modelo: princípio ativo (responsável pela ação farmacológica), coadjuvantes técnicos ou adjuvantes farmacotécnicos (substância em geral inerte, com função de estabilizar a fórmula em nível químico, físico ou microbiológico) e veículo ou excipiente (líquido, sólido ou semi-sólido no qual são misturados os princípios ativos) (AIACHE; AIACHE; RENOUX, 1998).

No caso específico do presente estudo, o excipiente eleito para incorporar a cafeína é o gel. O gel consiste na dispersão de um sólido (resina, polímero, derivados de celulose, entre

outros) num líquido (água ou álcool/água) formando um excipiente transparente ou translúcido (FERREIRA, 2000).

Os polímeros de carboxivinil e derivados, (Carbopóis® - carbômeros), são agentes gelificantes mais comumente utilizados. O Carbopol 943® e Carbopol 940® são resinas de carbopol bastante utilizadas para produzir géis de boa viscosidade, o Carbopol 940® é o mais indicado para produzir géis cristalinos, brilhantes aquosos ou hidroalcoólicos e de maior efeito espessante (FERREIRA, 2000).

A resina do carbopol, quando dispersa em água, umecta e forma uma dispersão aquosa com valor de pH entre 2,8 a 3,2. Neste estado pré-dissolvido a molécula do carbopol está extremamente enrolada com a capacidade espessante limitada. Para obter o espessamento ideal é necessário a neutralização com hidróxido de sódio (base inorgânica) ou com trietanolamina (amina de baixo peso molecular). Ao acrescentar trietanolamina ou hidróxido de sódio o “carbopol” estica, devido a neutralização dos grupos carboxilas presentes no polímero (FERREIRA, 2000).

A quantidade de base a ser acrescentada em um gel de carbopol, para trietanolamina é a mesma quantidade do carbopol e para o hidróxido de sódio é a terça parte da quantidade de carbopol adicionada (AIACHE; AIACHE; RENOUX, 1998). O máximo da viscosidade e transparência no gel de carbopol é conseguido com pH 7 (neutro), mas aceitável viscosidade e transparência começam no pH 4,5 a 5 (ácido) e se estende ao pH 11 (básico) (BRASIL/ ANVISA, 2007).

Segundo Ferreira, (2000) para a aditivação de princípios ativos em gel o procedimento está representado no quadro 1 a seguir:

PROCEDIMENTOS PARA ADITIVAÇÃO DE PRINCÍPIOS ATIVOS EM GEL

a-Pesar ou medir os princípios ativos da fórmula;

b-Se o ativo for sólido, pré-solubilizá-lo ou micronizá-lo com um adjuvante líquido adequado;

c-Pesar o gel base adequado à formulação, levando-se em conta as características físico-químicas dos ativos e possíveis incompatibilidade com o gel, descontando-se o peso dos ativos e possíveis adjuvantes;

d-Incorporar o princípio ativo líquido no gel ou o gel no princípio ativo solubilizado aos poucos homogeneizando;

e-Embalar;

f-Rotular.

Quadro 1 - Procedimentos para aditivação de princípios ativos em gel.

Fonte: (FERREIRA 2000).

Sainio, Rantanem e Kanerva, (2000) analisaram 32 produtos, com o objetivo de

investigar os ingredientes dos cremes para celulite, a frequência da sua utilização e se os ingredientes possuíam relatos de causa de alergias. A cafeína estava presente em 14 desses produtos, foi o aditivo ou ingrediente ativo mais comumente utilizado nestes produtos. O estudo conclui que, apesar do grande número de substâncias utilizadas em cremes anti-celulíticos liporedutores, sua segurança é aceitável para a maioria dos usuários. Esse estudo cita outros trabalhos da literatura que relatam o uso de ingredientes botânicos com potencial de sensibilizar a pele utilizados em alguns produtos, exemplos desse ingredientes são a Arnica Montana, com mais de 100 casos, e a Hera comum ou Hera helix, com mais de 65 casos de dermatite de contato relatados na literatura científica.

Pires de Campos, (2004) em seu estudo in vivo com pele de suínos, utilizou o principio ativo cafeína associado ao UST de 3MHz. Onde o gel para o grupo controle foi preparado com o espessante derivado da celulose 1% Carpobol 940®, 10% de Propilenoglicol, 0,1M de Acetato de Sódio Triidratado, 25% de Álcool etílico extra neutro e qsp (quantidade suficiente para) para pH 7.0 de Trietanolamina. O principio ativo cafeína ou cafeína anidra (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA) foi pré-solubilizado com 0,1M, pH 7.1 de Acetato de Sódio, 25% de Álcool etílico extra neutro e 10% de Propilenoglicol. A solução revelou um pH entre 7.0 e 7.5 e por fim foi incorporada ao gel de mesma composição citada no inicio do parágrafo.

Esta composição foi patenteada e atualmente é comercializada pela Fisio Line Cosméticos.

CAPÍTULO 3

MATERIAL E MÉTODOS

O tipo da pesquisa é de caráter experimental intervencionista do tipo ensaio clínico controlado e randomizado. Para que este trabalho pudesse ser realizado obteve-se a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Centro-Oeste (COMEP-UNICENTRO) sob o registro n.º 156/2009 (Anexo B) e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) por todas as voluntárias (Anexo A).

3.1 EQUIPAMENTOS

A Fonoforese foi aplicada por intermédio dos equipamentos de ultrassom: o equipamento modelo Sonacel Dual- 1 e 3 MHz-S.1015, nº de série: 0903001 e equipamento modelo Sonacel Expert- 1 MHz-S 1060, nº de série: 0902008 nº ANVISA 10410300010, certificados pelas Normas Técnicas NBR IEC 60601-1 Classe I, com frequência de modulação contínua e pulsada até 100Hz e intensidades máximas de 2W/cm² em ambos os equipamentos, disponibilizados pelo Laboratório de Eletrotermofototerapia da Faculdade Guairacá.

A aferição das medidas antropométricas de peso e altura foi feita com balança mecânica da marca Welmy, patrimônio da Faculdade Guairacá.

Os procedimentos laboratoriais ocorreram em Laboratório particular e as imagens médicas por ultrassom também foram obtidas em clínica médica particular.

3.2 ESCOLHA DOS PACIENTES A SEREM TESTADOS

Para desenvolvimento da pesquisa foram selecionadas inicialmente 68 voluntárias da cidade de Guarapuava-Pr com queixa de gordura localizada na região do abdome e com espessura de tecido adiposo acima de 2cm (verificadas pela ultrassonografia), com taxas de

colesterol dentro dos limites normais. Essas pacientes possuem idade entre 18 anos e 52 anos. Foram excluídas pacientes que apresentaram um ou mais dos fatores: fumante, reação alérgica a Cafeína gel (Fisio Line), em tratamento fisioterapêutico de natureza estética, com uma rotina de atividades físicas regulares de no mínimo de 3 vezes por semana, portadoras de marca-passo, paciente apresentando transtornos graves de ritmo ou da condução cardíaca, epiléticas, gestantes, com trombose venosa profunda, com alterações cutâneas no local a tratar (feridas, inflamações, eczemas), pacientes com tumoração de natureza maligna; pacientes em tratamento com corticóides e progesterona prolongado, que estivessem em programa de dieta alimentar, com mioma uterino e paciente em tratamento médico em que este tipo de aplicação seja contra indicado.

Todas as potenciais pacientes foram devidamente instruídas sobre a natureza e finalidade da investigação, como também alertadas sobre os riscos potenciais para a sua saúde e informadas sobre a liberdade para sair a qualquer momento do estudo. Após o questionário, foi efetuado o recrutamento das pacientes, por meio da coleta de dados e avaliação clínica.

A amostra selecionada foi constituída, inicialmente, por 68 pacientes. Contudo, durante o estudo houve a perda do acompanhamento de 14 pessoas, por motivos diversos, tais como: abandono do tratamento, não adesão efetiva às cinco sessões semanais ou falta às avaliações finais. Efetivamente, ao final do estudo, restaram 54 pacientes.

3.3 PREPARAÇÃO DO GEL COM A CAFEÍNA

A base para a composição do gel, no qual foi incorporada a cafeína anidra, foi baseado nas formulações de Pires de Campos (2004), previamente testada. Foi utilizado um gel com o princípio ativo Cafeína anidra, numa concentração aproximada de 5%.

O gel com o princípio ativo cafeína anidra foi produzido e doado ao estudo pela Fisio Line Cosméticos Ltda.

A quantidade de gel utilizada em cada aplicação foi de 21 gramas, baseando-se nos estudos de Pires de Campos (2004). As porções diárias de gel foram fracionadas em farmácia de manipulação particular, em potes plásticos desinfetados. Para pesagem do gel utilizou-se balança calibrada da marca Bel, número de série 803826.

3.4 CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO

O aparelho de ultrassom modelo Sonacel Dual- 1 e 3 MHz-S.1015, nº de série: 0903001 foi encaminhado para indústria BIOSET (Rio Claro- São Paulo) e aferido através de um dosímetro de precisão (Ultra Sonic Power Meter®, modelo UPM-DT-1) para certificar a potência de saída do transdutor. Lembrando que o desvio máximo é de 20%, valor tolerável segundo a norma NBR 60601-2-5, e o equipamento encontrou-se dentro das normas segundo laudo da BIOSET Indústria de Tecnologia Eletrônica Ltda, e responsável técnico Paulo Henrique Silva Pelicioni (Anexo C). O equipamento Sonacel Expert- 1 MHz-S 1060 não foi aferido, pois foi utilizado desligado.

3.5 POPULAÇÃO E AMOSTRA

As pacientes foram divididas por sorteio em três grupos, a saber: grupo sem ultrassom/grupo A, no qual foi utilizado gel com cafeína + UST desligado, grupo com ultrassom/grupo B, no qual foi utilizado gel com cafeína + UST ligado e grupo Controle/C, no qual foi utilizado gel a base de água + UST desligado. Os três grupos foram divididos aleatoriamente, com a finalidade de evitar possíveis vieses nos resultados obtidos (SOARES; SOARES; SOARES, 2005).

Após a assepsia com gaze estéril e álcool 70% em região abdominal, uma área de aproximadamente 56 cm², delimitada com um lápis dermográfico e fita métrica inelástica, localizada abaixo da cicatriz umbilical de cada paciente foi a região tratada pelo estudo baseando-se no trabalho de Pires de Campos (2004) (Figura 14A e 14B). Exame físico foi realizado a cada sessão, com aferição dos sinais vitais. A pressão arterial foi medida com um esfigmomanômetro de mercúrio utilizando método auscultatório, após oito a dez minutos de repouso na posição sentada. Foram utilizados manguitos adequados ao diâmetro do braço das avaliadas. Foi aferida também a temperatura axilar com termômetro de mercúrio (ODO et al., 2007).

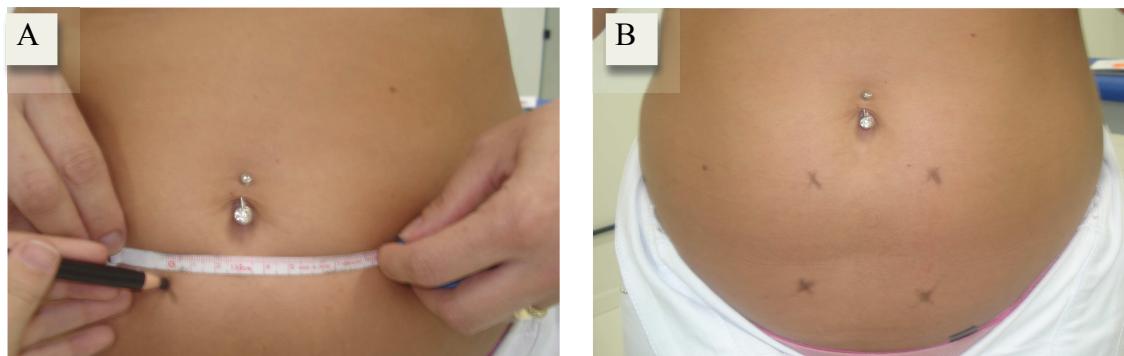


Figura 14A e 14B - Área delimitada com um lápis dermográfico e fita métrica inelástica, abaixo da cicatriz umbilical, 56cm², de cada paciente foi a região tratada pelo estudo

Fonte: (Autora, 2009).

As pacientes foram orientadas a não realizar atividade física nem mudanças bruscas na rotina alimentar durante o período do tratamento, baseando-se nos estudos de Francisco et al. (2008).

3.6 PROTOCOLO

3.6.1 Aplicação do ultrassom

O equipamento foi devidamente posicionado em superfície plana e após a assepsia da área a ser tratada com álcool 70%, foi aplicado o gel.

O transdutor foi movido de forma lenta e contínua sobre a superfície da pele enquanto uma pressão homogênea foi mantida para igualar as irregularidades do campo sonoro. Respeitando-se a necessidade de redução da reflexão o cabeçote do UST foi mantido paralelo à superfície da pele e pressionado de modo suficientemente firme para excluir qualquer volume de ar até o final da aplicação, com velocidade lenta para permitir que os tecidos se deformem e assim permaneçam em contato direto com o cabeçote rígido (LOW; REED, 2001).

O estudo utilizou o padrão de movimento de círculos sobrepostos como mostra a primeira ilustração da figura 15 e 16.

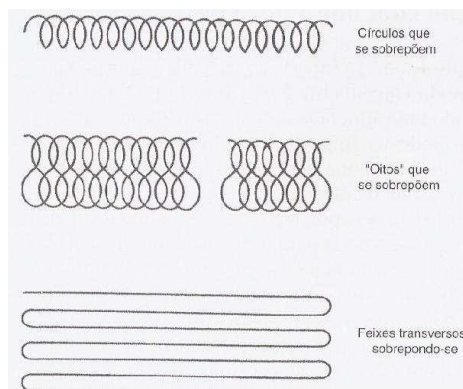


Figura 15 - Padrões de movimento do transdutor ultra-sonoro na superfície da pele.
Fonte: (LOW e REED, 2001).



Figura 16 - Padrão do movimento circular aplicado na região delimitada e tratada pelo estudo.
Fonte: (Autora, 2009).

As aplicações foram feitas sempre no mesmo período do dia e pelo mesmo aplicador, com as voluntárias posicionadas confortavelmente em decúbito dorsal e permanecendo na mesma posição durante o tempo de tratamento, que foi de aproximadamente 16 min.

Os períodos de aplicação iniciavam-se à uma hora da tarde e terminavam às dez e meia da noite, com hora marcada para cada voluntária. As aplicações foram realizadas nos cinco dias úteis da semana com apenas um intervalo de dois dias (Sábado e Domingo) entre as dez sessões, as aplicações ocorreram sem interrupção. As pacientes que faltaram à aplicação foram excluídas do estudo.

3.6.2 Grupo A (gel com Cafeína associado ao UST desligado)

Este grupo foi composto por dezenove (19) mulheres, as quais foram submetidas à dez aplicações da Cafeína gel® (Fisio Line) com a utilização do equipamento de UST desligado,

com movimento circular do cabeçote do equipamento durante um período de 16 minutos, com o objetivo de avaliar o efeito da penetração passiva do gel através da pele. A quantidade de gel aplicada foi de aproximadamente 21g. A retirada do gel excedente foi feita com toalha de papel (PIRES DE CAMPOS, 2004).

3.6.3 Grupo B (gel com Cafeína associado ao UST ligado)

Este grupo foi composto por dezenove (19) mulheres, as quais foram submetidas à dez aplicações de terapia ultrassônica associada a Cafeína gel® (Fisio Line), com objetivo de avaliar se existe diferença significativa na penetração do gel de cafeína na presença do UST ligado. Utilizou-se frequência de 3MHZ e intensidade de 0.7W (0,2 w/cm², ERA de 3,5cm²), com emissão de onda contínua e tempo de aplicação 1min/cm² de tecido, ou seja, um minuto para cada área de tecido equivalente à área do transdutor (cabeçote), que perfaz um tempo de 16 minutos. A quantidade de gel aplicado sobre a pele foi de 21g. A retirada do gel excedente foi feita com toalha de papel (PIRES DE CAMPOS, 2004).

3.6.4 Grupo C (Grupo Controle)

Este grupo foi composto por dezesseis (16) mulheres, correspondeu ao grupo controle, as quais foram submetidas à dez aplicações de gel a base de água com a utilização do equipamento de UST desligado, com movimento circular do cabeçote do equipamento durante um período de 16 minutos. A quantidade de gel aplicada foi de aproximadamente 21g. A retirada do gel excedente foi feita com toalha de papel, (PIRES DE CAMPOS, 2004). Ao final do estudo estas pacientes receberam o tratamento aplicado no grupo B.

3.7 AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS, IMAGEM POR ULTRASSONOGRRAFIA E IMC

Antes do início das aplicações realizou-se a coleta dos dados das voluntárias, com a realização dos exames de ultrassonografia primeiramente, os quais serviram também como critério de inclusão no estudo e posteriormente com coleta das amostras de sangue. Após o término das 10 aplicações foram realizados novamente os exames de ultrassonografia e nova coleta de sangue, com um intervalo máximo de 24 horas da última aplicação até a coleta.

As medidas antropométricas de peso e altura foram realizadas um dia antes das aplicações e após a última das 10 aplicações.

3.7.1 Análise Bioquímica e definição dos indicadores de dislipidemia

Antes do início das aplicações e um dia após o término dessas, as voluntárias foram submetidas à coleta de sangue pela manhã e em jejum de 8 a 12 horas e sem a realização de atividade física intensa no dia anterior.

Foram coletadas amostras de sangue nas primeiras horas do dia (entre 7:00 e 9:00h). O sangue foi coletado em tubos com anticoagulante para determinação dos lipídeos plasmáticos, foi centrifugado e apenas o plasma foi utilizado. Foram avaliados: colesterol total através de método enzimático AA, HDL-colesterol pelo método colorimétrico sem precipitação e triacilgliceróis plasmáticos através de método enzimático-automatizado. O LDL-colesterol foi determinado através da Fórmula de Friedewald: $LDL\text{-} Colesterol = colesterol\ total - (HDL + triacilgliceróis/5)$. Os Índices de Castelli I e II foram calculados da seguinte forma: Índice I – divisão da concentração de colesterol total pela concentração de HDL-c ($CT/HDL\text{-}c$); Índice II – concentração de LDL-c dividido pela concentração de HDL-c ($LDL\text{-}c/HDL\text{-}c$) (ROCCA et al., 2008).

De cada paciente foi retirado 10 ml de sangue através da punção venosa, a coleta do sangue foi feita sempre pelo mesmo profissional (WALTERS; ESTRIDGE; REYNOLDS, 1998; WINTROBE, 1979).

Todas as amostras foram submetidas à análise bioquímica individual dos níveis de colesterol, HDL colesterol e triglicerídeos no sangue através de kits de dosagens bioquímicas da Wiener Lab e aparelho para análise automatizada da marca Metrolab 2300 Random Plus

Acess Clinical Analyser, número de série 06062636. Todas as análises foram realizadas pelo mesmo profissional do laboratório, sob a supervisão do farmacêutico e bioquímico responsável.

3.7.2 IMC

Antes de iniciar as aplicações, as voluntárias foram pesadas com roupas leves, sem sapatos, em balança mecânica e medidas com estadiômetro, no Laboratório de Eletrotermofototerapia da Faculdade Guairacá.

A estatura foi aferida com estadiômetro da própria balança, com extensão de 1,90 m, dividida em centímetros e subdividida em milímetros.

O IMC foi calculado com as medidas de peso e altura, de acordo com a seguinte fórmula: peso (Kg) / altura (m)².

A coleta dos dados de peso e altura foi realizado por três avaliadores diferentes e as medidas foram repetidas para assegurar a exatidão das mesmas. Logo após a coleta dos dados cada avaliador anotou os valores em uma ficha de avaliação, portanto cada paciente possui três fichas, subsequentemente foi realizado o cálculo da média entre as três avaliações.

Após a última aplicação do protocolo do estudo, foi realizada a segunda coleta das medidas: peso, altura, IMC, como descrito anteriormente.

3.7.3 Imagens ultrassonográficas

Antes do início das aplicações foi realizado o exame de ultrassonografia da parede abdominal. No período da manhã, as pacientes foram encaminhadas à Clínica de Imagens Médicas Diagmax (na cidade de Guarapuava) para realização do exame de ultrassom da região abdominal para aferir medidas dos tecidos. As voluntárias que apresentaram espessura de tecido subcutâneo inferior a 2 centímetros (cm) foram excluídas do estudo, sendo que houve apenas uma voluntária que apresentou medida inferior à mencionada e esta foi automaticamente excluída do estudo. Cinco dias após o término das 10 aplicações, as

voluntárias foram encaminhadas novamente à Clínica de Imagens Médicas Diagmax para segunda avaliação.

A análise das imagens da tela subcutânea por ultrassonografia foi feita com laudo do responsável médico. O equipamento utilizado é da marca GE® Voluson-Pro, com transdutor multifrequencial de 12 MHz.

O exame foi em região abdominal, abaixo da cicatriz umbilical (dois centímetros abaixo da cicatriz umbilical), em corte transversal da pelve feminina para a quantificação da gordura subcutânea (medida paramediana inferior direita e esquerda) (figura 17).

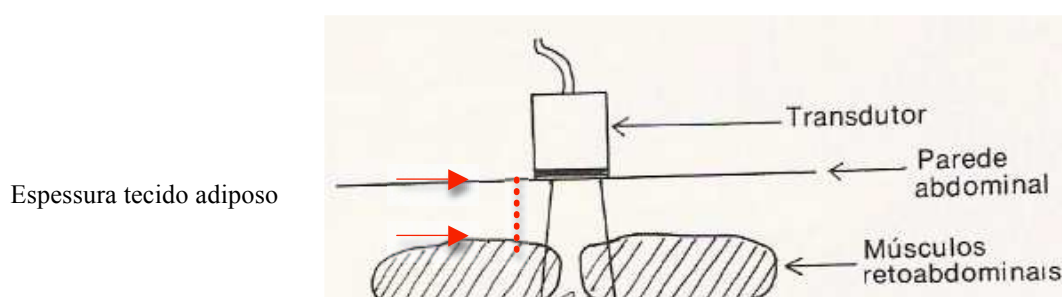


Figura 17 - Desenho representando o corte que será visualizado pelo equipamento médico de ultrassonografia. Fonte: (ROCHA, 1988).

O método de auxílio diagnóstico da anatomia através das análises das imagens e composição dos tecidos corporais abrange aspectos quantitativos, sendo o foco do estudo a comparação entre ultrassonografias de voluntárias do mesmo grupo e entre os três grupos (Grupo A, B e C) antes e após as aplicações já mencionadas (RECH, 2006).

O segmento de pele considerado é o limite entre derme-hipoderme, medida referente à camada areolar e lamelar do tecido adiposo subcutâneo medida em cm pelo equipamento de ultrassom (ODO et al., 2007), conforme mostra a figura 18.

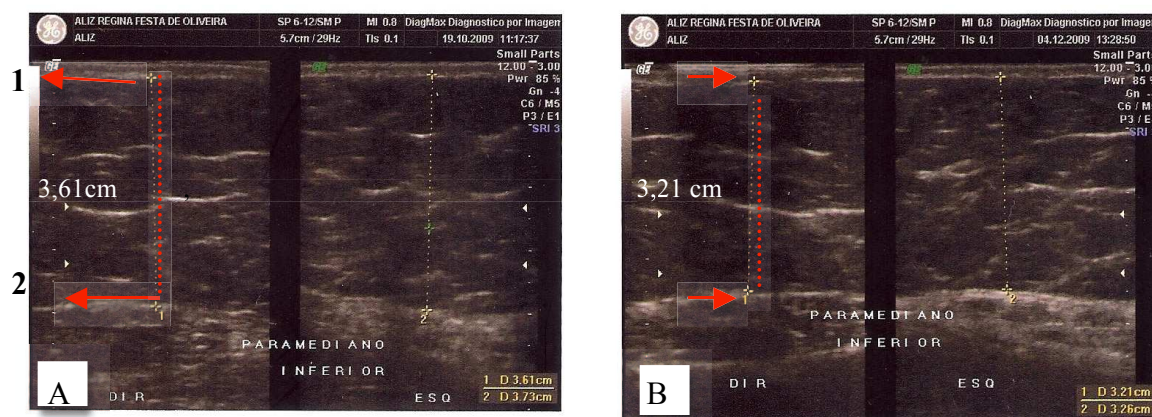


Figura 18 - Imagem de ultrassonografia da região abdominal, corte paramediano inferior à cicatriz umbilical. Espessura do tecido adiposo em dois momentos do estudo. (A) antes das aplicações, (B) após 10 aplicações de UST com Cafeína gel, ambas em região abdominal, seta (1) interface derme reticular e tecido adiposo/camada areolar, (2) interface tecido adiposo/camada lamelar e fâscia muscular do músculo reto abdominal.

Fonte: A autora, (2009).

3.7.4 Coleta de Dados

Após aprovação do Comitê de Ética da Universidade Estadual do Centro-Oeste, a coleta de dados foi realizada entre os meses outubro de 2009 a março de 2010 na Clínica de Imagens Médicas Diagmax, Laboratório Góes e Periollo e Laboratório de Eletrotermofoterapia da Faculdade Guairacá na cidade de Guarapuava-Paraná.

Todos os exames foram coletados de maneira cega, ou seja, os profissionais que coletaram os dados não sabiam a qual grupo pertencia o exame analisado.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A totalidade do experimento foi realizada e acompanhada pelos pesquisadores com o propósito de minimizar discrepâncias e não comprometer a fidedignidade dos dados.

Os resultados obtidos no estudo foram expressos por médias, medianas, valores mínimos, valores máximos e desvios padrões. Para a comparação dos grupos definidos pelo tratamento, em relação a variáveis quantitativas, foi considerado o modelo de análise de covariância, sendo as variáveis idade e avaliação pré-tratamento incluídas como covariáveis nas comparações dos grupos no momento pós-tratamento. Nas comparações dos grupos em

relação à avaliação pré-tratamento e em relação à diferença entre pré e pós-tratamento, a variável idade foi incluída como covariável. Para avaliação do efeito do tratamento dentro de cada grupo, foi usado o teste t de Student para amostras pareadas. A condição de normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os dados foram organizados em planilha Excel e analisados com o programa computacional Statistica v.8.0.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

4.1 IDADE (ANOS):

Foi encontrada diferença significativa entre os grupos definidos pelo tratamento (grupos A, B e Controle) em relação à média de idade. Na tabela abaixo são apresentadas as estatísticas descritivas de idade de acordo com os grupos e o valor de p do teste estatístico.

Tabela 5 - Valores de p do teste estatística para idade (anos).

Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	p* (com x sem ultrassom x placebo)
Sem ultras	19	38,11	39,00	22,00	52,00	9,05	
Com ultras	19	33,37	34,00	19,00	49,00	9,95	
Placebo	16	28,06	26,50	18,00	40,00	7,52	0,007

* Teste t de Student para amostras independentes, $p < 0,05$

Considerando-se que existe diferença significativa entre os grupos em relação à média de idade, estes foram comparados dois a dois. Na tabela 6 abaixo são apresentados os valores de p dessas comparações.

Tabela 6 - Comparação dois a dois dos valores de p em relação a média de idade

Grupos comparados	Valor de p
Sem ultrassom x com ultrassom	0,110
Sem ultrassom x placebo	0,002
Com ultrassom x placebo	0,087

Considerando-se que existe diferença significativa entre os grupos em relação à idade, para as análises a seguir, a idade foi considerada como covariável.

4.2 COMPARAÇÃO DOS GRUPOS DEFINIDOS PELO TRATAMENTO:

A análise comparativa dos três grupos definidos pelo tratamento (com e sem ultrassom e controle) foi feita para as avaliações pré e pós tratamento e para a diferença entre estas avaliações (pré – pós). Resultados positivos para esta diferença indicam **redução** após o tratamento e resultados negativos indicam **aumento** após o tratamento.

Na comparação entre os grupos na avaliação pré-tratamento, a idade foi considerada como covariável. Na comparação entre os grupos na avaliação pós-tratamento, a idade e a avaliação pré-tratamento foram consideradas como covariáveis. Na comparação entre os grupos em relação à diferença entre pré e pós, a variável idade foi considerada como covariável. Para cada uma das variáveis, testou-se a hipótese nula de que a média nos grupos são iguais, versus a hipótese alternativa de que pelo menos um grupo tem média diferente dos demais.

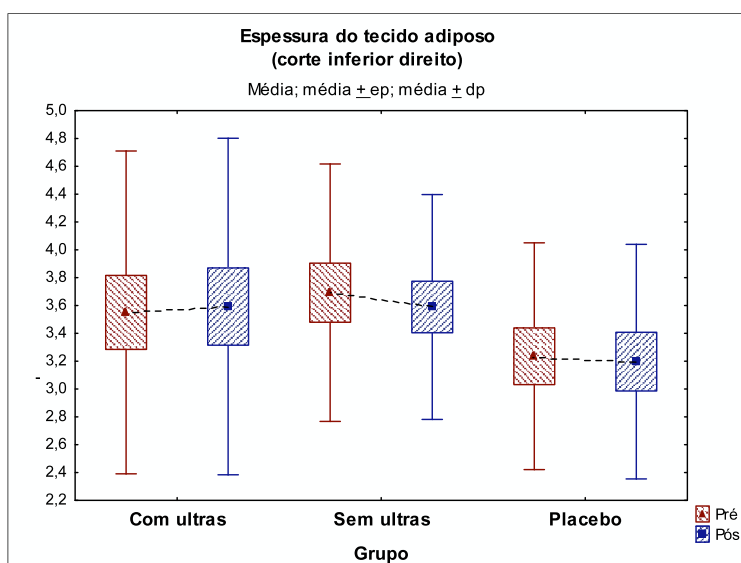
4.2.1 Comparação dos momentos de avaliação (pré e pós tratamento), dentro de cada grupo:

Dentro de cada um dos grupos, para cada uma das variáveis, testou-se a hipótese nula de que a média na avaliação pré é igual à média na avaliação pós tratamento, versus a hipótese alternativa de médias diferentes. Nas tabelas e gráficos a seguir são apresentadas as estatísticas descritivas de acordo com os grupos e os valores de p dos testes estatísticos.

4.2.2 Resultados da Ultrassonografia abdominal

Referente à variável espessura do tecido adiposo, as figuras 19 e 20 retratam a média dessa medida em dois cortes de imagem, corte paramediano direito e corte paramediano esquerdo respectivamente, em dois momentos da avaliação (pré e pós tratamento). Esses valores encontraram-se em: $3,69 \pm 0,92$ (pré) e $3,59 \pm 0,81$ (pós) para o grupo A, $3,55 \pm 1,16$

(pré) e $3,59 \pm 1,21$ (pós) para o grupo B e $3,24 \pm 0,81$ (pré) e $3,20 \pm 0,84$ (pós) para o grupo controle, sem diferença estatisticamente significativa entre eles.

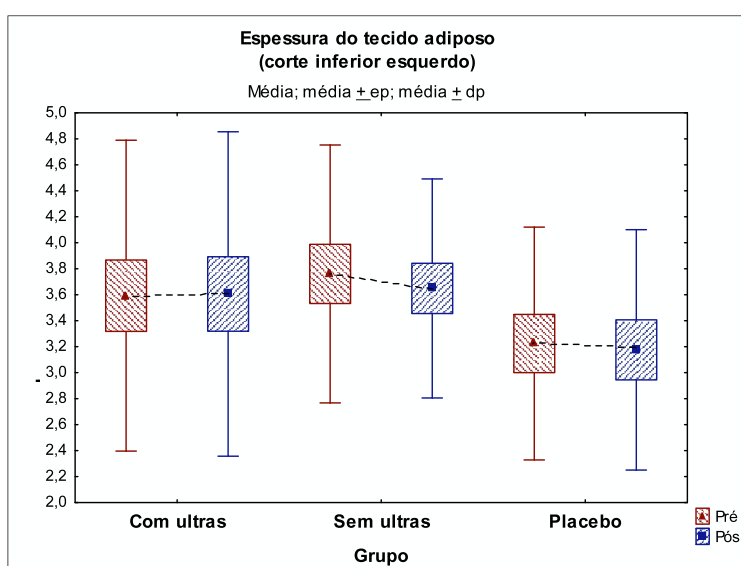


^a ANCOVA com um fator (idade como covariável), $p < 0,05$

^b ANCOVA com um fator (idade e avaliação pré como covariáveis), $p < 0,05$

Figura 19 - Média da Ultrassonografia em corte paramediano inferior direito entre os três grupos tratados (Grupos com, sem ultrassom e placebo), nos dois momentos do estudo (pré e pós aplicações).

Para o corte paramediano esquerdo os valores estão em: $3,76 \pm 0,99$ (pré) e $3,65 \pm 0,84$ (pós) para o grupo A, $3,59 \pm 1,20$ (pré) e $3,61 \pm 1,25$ (pós) para o grupo B e para grupo controle $3,22 \pm 0,90$ (pré) e $3,18 \pm 0,93$ (pós), sem diferença estatisticamente significativa entre eles.



^a ANCOVA com um fator (idade como covariável), $p < 0,05$

^b ANCOVA com um fator (idade e avaliação pré como covariáveis), $p < 0,05$

Figura 20 - Média da Ultrassonografia em corte paramediano inferior esquerdo entre os dois grupos tratados (Grupos com e sem ultrassom), nos dois momentos do estudo (pré e pós aplicações).

Para a variável espessura dentro do mesmo grupo em momentos diferentes de avaliação (pré e pós) e nos cortes (direito e esquerdo) não houve diferença significativa entre os grupos com ultrassom, grupo sem ultrassom e placebo como mostra a tabela 7.

Tabela 7 - Os valores de p das comparações entre pré e pós-tratamento, dentro de cada grupo.

Variável	Valor de p* (pré x pós)		
	Sem ultrassom	Com ultrassom	Placebo
Ultrassonog corte inf direito	0,493	0,733	0,480
Ultrassonog corte inf esquerdo	0,517	0,914	0,298

Teste t de Student para amostras pareadas, $p < 0,05$

4.2.3 Efeitos Sistêmicos

Os resultados dos testes bioquímicos (HDL, LDL, e triglicerídeos) não apresentam diferença significativa entre os grupos A, B e controle em ambos os momentos do tratamento (pré e pós). Essas variáveis também apresentaram-se não significativas dentro do mesmo grupo em momentos diferentes de avaliação (pré e pós), como ilustra tabela 8. Testou-se a hipótese nula de que os resultados dos três grupo são iguais, versus a hipótese alternativa de resultados diferentes.

Tabela 8 - Valores das médias para as variáveis Colesterol Total, HDL, LDL e Triglicerídeos.

Variável	Avaliação	Grupo (ultrassom)	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	p (com x sem ultrassom)
Col HDL	Pré	Sem ult	19	50,84	50,00	42,00	59,00	5,26	0,611 ^a
		Com ult	19	51,63	52,00	41,00	60,00	4,81	
		Placebo	16	49,94	51,00	41,00	57,00	5,36	
	Pós	Sem ult	19	50,58	50,00	45,00	58,00	4,74	0,962 ^b
		Com ult	19	51,42	52,00	44,00	59,00	4,62	
		Placebo	16	50,44	51,00	42,00	58,00	5,11	
	Diferença (pré-pós)	Sem ult	19	-0,26	-1,00	-5,00	3,00	2,21	0,820 ^a
		Com ult	19	-0,21	-1,00	-6,00	3,00	2,20	
		Placebo	16	0,50	0,00	-2,00	4,00	1,51	
Col LDL	Pré	Sem ult	19	90,16	79,00	38,00	158,00	37,92	0,220 ^a
		Com ult	19	96,73	95,00	63,00	169,90	26,15	
		Placebo	16	103,06	111,00	62,00	134,00	25,43	
	Pós	Sem ult	19	100,21	95,00	40,00	250,00	48,83	0,310 ^b
		Com ult	19	89,37	82,00	51,00	178,00	32,18	
		Placebo	16	99,94	96,50	61,00	134,00	26,50	
	Diferença (pré-pós)	Sem ult	19	10,05	14,00	-71,00	128,00	41,80	0,238 ^a
		Com ult	19	-7,36	-6,00	-47,00	21,00	17,94	
		Placebo	16	-3,13	-0,50	-27,00	10,00	9,20	

Col Total	Pré	Sem ult	19	165,95	148,00	108,00	252,00	46,58	
		Com ult	19	166,95	167,00	124,00	247,00	30,49	
		Placebo	16	171,81	182,50	124,00	200,00	27,02	0,482 ^a
	Pós	Sem ult	19	178,26	165,00	105,00	335,00	54,51	
		Com ult	19	154,63	158,00	61,00	256,00	42,85	
		Placebo	16	169,44	175,50	126,00	212,00	29,92	0,034 ^b
	Diferença (pré-pós)	Sem ult	19	12,32	16,00	-54,00	83,00	33,49	
		Com ult	19	-12,32	-8,00	-83,00	21,00	26,79	
		Placebo	16	-2,38	1,00	-36,00	12,00	11,46	0,031 ^a
Triglicerídeos	Pré	Sem ult	19	112,21	85,00	51,00	298,00	64,03	
		Com ult	19	93,58	78,00	56,00	182,00	37,01	
		Placebo	16	104,56	98,00	74,00	165,00	28,14	0,504 ^a
	Pós	Sem ult	19	124,95	101,00	50,00	305,00	68,16	
		Com ult	19	99,68	83,00	61,00	187,00	34,85	
		Placebo	16	99,13	91,00	69,00	170,00	28,22	0,598 ^b
	Diferença (pré-pós)	Sem ult	19	12,74	4,00	-90,00	181,00	53,77	
		Com ult	19	6,11	5,00	-37,00	70,00	24,54	
		Placebo	16	-5,44	1,50	-44,00	20,00	18,01	0,710 ^a

^a ANCOVA com um fator (idade como covariável), $p < 0,05$

^b ANCOVA com um fator (idade e avaliação pré como covariáveis), $p < 0,05$

Para as variáveis Col total pós e Col total diferença (pré-pós) foi encontrada diferença significativa entre os 3 grupos comparados. Sendo assim, os grupos foram comparados dois a dois. Na tabela 9 abaixo são apresentados os valores de p.

Tabela 9 - Grupos comparados quanto a variável Colesterol Total.

Grupos comparados	Valor de p	
	Col total pós	Col total dif
Sem ult x com ult	0,009	0,006
Sem ult x placebo	0,335	0,108
Com ult x placebo	0,109	0,274

Os resultados estatísticos evidenciaram que existe diferença significativa para a variável Colesterol Total entre os grupos A e B, como mostra a tabela acima. Porém não houve diferença significativa dentro do mesmo grupo nos dois momentos do estudo, como ilustrado na tabela 10 a seguir.

Tabela 10 - Variáveis HDL, LDL, Col. Total e Triglicerídeos dentro do mesmo grupo em momentos diferentes de avaliação (pré e pós), sem diferença significativa entre os grupos.

Variável	p (pré x pós)		
	Sem ultrassom	Com ultrassom	Placebo
Col HDL	0.610	0.682	0,204
Col LDL	0.308	0.090	0,194
Col Total	0.126	0.060	0,420
Triglicerídeos	0.315	0.292	0,246

4.2.4 Resultados do IMC

A média do índice de massa corporal (IMC), pré e pós tratamento para o grupo A encontrou-se em $27,96 \pm 3,47$ e $27,63 \pm 5,80$ respectivamente. Para o grupo B, tal substrato apresentou-se em $27,38 \pm 5,51$ e $28,01 \pm 3,66$ respectivamente, e grupo controle $26,56 \pm 5,00$ e $26,59 \pm 5,00$ como ilustra a tabela 11. Sem diferença significativa entre os grupos.

Tabela 11 - Média da variável IMC entre os três grupos tratados (Grupos com ultrassom, sem ultrassom e controle), nos dois momentos do estudo (pré e pós aplicações).

Variável	Avaliação	Grupo (ultrassom)	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	p*(com x sem ultrassom)
IMC	Pré	Sem	19	27,96	28,09	19,96	36,32	3,47	
		Com	19	27,38	27,00	19,00	41,96	5,51	
	Pós	Sem	16	26,56	24,60	20,00	35,00	5,00	0,845
		Com	19	28,01	28,04	19,66	36,32	3,66	
Diferença (pré-pós)		Sem	19	27,63	26,90	19,00	42,47	5,80	0,403
		Com	16	26,59	25,14	20,00	35,14	5,00	

^a ANCOVA com um fator (idade como covariável), $p < 0,05$

^b ANCOVA com um fator (idade e avaliação pré como covariáveis), $p < 0,05$

Para a diferença da variável IMC dentro mesmo grupo em momentos diferentes do estudo não houve significância estatística, como ilustra a tabela 12.

Tabela 12- Variável IMC, valores de p das comparações entre pré e pós-tratamento, dentro de cada grupo.

Variável	p (pré x pós)		
	Sem ultrassom	Com ultrassom	Placebo
IMC	0.486	0.124	0,847

A análise estatística foi complementada por uma análise individual, caso a caso, das pacientes do estudo e os resultados são demonstrados da maneira a seguir.

Tabela 13 - Concentrações séricas do colesterol, triacilgliceróis e demais frações lipídicas obtidas no tratamento com o ultrassom ligado.

Pacientes Grupo B	*HDL **pré	HDL **pós	LDL pré	LDL pós	CT pré	CT pós	Tri pré	Tri pós
1	45	44	75	73	136	128	78	82
2	50	48	170	178	247	256	136	149
3	46	47	89	69	149	131	70	76
4	52	46	127	121	202	183	62	77
5	41	44	133	129	210	210	182	187
6	53	56	97	91	168	172	91	126
7	50	48	95	62	179	130	168	140
8	49	52	100	77	185	158	76	146
9	48	47	105	58	167	118	72	67
10	58	58	76	51	124	126	56	85
11	60	59	74	67	134	126	59	61
12	52	53	76	61	144	61	78	75
13	57	56	101	120	174	191	80	75
14	57	56	88	94	165	174	102	121
15	49	51	72	82	14	148	109	75
16	52	51	63	59	143	111	139	102
17	56	54	75	96	144	165	65	77
18	52	53	113	91	182	161	87	90
19	54	54	109	119	176	189	68	83

* HDL=lipoproteína de alta densidade; LDL= lipoproteína de baixa densidade; CT = colesterol total; Tri= triacilglicerol.

** PRÉ= determinação dos lipídeos séricos antes da aplicação do ultrassom + gel de cafeína

PÓS= determinação dos lipídeos séricos após a aplicação do ultrassom + gel de cafeína.

A Tabela 13 mostra o perfil lipídico do grupo teste (Grupo B), testadas com ultrassom ligado somado ao gel de cafeína 5%. Nota-se que dos resultados do HDL, sete pacientes apresentaram concentração de HDL após o tratamento, superior ao inicial, dez pacientes com concentração sérica inferior e duas pacientes não tiveram alteração nos valores após o tratamento. Nos resultados da fração LDL observa-se que apenas seis pacientes apresentaram valor de LDL superior ao inicial, após o tratamento e treze apresentaram diminuição das concentrações séricas. Os dados correspondentes à determinação da concentração de colesterol total (CT) após o tratamento, apresentou oito pacientes com valor superior ao inicial, uma paciente não obteve alteração e dez pacientes com valor de CT inferior ao inicial. Os dados correspondentes aos valores de triacilglicerol mostram treze pacientes com concentração superior ao inicial após o tratamento e seis com valor pós, inferior.

Tabela 14 - Concentrações séricas do colesterol, triacilgliceróis e demais frações lipídicas obtidas no tratamento com o ultrassom desligado.

Pacientes Grupo A	*HDL **pré	HDL pós	LDL pré	LDL pós	CT pré	CT pós	Tri pré	Tri pós
1	58	57	74	103	145	177	65	86
2	53	55	82	101	148	198	66	101
3	59	57	62	99	137	169	79	65
4	50	48	158	173	237	257	145	182
5	48	50	50	45	108	105	51	50
6	59	58	49	66	120	136	61	60
7	51	46	122	250	252	335	216	197
8	42	45	53	84	128	165	164	183
9	54	56	135	138	207	240	92	92
10	46	48	38	90	112	159	85	108
11	54	53	144	97	218	186	100	182
12	47	45	111	40	183	141	124	305
13	47	46	141	95	208	154	98	61
14	50	48	117	140	227	230	298	208
15	56	55	64	69	135	145	76	82
16	49	51	62	61	126	128	74	78
17	55	53	113	105	183	173	75	74
18	42	45	79	75	159	151	188	158
19	46	45	59	73	120	138	75	102

* HDL=lipoporteina de alta densidade; LDL= lipoproteína de baixa densidade; CT = colesterol total; Tri= triacilglicerol.

** PRÉ= determinação dos lipídeos séricos antes da aplicação com o ultrassom desligado + gel de cafeína.

PÓS= determinação dos lipídeos séricos após a aplicação com o ultrassom desligado + gel de cafeína.

A Tabela 14 mostra o perfil lipídico do grupo A, testadas com o ultrassom desligado somado ao gel de cafeína 5%. Os resultados do HDL mostram sete pacientes com concentração de HDL após o tratamento, superior ao inicial e doze pacientes com concentração sérica inferior, após. Nos resultados da fração LDL observam-se onze pacientes com valor de LDL superior ao inicial, e oito com diminuição das concentrações séricas de LDL após o tratamento. Os dados correspondentes à determinação da concentração de colesterol total (CT) após o tratamento, apresentaram treze pacientes com valor superior ao inicial e seis pacientes com valor de CT inferior ao inicial. As concentrações de triacilglicerol sérico mostram dez pacientes com concentração superior ao inicial após o tratamento e nove com valor pós, inferior.

Tabela 15 - Concentrações séricas do colesterol, triacilgliceróis e demais frações lipídicas obtidas no grupo controle.

Pacientes Grupo C	*HDL **pré	HDL pós	LDL pré	LDL pós	CT pré	CT pós	Tri pré	Tri pós
1	57	57	88	86	165	164	102	100
2	54	58	76	73	124	126	83	85
3	44	44	122	123	188	188	110	112
4	57	56	129	124	195	198	94	92
5	45	46	75	73	136	133	78	80
6	49	51	62	61	126	128	74	78
7	51	50	69	69	153	143	164	122
8	51	51	100	73	174	138	113	69
9	44	44	122	123	188	188	110	112
10	42	44	134	134	200	212	130	150
11	52	53	113	91	182	161	87	90
12	57	56	119	122	195	198	94	92
13	53	51	129	132	199	200	85	83
14	53	53	130	131	198	199	75	76
15	41	42	109	102	183	187	165	170
16	49	51	72	82	143	148	109	75

* HDL=lipoproteína de alta densidade; LDL= lipoproteína de baixa densidade; CT = colesterol total; Tri= triacilglicerol.

** PRÉ= determinação dos lipídeos séricos antes da aplicação com o ultrassom desligado + gel à base de água.

PÓS= determinação dos lipídeos séricos após a aplicação com o ultrassom desligado + gel à base de água.

A Tabela 15 mostra o perfil lipídico do grupo controle, testadas com o ultrassom desligado somado ao gel à base de água. Os resultados do HDL mostram sete pacientes com concentração de HDL após o tratamento, superior ao inicial, quatro pacientes com concentração sérica inferior após e cinco pacientes não tiveram alteração nos valores após o tratamento. Nos resultados da fração LDL observam-se nove pacientes com valor de LDL superior ao inicial, cinco com diminuição das concentrações séricas de LDL após o tratamento e duas pacientes não tiveram alteração nos valores após o tratamento. Os dados correspondentes à determinação da concentração de colesterol total (CT) após o tratamento, apresentaram nove pacientes com valor superior ao inicial, cinco pacientes com valor de CT inferior ao inicial e duas mantiveram inalterados os valores de CT. As concentrações de triacilglicerol sérico mostram nove pacientes com concentração superior ao inicial após o tratamento e sete com valor pós, inferior.

CAPÍTULO 5

DISCUSSÃO

Diversos estudos evidenciaram os efeitos sonoforéticos do ultrassom associados a diversos princípios ativos como a Ciclosporina (LIU *et al.*, 2006), D-Pantenol (POLACOW *et al.*, 2005), Fentanil (BOUCAD *et al.* 2001), Diclofenaco de sódio (ROSIM *et al.*, 2004; BASSON, 2005), Hialuronidase (CHORRILI *et al.*, 2007), Lauril sulfato de sódio (LAVON, GROSSMAN e KOST, 2005), Ketoprofen (CAGNE *et al.*, 2003), Manitol e Insulina (MITRAGOTRI e KOST, 2000) e a Cafeína (PIRES-DE CAMPOS, 2008; PIRES-DE CAMPOS, 2007; BOUCAD *et al.*, 2001; MONTI *et al.*, 2001). No que se relaciona a permeação da cafeína sobre o tecido adiposo, há poucos estudos a respeito do UST de 3 MHz sobre este tecido, embora tal terapia seja muito utilizada como recurso lipolítico na prática clínica da fisioterapia dermato-funcional para o tratamento de acúmulo de gordura e fibroedemagelóide.

O ultrassom, ao interagir com os tecidos biológicos, gera processos fisiológicos e, conseqüentemente, efeitos a nível macroscópico. Tendo em vista a dificuldade para a penetração de princípios ativos através da pele e a grande complexidade do tecido adiposo, órgão endócrino envolvido em diversos processos fisiopatológicos, há uma urgente necessidade de informações concernentes às ações específicas desta técnica no mesmo. A presente dissertação vem de encontro a essa necessidade atual, reportando resultados decorrentes da interação entre a radiação sonora e a permeação de substâncias através do tecido epitelial para tecidos subjacentes como o tecido adiposo.

5.1 QUANTO AOS RESULTADOS

Os resultados do presente estudo, nas condições propostas, reportaram que o Ultrassom terapêutico de 3MHz, com intensidade de $0,2\text{w}/\text{cm}^2$, com emissão de onda contínua e tempo de aplicação $1\text{min}/\text{cm}^2$ de tecido, associado à Cafeína gel® (Fisio Line), não exerce macroefeito lipolítico “significativo” em hipoderme abdominal de mulheres. Essa resposta foi

observada tanto em nível plasmático, com diferença não significativa do HDL, LDL e Triglicerídeos para os três grupos, quanto em nível macroscópico em imagens ultrassonográficas da espessura da hipoderme e medida da composição corporal através do IMC. Por outro lado, no que refere-se aos níveis de Colesterol Total, para o grupo tratado com ultrassom, os resultados do estudo sinalizaram existência de diferenças estatisticamente significantes para esta variável quando comparada ao grupo sem ultrassom (grupo A), porém quando comparada ao grupo controle não foi verificada diferença significativa.

Considerando unicamente a avaliação do Colesterol Total na comparação dos grupos definidos pelo tratamento (com e sem ultrassom e controle), o aumento desta variável para o grupo A apresentou-se estatisticamente significativa somente quando relacionada com o grupo B, no qual foi observado uma diminuição desses valores. Quando esta variável foi comparada aos dois momentos do estudo (valores pré e valores pós aplicações), dentro do mesmo grupo, sinalizou a não existência de diferenças estatisticamente significantes para a mesma.

Ao avaliar individualmente cada caso, nota-se uma tendência ao aumento de HDL na maioria das pacientes testadas, após o tratamento com o ultrassom ligado, aplicado sobre a pele com gel de cafeína, em paralelo com uma diminuição geral da fração LDL e do colesterol total (CT). Sabe-se que o aumento das concentrações plasmáticas de HDL está freqüentemente associado à diminuição da concentração de LDL, em que o efeito antiaterogênico da HDL se dá, sobretudo, devido à sua propriedade de transportar lípidos, principalmente ésteres de colesterol, dos tecidos periféricos para o fígado, o que é conhecido como transporte reverso do colesterol, modulando para baixo a concentração de CT, e concomitantemente, as concentrações de LDL. A inibição da oxidação da LDL pela HDL (importante ação de proteção arterial à formação do ateroma) é comumente atribuída ao seu conteúdo de antioxidante (α -tocoferol, licopeno, estrógenos), às propriedades antioxidantes da apoA-I e apoA-II, que são proteínas combinadas com os lípidos denominadas apolipoproteínas ou simplesmente apoproteínas, e, principalmente, devido à presença de paraoxonase, uma enzima que catalisa a hidrólise de ácidos carboxílicos aromáticos e compostos organofosforados (LIMA; COUTO, 2006). Contudo, também se observa no mesmo grupo, um aumento, não significativo estatisticamente, do teor sérico de triacilglicerol, provavelmente devido à maior oferta sanguínea de ácidos graxos livres (AGL) provenientes do efeito lipolítico do tratamento com o ultrassom ligado. As lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) são constituídas por 50% de triglicerídeos, 40% de colesterol e fosfolípidios e 10% de proteínas, principalmente Apo B-100, Apo C e alguma Apo E. Essa fração tem como função o transporte dos triglicerídeos endógenos e do colesterol para os

tecidos periféricos para serem armazenados ou utilizados como fonte de energia e podem se transformar em LDL (LIMA; COUTO, 2006).

Contudo, observa-se alguns efeitos contrários do observado no grupo B (ultrassom ligado) em comparação ao grupo A (ultrassom desligado), em que os valores obtidos das concentrações de HDL após o tratamento com o gel de cafeína e o ultrassom desligado, ficaram inferiores aos medidos previamente ao tratamento (tabela 14 em apêndice). Isso explica em parte o aumento na maioria das pacientes das concentrações de LDL e do CT. Os valores de Tri permaneceram também nesta tendência na maioria das pacientes, devido também a maior oferta de AGL, onde são reesterificados no sangue à triacilgliceróis, por ação enzimática. Para o grupo controle os efeitos observados foram bem menos pronunciados, em que os valores obtidos das concentrações de HDL, LDL, CT e Tri não sofreram mudanças significantes e mantiveram-se praticamente constantes.

A cafeína, um derivado das metilxantinas, é largamente utilizada como um potencializador da resposta lipolítica, pois inibe a fosfodiesterase, que degrada o AMPc, aumentando com isso os níveis intracelulares de AMPc no adipócito, cujo efeito final é um aumento da lipólise. Logo, a cafeína é um antagonista das ações da adenosina no adipócito. Assim, o bloqueio dos receptores da adenosina impede que haja uma diminuição da atividade celular (BLECHER; MERLINO; RO'ANE, 1968).

Sendo a cafeína, uma droga hidrossolúvel e com baixa permeabilidade, a aplicação do UST aumentou sua permeação, aumentando igualmente sua absorção pela pele e conseqüentemente, sua ação lipolítica de acordo com Pires de Campos (2004).

Farmacologicamente os receptores de adenosina A1, tem como ação nos adipócitos, inibir a lipólise. Portanto, a adenosina apresenta potente ação anti-lipolítica, que quando liberada endogenamente liga-se aos seus respectivos receptores na membrana dos adipócitos e com isso, inibe a adenil ciclase e a lipólise (LAFONTAN et al., 1997).

A cafeína e seus metabólitos (como a teofilina e a teobromina) por sua vez, são responsáveis por inibir a ação da adenosina nos receptores A1 (PIRES DE CAMPOS, 2004). A cafeína também exerce um papel importante no sistema de neurotransmissão e de neuromodulação do sistema nervoso central, inibindo a ação da adenosina nesse sistema (NEDVIDKOVA; SMITKA; KOPSKY et al, 2005).

Além do efeito específico da cafeína, há também o efeito sinérgico provocado especificamente pelas ondas de ultrassom, que isoladamente podem aumentar os níveis de CT, LDL e Tri segundo estudos em modelo animal de Gonçalves *et al.*, (2005) e Francisco *et al.*, (2008). Os mecanismos envolvidos nas alterações do perfil lipídico plasmático são

devido, segundo Yamamoto et al. (2002), às alterações nas concentrações plasmáticas da adiponectina e outras adipocitocinas secretadas pelos adipócitos, sendo que tais modificações, interferem na regulação dos lipídios e lipoproteínas plasmáticas.

Considerando ainda a análise individual, no grupo A, grupo em que não foi ligado o ultrassom, também se observou um provável efeito estimulante sobre a lipólise nos adipócitos, notadamente pela elevação na concentração dos lipídeos séricos, na maioria das pacientes testadas, somente com a aplicação do gel de cafeína e com o aparelho desligado.

É importante considerar, que alguma permeação da cafeína pela pele das pacientes pode ter ocorrido, provavelmente devido ao uso do etanol na formulação do gel utilizado. O etanol tem ação agonista na permeação de substâncias pela pele, aumentando a absorção transdérmica de drogas, por alterar a integridade do estrato córneo, causando destruição da camada lipídica epitelial. Portanto, a permeação por componentes químicos, como o etanol, pode aumentar a concentração e a profundidade de penetração de uma droga pela pele (LEVANG; ZHAO; SINGH, 1999; MITRAGOTRI, 2000).

Entretanto, sabe-se que a manipulação induzida por massagem com gel, exerce um efeito reflexo nos músculos e nas arteríolas, que ativa uma contração reflexa adicional, seguido por uma dilatação arterial, que é predominantemente mediada pela ativação dos receptores da adenosina. Portanto, com certa quantidade de cafeína absorvida por permeação mecânica sobre a pele é possível que seus efeitos anti-adenosínicos tenham sido observados no grupo A. De outro lado, a cafeína sem a ação conjunta do ultrassom não é facilmente permeada através da pele (MONTI; GIANNELLI; CHETONI, 2001; SMITH, 2002).

Embora as duas técnicas de manipulação do gel de cafeína tenham sido distintas entre si, levam-nos a crer que ambas exerceram sobre os dois grupos de estudo (A e B), ação significativa sobre o perfil lipídico. Tais dados corroboram com os achados obtidos pela medição da concentração de lipídeos sanguíneos, mostrando que houve uma tendência ao aumento da concentração sérica dos lipídeos e suas frações, com diferença estatisticamente significativa para o CT na comparação desses dois grupos, como resultados da ação lipolítica obtida pelas duas técnicas utilizadas nesse estudo. Porém quando os dados obtidos dos grupos A e B são comparados separadamente ao grupo controle não há diferença significativa de valores, tais resultados nos levam a crer que o uso do UST associado ao gel de cafeína nos parâmetros descritos neste estudo não são suficientes para causar alteração do perfil lipídico em humanos.

Considerando a dieta das voluntárias, optou-se por não submetê-las à um controle ou diário alimentar, sob o risco de induzir uma menor ingestão calórica e assim obter um falso

resultado positivo da terapia. Por outro lado, as voluntárias do estudo foram orientadas a não realizar mudanças bruscas na rotina alimentar e de exercícios. Com isto tentou-se isolar o possível efeito lipolítico da terapia de influências exógenas.

No que se refere ao uso oral do princípio ativo cafeína sobre o perfil lipídico, diversos estudos (THOLON et al., 2002; RAMALHO e CURVELO, 2006; HAWKINS e DAVIS, 1969; PIMENTEL et al., 2009) apontam para um efeito termogênico desta substância. A cafeína parece ser o composto químico responsável pelo efeito termogênico do café além dos efeitos estimulatórios e redutor do sono. Estudos em humanos verificaram também um aumento da lipólise após a ingestão moderada de cafeína ou café (quatro copos de café de 150ml/dia ou 400mg de cafeína/dia) (PIMENTEL et al., 2009; ALVES, CASAL e OLIVEIRA, 2009), com resultados significantes no aumento do gasto energético, redução do apetite e perda de peso (GREENBERG et al., 2005; THOLON et al., 2002). Porém o consumo moderado do café filtrado ou da cafeína não possui relação com alterações no perfil lipídico (LANCASTER, MUIR e SILAGY, 1994; PIMENTEL et al., 2009).

Segundo Zesch, Schaefer e Stuttgen (1984), em relação ao efeito sistêmico, a cafeína por via tópica apresentou mínima distribuição geral. As taxas séricas obtidas, após aplicações repetidas de gel hidroalcolico com cafeína a 5%, foram inferiores às obtidas após a ingestão de uma xícara de café. Adicionalmente Belilowsky (1988 apud PIRES de CAMPOS, 2004) e Lamber (1982 apud PIRES de CAMPOS, 2004), com base na aplicação tópica da cafeína em gel hidroalcolico 5%, observaram um efeito terapêutico localizado ao nível do tecido adiposo, com níveis reduzidos de cafeína no plasma. Após o uso repetido do produto, os níveis séricos obtidos foram 0,45% g/ml, menor do que aqueles medidos após a absorção de uma xícara de café, correspondendo a um quarto da absorção oral.

Em complementariedade, a cafeína faz parte do grupo das metilxantinas e é um dos princípios ativos de uso tópico mais utilizados em tratamentos cosméticos para acúmulo de gordura subcutânea e fibroedemagelóide, popularmente conhecida como celulite (LESSER, RITVO e MOY, 1999). Tholon et al., (2002), em estudo *in vitro* e *ex vivo* em humanos, demonstraram que agonistas beta adrenérgicos e as metilxantinas estimulam a lipólise e a redução do tamanho dos adipócitos, através de aumento do AMP cíclico intracelular e da inibição da fosfodiesterase. O estudo consistiu de aplicação tópica de gel lipossomado contendo dois ativadores da microcirculação (esculoside e *Centella asiática*), um inibidor das fosfodiesterases (Cafeína) e um ativador da beta oxidação de ácidos graxos (L-carnitina).

A cafeína é também um antagonista competitivo do receptor de adenosina. Os quatro subtipos de receptores de adenosina já caracterizados e definidos são: A1, A2a, A2b e A3.

Como já mencionado anteriormente, a ativação do receptor A1 inibe a lipólise e ativa os canais de potássio (LAFONTAN et al., 1997). A cafeína bloqueia o receptor de adenosina A1, e assim evita a inibição da adenilatociclase via proteína Gi, assim aumentando a lipólise (LIMA et al., 2002).

Ao aumentar a concentração local de AMPc, a cafeína atua sinergicamente com as catecolaminas, potencializando a ação das catecolaminas já presentes. A ação da cafeína sobre a lipólise pode, portanto, ser o resultado da sinergia entre a ação inibitória da cafeína sobre as fosfodiesterases e da ação potencializadora sobre as catecolaminas via adrenoceptores beta (ROSSI e VERGNANINI, 2000), que contribuem para aumentar a proporção de AMPc ativo e da Hormônio sensível lipase (HSL), o que por sua vez, induz a lipólise (DODT *et al.*, 2003; ARNER *et al.*, 1990a; BARBE *et al.*, 1997).

No presente estudo a aplicação tópica da cafeína associada ao UST apresentou resultado significativo em pelo menos uma das variáveis do perfil lipídico, Colesterol Total, quando comparada à aplicação tópica e UST desligado, porém não houve efeito significativo no índice de massa corporal, ou seja a variável peso das voluntárias de ambos os grupos não sofreu alteração estatisticamente significativa.

Em outra mão, diversos estudos reportam os efeitos lipolíticos da terapia ultrassônica de média intensidade (3MHz). Tais efeitos ocorrem nos adipócitos, aumentando a atividade metabólica celular, favorecendo a liberação de ácidos graxos, colesterol total e outros lipídios na corrente sanguínea (GONÇALVES, et al., 2005). Francisco et al., (2008) observou a ação em nível celular da aplicação do UST (3MHz), atérmico (corrente pulsada) sobre a camada adiposa de ratas, com aumento nos níveis de Colesterol após a aplicação de dez sessões. Tais achados sugerem que houve mobilização e liberação de lipídeos do tecido adiposo para a corrente sanguínea. Gonçalves et al., (2005), com metodologia semelhante à citada acima, demonstrou haver alterações do perfil lipídico, em que foram encontrados elevações nos níveis de Colesterol total, LDL, triglicerídeos plasmáticos, bem como redução no HDL.

Miwa et al., (2002) mostraram que a aplicação do UST no tecido adiposo de ratos, em diferentes frequências, promove aumento da secreção local de noradrenalina pelo sistema nervoso simpático, ocasionando lipólise local e a mobilização de gordura pela liberação de ácidos graxos livres.

Recentemente, Gonçalves et al., (2009), em estudo experimental em ratas, demonstrou resultados significativos, com redução na ingestão de comida e no peso corporal e alteração no perfil lipoprotéico, onde houve redução do HDL e aumento do triglicerídeos. Porém não houve diferença significativa no colesterol total e LDL.

A ação da lipase hormônio sensível, e outras proteínas, sobre a gotícula adiposa promove a hidrólise dos triglicerídeos, os quais são convertidos em diglicerídeos e estes em monoglicerídeos. Os monoglicerídeos, por sua vez, são hidrolizados pela monoglicerídeo lipase, com a conseqüente liberação de ácidos graxos e glicerol que, por sua vez, difundem para os capilares do tecido adiposo e sistema circulatório, de modo geral (LIMA et al., 2002; GARCIA, CHAVES e AZEVEDO, 2002; JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2008). Neste aspecto, processos lipolíticos desencadeiam a liberação de ácidos graxos e glicerol para o sistema circulatório, e conseqüentemente aumento nas concentrações do colesterol, observado após a exposição da radiação sonora sobre a camada adiposa, devido ao aumento na síntese de lipoproteínas transportadoras de lipídeos.

Porém, segundo Miwa et al.,(2002) o uso do UST associado a atividade física (caminhada de dez minutos), não apresentou resultados significantes no peso corporal, triglicerídeos, colesterol total e catecolaminas plasmáticas em humanos contrapondo-se aos achados significantes destas variáveis em ratos, no mesmo estudo. Assim sendo, os efeitos no perfil lipídico são significantes para estudos com modelo animal, porém estes efeitos não foram confirmados no estudo com modelo humano, o que dá suporte aos achados bioquímicos do presente trabalho.

No que concerne ao possível efeito lipolítico redutor da terapia observado nas imagens de ultrassonografia, a interação entre a droga ativa cafeína anidra, UST e espessura do tecido adiposo envolve dois processos: aumento da penetração do princípio ativo através do efeito mecânico/químico ou térmico do UST sobre o estrato córneo e o efeito lipolítico do princípio ativo cafeína anidra sobre o tecido adiposo.

A literatura mais recente tem demonstrado maior eficácia da fonoforese utilizando UST de baixa frequência, principalmente entre 20 e 40 KHz (MITRAGOTRI; KOST, 2000; TACHIBANA; TACHIBANA, 2001; OGURA; PALIWAL; MITRAGOTRI, 2008; MUTOH et al.,2003; MITRAGOTRI; KOST, 2003; FERIL et al., 2005). Entretanto, Polacow et al. (2005) demonstraram, por meio de estudo in vivo, a permeação cutânea do D-pantenol utilizando UST de 3 MHz; a mesma frequência utilizada por Pires de-Campos (2004) que avaliou a permeação in vitro, com análises morfométricas e funcionais do tecido adiposo, ambos estudos verificaram que o UST de alta frequência (3MHz) aumentou e acelerou a permeação da cafeína, contrapondo-se aos trabalhos de BOUCAUD et al. (2001) e MACHET; BOUCAUD (2002).

Campos et al. (2004) e Polacow et al. (2005) utilizaram parâmetros semelhantes para o ultrassom contínuo (3 MHz, 0,2 W/cm² e 0,1W/cm²) respectivamente, sendo 1 min/cm² com

intensidade muito baixa para produzir aumento de temperatura, produzindo basicamente efeito mecânico nos tecidos. Em complemento, Pires de Campos (2004) observou que o UST, com parâmetros iguais ao usado no presente estudo, foi capaz de aumentar a penetração *in vitro* da droga cafeína anidra 5% sobre fragmentos de pele suína. Em estudo posterior, Pires de Campos et al. (2008) em estudo *in vivo*, revelou resultados significantes da associação do UST com a cafeína anidra, ilustrados por avaliações morfométricas do tecido adiposo, onde houve redução significativa do número e do tamanho dos adipócitos submetidos ao tratamento quando comparado aos grupos cafeína e ou UST sozinhos. Segundo a autora, tanto o UST quanto o uso tópico da cafeína isolados não produziram efeitos nas análises morfométricas. Este estudo serviu como parâmetro para a presente dissertação.

Boucad et al. (2001) obteve resultados discretos, em estudos *in vitro*, em fragmentos de pele humana e de ratos submetidos a fonoforese com cafeína, onde ao utilizar ultrassom de baixa intensidade (20KHz), forma de onda pulsada e dose de $2,5\text{W}/\text{cm}^2$, obteve-se uma penetração maior da droga quando comparado ao uso do UST de alta frequência (1MHz). Na comparação dos modelos experimentais, a pele de ratos obteve maior penetração que a pele humana.

Por outro lado, Mitragotri et al.,(1995) utilizou UST de 1MHz, dose $2\text{W}/\text{cm}^2$, onda contínua e observou aumento significativo de drogas como o estradiol e testosterona, porém não houve incremento na difusão da cafeína através de epiderme humana. Esses dados concordam com o estudo de revisão de Byl (1995), o qual verificou a efetividade do UST como um agente acentuador na penetração de substâncias através da pele em 75% dos estudos sobre fonoforese.

Diante disto, pode-se afirmar que o UST melhora a permeabilidade de macromoléculas, contudo a cafeína é uma droga hidrofílica de baixa permeabilidade e deve ser usada em sua formulação o etanol, que atua como um agente químico aumentando a penetração da cafeína (GUEVARA, MINGORANCE e CONTRERAS, 1998). A combinação do efeito químico e físico é bastante utilizada e segundo dados de Pires de Campos (2004), o sinergismo entre o gel de cafeína, com etanol em sua composição, aliados ao UST produziu um aumento na penetração de 150% quando comparado aos outros tratamentos isolados.

Apesar de não se encontrarem diferenças estatísticas importantes evidenciadas pelo presente estudo entre as imagens da espessura do tecido adiposo das voluntárias dos três grupos, no perfil lipídico e nos índices de massa corporal, nas diferentes fases do tratamento, não podemos afirmar que não houve penetração ou aumento da penetração do gel de cafeína (Fisio Line®). Atendendo aos objetivos do estudo, através das análises das imagens, que é

uma maneira direta e não invasiva de quantificação do tecido adiposo e da avaliação de massa corporal, o uso da cafeína associada ou não ao UST não promoveu efeito lipolítico redutor suficiente para causar alteração destas variáveis.

Os resultados evidenciados pela presente dissertação denotam uma grande necessidade de investigações sérias e com metodologia relacionada aos macroefeitos da tecnologia, Ultrassom terapêutico associado a um princípio ativo lipolítico, nas áreas dermatofuncional e correlatas, onde diversas técnicas terapêuticas são desenvolvidas e utilizadas, objetivando promover ou auxiliar a redução da adiposidade corpórea, sendo, muitas delas, carentes de comprovação científica. É uma área em ascensão, dado a existência de mais de um bilhão de indivíduos acima do peso e a grande quantidade de pessoas com peso dentro dos padrões de normalidade, ou mesmo com baixo peso, acometidas por deformidades do contorno corpóreo, associada à hipervalorização estética atual. Além disso, o acúmulo e a mobilização de lipídeos da tela subcutânea são desiguais, tornando algumas regiões fortemente resistentes à lipólise, sendo estas altamente beneficiadas com a aplicação localizada de uma técnica comprovadamente lipolítica.

Os efeitos adipocitários alcançados por intermédio da terapia Ultrassom terapêutico de alta intensidade (3 MHz) associado a um princípio ativo são obtidos com custo relativamente baixo quando comparado à técnicas invasivas como a cirurgia plástica, entretanto deve-se esperar deste tratamento resultados satisfatórios dentro dos limites dessa técnica. Esta terapia conservadora, rápida e praticamente sem efeitos colaterais, incrementa, grandemente, os benefícios do tratamento de adiposidades tanto para o cliente, quanto para os profissionais da área da saúde responsáveis pela aplicação de tal técnica terapêutica e portanto merecem mais estudos para validação da técnica.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÃO

A partir dos resultados evidenciados pela presente dissertação, pode-se concluir que a aplicação do Ultrassom terapêutico de alta frequência (3MHz), modo de emissão de onda contínua e intensidade de energia de 0,7 W ($0,2 \text{ W/cm}^2$), tempo de aplicação de 16 minutos em uma frequência de 5 vezes por semana, totalizando 10 aplicações, em mulheres saudáveis, com idade entre 18 e 52 anos, associado ao gel com princípio ativo Cafeína, promove:

- (1) tendência à diminuição nas concentrações de Colesterol Total comparada ao grupo controle;
- (2) tendência ao aumento do HDL e consequente redução do LDL, promovendo efeito anti-ateratogênico da terapia;
- (3) sem diferença significativa na medida da espessura da hipoderme abdominal, referente a camada areolar e lamelar do tecido adiposo;
- (4) sem diferença significativa na composição da massa corporal das pacientes.

Os achados das imagens médicas ultrassonográficas justificam os do IMC com tendência à um aumento das medidas da espessura do tecido adiposo acompanhada com aumento ponderal e do IMC, porém sem diferenças significativas. Por outro lado, os resultados bioquímicos demonstram provável efeito protetor contra a formação ateratogênica a nível sistêmico. São resultados promissores, mas necessitam de mais estudos para confirmação dos efeitos para que assim possa posicionar o Ultrassom terapêutico de 3MHz associado ao gel de cafeína como uma importante ferramenta no auxílio ao estímulo lipolítico local.

CAPÍTULO 7

SUGESTÕES, PERSPECTIVAS FUTURAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS

No que se refere às sugestões para a melhoria do presente estudo, cabe enfatizar a avaliação bioquímica realizada. Uma avaliação quantitativa de adipocitocinas como a leptina proporcionaria um complemento do possível efeito liporedutor da terapia, em detrimento da tendência observada na presente dissertação. Além disso, a avaliação microscópica de adipócitos, bem como as imagens macroscópicas (ultrassonografia) do tecido adiposo subcutâneo relacionadas entre elas, fundamentaria ainda mais os efeitos microscópicos com os efeitos macroscópicos da radiação sonora no tecido adiposo. Diante dos achados evidenciados pelo presente trabalho e considerando a polarização atual presente na literatura, estudos futuros são necessários para a caracterização dos reais efeitos da terapia da fonoforese no tecido adiposo.

Vale citar que estudos que proporcionem um controle na dieta das pacientes deve ser extremamente bem conduzido para não dar origem a falsos resultados positivos. Interessa enfatizar os estudos em um número maior de humanos com diferentes protocolos de aplicação da radiação sonora, como diferentes intensidades, incluindo o efeito térmico desta terapia com doses acima de 1 W/cm^2 , assim como com maior número de aplicações. No que concerne a esta variável, é importante a investigação do limite estimulatório para o tecido adiposo, assim como da fluência ideal, de modo a proporcionar efeitos mais pronunciados. A frequência e o intervalo de aplicação, por fim, são também relevantes, pois propiciam o conhecimento dos efeitos da fonoforese de modo continuado ou por um curto período de tempo, com os diferentes intervalos de aplicação.

Referente à avaliação em si, estudos envolvendo tanto os aspectos moleculares e ultraestruturais quanto os efeitos a nível macroscópico são importantes para a adequada caracterização dos efeitos do Ultrassom terapêutico (UST) associado ao princípio ativo cafeína no tecido adiposo. Inicialmente, é mais interessante averiguar os resultados macroscópicos, pois estes oferecem vantagens imediatas para a prática clínica. Tais resultados podem ser avaliados por meio de diversas técnicas, a saber: circunferência, ultrassonografia, termografia, ou mesmo análises bioquímicas, como avaliação do glicerol plasmático ou ácidos graxos livres, dentre outras técnicas avaliativas como as apresentadas nesta dissertação.

Após a avaliação macroscópica é importante investigar os efeitos em níveis microscópico e ultraestrutural, de modo a fundamentar os macro-efeitos observados. O UST é uma tecnologia multifacetária, com diversas aplicações na área da saúde. Contudo, no que se relaciona ao tecido adiposo, seus reais efeitos não são bem determinados e o mundo científico carece de estudos envolvendo tal tecnologia nesse tipo de tecido. Essa situação decorre, sobretudo, do caráter recente da aplicação neste tecido, da complexidade do tecido adiposo, da divergência dos resultados obtidos pelos trabalhos descritos na literatura, da insuficiência na descrição metodológica de muitos deles, assim como da variedade tanto de parâmetros modulatórios quanto de outras variáveis passíveis de interferir nesta terapia. A aplicabilidade desta modalidade terapêutica na tela subcutânea apresenta um grande potencial clínico, considerando, por um lado, a existência de mais de um bilhão de indivíduos adultos acima do peso e a grande quantidade de pessoas com peso dentro dos padrões de normalidade, ou mesmo com baixo peso, acometidas por deformidades do contorno corpóreo. E por outro lado, a distribuição e a mobilização desiguais da tela subcutânea, o que torna algumas regiões fortemente resistentes a mobilização lipolítica, sendo, portanto, beneficiadas com a aplicação localizada da radiação sonora associada a um princípio ativo. Ademais, esses efeitos do UST sobre o tecido adiposo são obtidos com custo relativamente baixo, de maneira conservadora, rápida e sem efeitos colaterais, se aplicada por um profissional competente. Neste sentido, o presente estudo vem a auxiliar na determinação dos reais efeitos do UST no tecido adiposo, e no perfil lipídico revelando resultados promissores e proporcionando perspectivas de trabalhos futuros, com o propósito de fundamentar, incrementar e inserir tal tecnologia na prática clínica.

REFERÊNCIAS

AIACHE, J. M.; AIACHE, Simone; RENOUX, Robert. **Iniciação ao conhecimento do medicamento**. São Paulo: Andrei, 1998, 337p.

ALTABAS, Karmela *et al.* From Cellulite to smooth skin: Is Viagra the new dream cream?. **Medical Hypotheses**, n. 73, p. 118–125, 2009.

ALTIMARI, Leandro Ricardo *et al.* Efeitos ergogênicos da cafeína sobre o desempenho físicos. **Rev. paul. Educ. Fís.**, v.14, n.2, p.141-58, jul./dez., 2000.

ALSTER, Tina S., TANZI, Elizabeth L. Cellulite treatment using a novel combination radiofrequency, infrared light, and mechanical tissue manipulation device. **Journal of Cosmetic and Laser Therapy**, v. 7, p. 81 – 85, 2005.

ALVES, Rita C., CASAL, Susana e OLIVEIRA, Beatriz. Benefícios do café na saúde: mito ou realidade? **Quim. Nova**, v.32, n.8, p. 2169-2180, 2009.

ARNER, Peter *et al.* Adrenergic regulation of lipolysis in situ at rest and during exercise. **J. Clin. Invest.**, v. 85, p. 893-898, mar. 1990a.

ARNER, Peter *et al.* Beta-adrenoceptor expression in human fat cells from different regions. **J. Clin. Invest.**, v. 86, p. 1595-1600, nov., 1990b.

ARNER, P. Adrenergic receptor function in fat cells. **Am. J. Clin. Nutritional**, v. 55, p. 2285-36S, 1992.

AVRAM, Mathew M. Cellulite: a review of its physiology and treatment. **J. Cosmet. Laser Ther.**, v. 6, p.181 - 185, 2004.

BARBE, P. *et al.* In vivo increase in-adrenergic lipolytic response in subcutaneous adipose tissue of obese subjects submitted to a hypocaloric diet. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 82, n. 1, 1997.

BASSOLI, Dyjalma Antônio. **Avaliação dos efeitos do ultra-som pulsado de baixa intensidade na regeneração de músculos esqueléticos com vistas à aplicabilidade em clínica fisioterapêutica**. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Paulo – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

BASSON, Herina. **Effect of ultrasound on transdermal permeation of diclofenac and the temperature effects on human skin**. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Farmacologia. Universidade de Stellenbosh, Tygerberg, 2005.

BAKER, Kerry G.; ROBERTSON, Valma J.; DUCK, Francis A. A Review of Therapeutic Ultrasound: Biophysical Effects. **Physical Therapy**, v. 81, n 7, Jul. 2001.

BECHARA, Falk G. *et al.* Fat tissue after lipolysis of lipomas: A histopathological and immunohistochemical study. **Journal of Cutaneous Pathology**, n.34, p. 552-557, 2007.

BEZERRA, Milena Gurgel Teles; LATRONICO, Ana Claudia e FRAGOSO, Maria Candida B.V. Tumores Endócrinos Associados às Mutações das Proteínas Gs e Gi2. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 49, n. 5, p.784 - 790, out., 2005.

BISHARA, Atiyeh S.; IBRAHIM, Amir E. e DIBO, Saad A. Cosmetic mesotherapy: between scientific evidence, science fiction, and lucrative business. **Aesth. Plast. Surg.**,v. 32, p. 842–849, 2008.

BLECHER, Melvim; MERLINO, Nanci S.; RO'ANE, Jacquelynn T. Control of the metabolism and lipolytic effects of cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate in adipose tissue by insulin, methyl xanthenes, and nicotinic acid. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 243, n. 14, p. 3973-3977, jul., 1968.

BÖHEME, Maria Tereza Silveira. Cineantropometria: componentes da constituição corporal. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 2, n. 1, p. 72-79, 2000.

BOLZINGER, M. A. et al. Percutaneous release of caffeine from microemulsion, emulsion and gel dosage forms. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** , v. 68, p. 446 – 451, 2008.

BOUCAUD, A. *et al.* In vitro study of low-frequency ultrasound-enhanced transdermal transport of fentanyl and caffeine across human and hairless rat skin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 228, p. 69–77, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília : **Anvisa**, 2007. 130 p. ISBN 978-85-88233-23-2

BRENELLI, Eugênia Cristina Souza. A extração da cafeína em bebidas estimulantes: uma

nova abordagem para um experimento clássico em química orgânica. **Quim. Nova**, v. 26, n. 1, p.136-138, 2003.

BUSSETO, Luca *et al.* The effects of surgical removal of subcutaneous adipose tissue on energy expenditure and adipocytokine concentrations in obese women. **Nutrition, Metabolism e Cardiovascular Diseases**, v. 18, p. 112-120, 2008.

BYL, Nancy N.. The use of ultrasound as an enhancer for transcutaneous drug delivery:Phonophoresis. **Physical Therapy**, v. 75, n. 6, p. 539/89, jun. 1995.

CAGNIE, Barbara *et al.* Phonophoresis versus topical application of Ketoprofen: comparison between tissue and plasma levels. **Physical Therapy** , v.83, n. 8, ago. 2003.

CALLEGARI-JACQUES, SM. **Bioestatística. Princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed, 2003.

CARMINA, Enrico *et al.* Subcutaneous and omental fat expression of adiponectin and leptin in women with polycystic ovary syndrome. **Fertility and Sterility**, v. 89, n. 3, marc., 2008.

CARUSO, Mary Katherine. **Modulating lipolysis for nutraceutical and cosmeceutical applications**. 2006. 55p. Dissertação (Master of Science) - The School of Human Ecology, Louisiana State University, Louisiana, 2006.

CASTRO, Simone Henriques; MATOS, Haroldo José; GOMES, Marília de Brito. Parâmetros Antropométricos e Síndrome Metabólica em Diabetes Tipo 2. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.50, n. 3, Jun., 2006.

CEZAR, Cláudia. Limitações metodológicas e dificuldades práticas para avaliação da composição corporal em obesidade moderada e grave. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, v.17, n. 4, p. 143-148, 2002.

CHÁVEZ, José Juan Escobar *et al.* The Use of Sonophoresis in the Administration of Drugs Throughout the Skin. **J Pharm Pharmaceut Sci**, v. 12 n. 1, p. 88 - 115, 2009.

CHORILLI, Marlus *et al.* Efeito de emulsão contendo extrato seco de guaraná sobre os vasos sanguíneos da derme papilar de ratos. **Saúde Rev.**, v. 6, n.14, p. 07-12, 2004.

CHORILLI, Marlus *et al.* Avaliação histológica da hipoderme de suínos submetida a tratamento mesoterápico com Tiratricol, Cafeína e Hialuronidase. **Acta Farmacéutica**

Bonaerense, v. 24, n.1, p. 14 - 18, 2005.

CHORILLI, Marlus et al. Aspectos gerais em sistemas transdérmicos de liberação de fármacos. **Rev. Bras. Farm.**, v.88, n.1, p. 7-13, 2007.

COELHO, Vanessa Gregorim *et al.* Perfil Lipídico e Fatores de Risco para Doenças Cardiovasculares em Estudantes de Medicina. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.85, n.1, jul., 2005.

CONSENSO brasileiro sobre dislipdemia: detecção, avaliação e tratamento. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab**, v.33, n.4, ago., p.287-305, 1999.

COSTA, Joana V.; DUARTE, João S. Tecido adiposo e adipocinas. **Acta. Med. Port.**, v. 19, p. 251-256, 2006.

CUNHA, Ângela; COSTA, João Batista; ROSADO, Catarina. A Celulite: a caracterização funcional e revisão dos principais compostos utilizados na abordagem cosmetológica. **Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologia da Saúde**, v. 3, p. 77- 85, 2006.

CURI, Rui et al. Ciclo de Krebs Como Fator Limitante na Utilização de Ácidos Graxos Durante o Exercício Aeróbico. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.47 n. 2, abr., 2003.

DENET, Anne-Rose; VANBEVER, Rita; PRÉAT, Véronique. Skin electroporation for transdermal and topical delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 659-677, 2004. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/addr.pdf>>. Acesso em: 28 maio 2008.

DIAS, M. Topical delivery of caffeine from some commercial formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 182, p. 41 - 47, 1999.

DODT, C.; LÖNNROTH, P.; WELLHÖNER, J.P. Sympathetic control of white adipose tissue in lean and obese humans. **Acta Physiol Scand.**, v. 177, p. 351-357, 2003.

DULLOO, Abdul G. *et al.* Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 70, p.1040 –1045, 1999.

DULLOO, Abdul G. *et al.* Green tea and thermogenesis: interactions between catechin-polyphenols, caffeine and sympathetic activity. **International Journal of Obesity**, v. 24, p. 252 – 258, 2000.

DYSON, Mary. Ultrasound for wound management. In: Gogia, Prem P. **Clinical wound management**, p. 197-202, 1995.

EMSEN, Ilteris Murat. The effect of ultrasound on flap survival: An experimental study in rats. **Burns: Journal of the International Society for burnies Injuries**, v. 33(3), p. 369-71, jan 16, 2007.

ETHERTON, Penny M. K.; YU, SHAOMEI. Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 65, p. 1628-164, 1997.

FANG, Jia-You et al. Transdermal iontophoresis of sodium nonivamide acetate: Combined effect of physical enhancement methods. **Int. J. Pharm.**, v. 235, p. 95-105, 2002.

FERREIRA, Adriana da Silva et al. Estudo da viabilidade da iontoforese na infusão de medicamentos, utilizando eletrodos móveis. **Fisioterapia Brasil**, v.8, n.6, nov-dez, p. 392-396, 2007.

FERREIRA, Andersom de Oliveira. **Guia prático de farmácia magistral**. 2ed. Juiz de Fora: 2000. 389p. ISBN 85- 901608-1-5.

FERIL, Loreto B. Jr. et al. Apoptosis induced by the sonomechanical effects of low intensity pulsed ultrasound in a human leukemia cell line. **Cancer Letters**, v. 221, p. 145–152, 2005.

FISBERG, R.M. et al. Perfil lipídico de estudantes de nutrição e a sua associação com fatores de risco para doenças cardiovasculares. **Arq Bras Cardiol.**, v. 76, p. 137-42, 2001

FONSECA-ALANIZ, Miriam H. *et al.* O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. **Arq. Brás. Endocrinol. Metab.** v. 50, n. 2, abr, 2006.

FRANCISCO, Sheila Schmidt *et al.* Análise dos efeitos da terapia por ultra-som 3MHz sobre a concentração sanguínea de Lipídeos de ratas Wistar. **Fisioterapia Brasil**. v. 9, n. 3, mai/jun 2008.

FRÜHBECK, Gema *et al.* The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 280, p. E827 – E847, 2001.

GARCIA, Mônica P.; CHAVES, Sacha B.; AZEVEDO, Ricardo B. O tecido adiposo. In: CURI, Rui et al. **Entendendo a Gordura: Os ácidos graxos**. São Paulo, Ed. Manole, 2002.

GONÇALVES, Washington Luiz S. *et al.* Utilização da terapia ultra-sônica de baixa intensidade na redução da liposistofia ginecóide: uma terapia segura ou um risco cardiovascular transitório?-Um estudo pré-clínico. **An. Bras. Dermatol.**, v.80, n.3, p. 352-359, 2005.

GONÇALVES, Washington Luiz S. *et al.* Implicações da lipoclasia dermossônica no metabolismo energético e na composição corporal de ratos Wistar saudáveis. **Rev. Bras. Fisioter.**, v. 13, n. 1, p. 24-30, jan./fev., 2009.

GREGOIRE, Francine M.; SMAS, Cynthia M.; SUL, Hei Sook. Understanding adipocyte differentiation. **Physiological Reviews**, v. 76, n. 3, jul. 1998.

GREENBERG, J. A.; AXEN, K. V. e BOOZER, C. N. Coffee, tea and diabetes: the role of weight loss and caffeine. *International Journal of Obesity*, v.29, p.1121 – 1129, 2005.

GUEDES, Dartagnan Pinto; GUEDES Joana Elisabete Ribeiro Pinto. Distribuição de Gordura Corporal, Pressão Arterial e Níveis de Lipídios-Lipoproteínas Plasmáticas. **Arq Bras Cardiol**, v. 70, n. 2, p.93-98, 1998.

GUEVARA, G. Hurtado; MINGORANCE, M. D. E CONTRERAS, M. D. Estimación de la solubilidad de la cafeína mediante diseños de mezclas. In:VI Congreso SEFIG y 3ª Jornadas TF, 1999, Granada. *Tecnología Farmacéutica*, Granada.1999. v.1, p. 117-119.

GUIMARÃES, Daniela Esteves Duque *et al.* Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Rev. Nutr.**, v. 20, n. 5, set./out., 2007.

GUIRRO, Elaine Caldeira de Oliveira. **Bioefeitos induzidos por ultra-som em staphylococcus aureus e escherichia coli: estudo in vitro.** Dissertação de doutorado. Instituto de Biociências de Rio Claro. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 1999.

GUIRRO, Elaine; GUIRRO, Rinaldo. **Fisioterapia dermatofuncional**. 4. ed. São Paulo: Manole, 2002. 560 p.

GUIRRO, R.R.J.; CANCELIERI, A.S.; SANT'ANNA, I.L. Avaliação dos meios intermediários usados na aplicação do ultra-som terapêutico. **Rev. Bras. Fisioter.** v. 5, n.2, p.49-52, 2001.

GUYTON, Arthur C.; HALL, John E.. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 973p.

HAWKINS, George E. e DAVIS, Waine E. Changes in plasma free fatty acids and triglycerides in dairy cattle after dosing with coffee or caffeine. **Journal of Dairy Science**, v.53, n.1, p. 52-55, 1969.

HENRY, John Bernard. **Diagnósticos clínicos e tratamento: por métodos laboratoriais**. 18 ed. São Paulo: Manole, 1995, 1678p.

HERMSDORFF, Helen H. M.; MONTEIRO, Josefina, B. R. **Gordura Visceral, Subcutânea, Intramuscular: Onde esta o problema?** Arq. Bras. Endocrinol. Metab., v. 48, n. 6, dez., 2004.

HEXSEL, Doris; ORLANDI, Cecilia e DO PRADO, Debora Zechmeister. Botanical Extracts Used in the Treatment of Cellulite. *Dermatol. Surg.*, v.31, n.7, p. 866 – 872, jul., 2005.

HIROOKA, Masashi, et al. A technique for the measurement of visceral fat by ultrasonography: comparison of measurements by ultrasonography and computed tomography. **Internal Medicine**, v. 44, n. 8, aug., 2005.

HIPPIUS, M., et al. In vitro Investigations of drug release and penetration enhancing effect of ultrasound on transmembrane transport of flufenamic acid. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v.36, n.2, p.107-111, 1998.

HOLM, C. Molecular mechanisms regulating hormone sensitive lipase and lipolysis. **Biochemical Society Transactions**, v. 31, p. 1120-1124, 2003.

HU, F. B., et al. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. **Am. J. Clinical Nutrition**, v.70, n.6, p.1001-1008, dec., 1999.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, 524p.

KAC, Gilberto; VELASQUES-MELENDZB; COELHO, Maria Auxiliadora S. C. Fatores associados à obesidade abdominal em mulheres em idade reprodutiva. **Rev. Saúde Pública**, v. 35, n. 1, p. 46-51, 2001.

KAROLCHYK, Scott. Beta-Adrenergic Receptors and fat loss. **American Journal of Mesotherapy**, v. 3, n. 35, p. 19 – 22, 2005. Disponível em: <www.mesotherapyworldwide.com>. Acesso em: 29 mai 2009.

LANCASTER, Tim; MUIR, John e SILAGY, Cristopher. The effect of coffee on serum lipids and blood pressure in a UK population. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v.87, p. 506-508, set.,1994.

LAFONTAN, M.; BARBE, P.; GALITZKY, J.; TAVERNIER, G.; LANGIN, D.; CARPENE, C.; BOUSQUET-MELOU, A.; BERLAN, M. Adrenergic regulation of adipocyte metabolism. **European Society for Human Reproduction e Embryology**, v.12, n.1, p.6-20, 1997.

LAVON, Ilana; GROSSMAN, Nili e KOST, Joseph. The nature of ultrasound-SLS synergism during enhanced transdermal transport. **Journal of Controlled Release**, v.107, p.484 – 494, 2005.

LEHNINGER, Albert L.; COX, Nelsom; KAY, Yarborough. Princípios de bioquímica. 4º ed. São Paulo, Ed. Sanvier, 2006, 1232p.

LESSER, Tim; RITVO, Ed e MOY, Lawrence. Modification of subcutâneos adipose tissue by a methylxanthine formulation: a double-blind controlled study. **Dermatol. Surg.**, v.25, n.6, p.455-462, jun, 1999.

LEVANG, A. K.; ZHAO, SINGH, J. Effect of ethanol/propylene glycol on the in vitro percutaneous absorption of aspirin, biophysical changes and macroscopic barrier properties of the skin. **Int. J. Pharm.** v.181, n.2, p.255-263, 1999.

LIMA, E. S.; COUTO, R. D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **J Bras Patol Med Lab**, v. 42, n. 3, p. 169-178. 2006.

LIMA, Fabio B. *et al.* Lipólise. In: CURI, Rui et al., **Entendendo a Gordura: Os ácidos graxos**. São Paulo, Ed. Manole, 2002.

LIU, Hongzhuo *et al.* Investigation into the potencial of low-frequency ultrassound facilitated topical delivery of ciclosporin A. **International Journal of pharmaceutics**, v.326, p.32-38, 2006.

LOW, John; REED, Ann. **Eletroterapia Explicada**. 3º ed. São Paulo: Manole, 2001, 472p.

LUBBERS, Jaap; HEKKENBERG, Rob T. e BEZEMER, Robert A. Time to Threshold (TT), a safety parameter for heating by diagnostic ultrasound. **Ultrasound in Med. & Biol.**, v. 29, n. 5, p. 755 - 764, 2003.

MACHET, L.; BOUCAUD, A. Phonophoresis: efficiency, mechanisms and skin tolerance. **Int. J. Pharm.**, v. 243, p. 1-15, 2002.

MADERGAN, M. F. B, GUIRRO, R. R. J. Agentes de acoplamento de ultra-som terapêutico e fonoforese. **Fisioterapia Brasil**, v. 6, n. 3, mai-jun, 2005.

MEYERS Daniel S. *et al.* Beta3-Adrenergic Receptor-Mediated Lipolysis and Oxygen Consumption in Brown Adipocytes from Cynomolgus Monkeys. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 82, n. 2, 1997.

MITRAGOTRI, S.; EDWARDS, D.A.; BLANKSCHTEIN, D.; LANGER,R. A mechanistic study of ultrasonically enhanced transdermal delivery. **J. Pharm. Sci**, v.84, n.6; p.697-706, 1995.

MITRAGOTRI, Samir, et al. An explanation for the variation of the sonophoretic transdermal transport enhancement from drug to drug. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.86, n.10, p.1190-1192, 1997.

MITRAGOTRI, Samir; KOST, Joseph. Low-frequency sonophoresis: a noninvasive method of drug delivery and diagnostics. **Biotechnol. Prog.**, v. 16, n. 3, p. 488-492, 2000.

MITRAGOTRI, Samir, et al. Determination of threshold energy dose for ultrasound-induced transdermal drug transport. **Journal of Controlled Release** , v. 63, p. 41–45, 2000.

MITRAGOTRI, S. Synergistic effect of enhancers for transdermal drug delivery. **Pharm Res.** v.17, n.11, p.1354-1359, 2000.

MITRAGOTRI, Samir; KOST, Joseph. Low-frequency sonophoresis: A review. **Advanced Drug Delivery.**, v.56, p. 589-601, 2003.

MITRAGOTRI, Samir. Healing sound: the use of ultrasound in drugs delivery and other therapeutic applications. **Nature Reviews**, Mar., v. 4, p. 225, 2005. Disponível em: <<http://www.nature.com/reviews>>. Acesso em: 21 mar 2008.

MIWA, Hirohide *et al.* Effect of ultrasound applicaton on fat mobilization. **Pathophysiology**, v. 9, p. 13-19, 2002.

MONTI, D.; GIANNELLI, R.; CHETONI, P.; BURGALASSI, S.; Comparison of the effect of ultrasound and of chemical enhancers on transdermal permeation of caffeine and morphine through hairless mouse skin in vitro. **Int J Pharm.**, v. 229, p. 131-137, 2001.

MONTGOMERY, Rex; CONWAY, Thomas W.; SPECTOR, Arthur A. **Bioquímica: uma abordagem dirigida por casos**. 5 ed. São Paulo: Artes Medicas, 1994, 477p.

MOORE, Keith; DALLEY, Arthur F. **Anatomia: orientada para a clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, 1021p.

MÜLLER, R.H.; PETERSEN, R.D.; HOMMOSS, A.; PARDEIKE, J. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.59, p. 522- 530, 2007.

MUTOH, Mizue, et al. Characterization of transdermal solute transport induced by low-frequency ultrasound in the hairless rat skin. **Journal of controlled release**. v. 92, p. 137-146, 2003.

NAIK, Aarti; KALIA, Yogeshvar N.; GUY, Richard H. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. **Pharmaceutical Science & Technology Today**. v. 3, n. 9, p.318-326, sep., 2000.

NEDVIDKOVA, J.; SMITKA, K.; KOPSKY, V.; HAINER, V. Adiponectin, an Adipocyte-derived protein. **Physiol Res.**, v.54, p.133-140, 2005.

NICOLI, Sara; COLOMBO, Paolo and SANTI, Patrizia. Release and permeation kinetics of caffeine from bioadhesive transdermal films. **The AAPS Journal**, v. 7, n.1, p. 218-233, 2005.

ODO, Marina Emiko Yagima, et al. Action of Sodium Deoxycholate on Subcutaneous Human Tissue: Local and Systemic Effects. **Dermatol Surg**. v. 33, p.178–189, 2007;.

OGURA, Makoto; PALIWAL, Sumit; MITRAGOTRI, Samir. Low- frequency sonophoresis: Current status and future prospects. **Advanced Drug Delivery**, 2008.

PADULA, Cristina de *et al*. Bioadhesive film for dermal and transdermal drug delivery **Eur. J. Dermatol.**, v. 17, n. 4, p. 309 – 312, 2007.

PAGANO, M., GAUVREAU, KIMBERLEE. **Princípios de bioestatística**. São Paulo: Pioneira Thonson Learning, 2004.

PARK, Ha Seung et al. Effectiveness of Mesotherapy on Body Contouring. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 121, n. 4, p. 179 - 185, abr., 2008.

PIMENTEL, Gustavo D. et al. Does long-term coffee intake reduce type 2 diabetes mellitus risk?. **Diabetology e Metabolic Syndrome**, p.1-6, 2009. Disponível em: <<http://www.dmsjournal.com/content/1/1/6>>. Acesso em: 10 mar 2010.

PRESTES, Jonato et al. Metabolismo Lipídico: suplementação e performance humana. **Saúde Rev.**,v. 8, n.18, p. 49 - 54, 2006.

PIRES DE CAMPOS, Maria Silvia Mariani. **Influência do ultra-som na permeação cutânea de cafeína**: estudo de fragmentos de pele e em adipócitos de suínos. 2004. 127p. Dissertação (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

PIRES DE CAMPOS, Maria Silvia Mariani *et al.* Influence of the ultrasound in cutaneous permeation of the caffeine: in vitro study. **Pharmacologyonline**, v.1, p. 477- 486, 2007.

PIRES DE CAMPOS, Maria Silvia Mariani *et al.* The effect of topical caffeine on the morphology of swine hypodermis as measured by ultrasound. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 7, p. 232–237, 2008.

POLACOW, M. L. O. et al. Efeito do ultra-som e do D-Pantenol na regeneração tegumentar. **Rev. Bras. Fisioter**, v. 9, n. 3, p. 365-371, 2005.

RABELO, L.M. et al. Fatores de Risco para Doença Aterosclerótica em Estudantes de uma Universidade privada em São Paulo - Brasil. **Arq Bras Cardiol.**, v.72, p. 569-74. 1999.

RADOMINISKI, Rosana B. *et al.* O uso da Ultra-Sonografia na Avaliação da distribuição de Gordura Abdominal. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 44, n.1, fev., 2000.

RAMALHO, Ana Tereza e CURVELO, Susana. Substâncias cosmetologicamente activas caracterização, indicação, eficácia e segurança: cafeína. **Revista Lusófona de Ciências e Tecnologia da Saúde**, v. 3, n. 2, p. 183 – 190. 2006.

RECH, Viviane. **Método de auxílio diagnóstico da anatomia estático-torácica através da análise de imagens radiográficas digitalizadas**. 2006. 72p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Saúde) – Centro de Ciências em Saúde, Pontificia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2006.

REZENDE, Fabiane Aparecida Canaan et al. Índice de Massa Corporal e Circunferência Abdominal: Associação com Fatores de risco Cardiovascular. **Arq Bras Cardiol** ; v.87, n.6, p.728-734, 2006.

RHEINGANTZ, Maria Gabriela T.; MACHADO, Iria Guimarães. **Histologia básica interativa**: Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, n.1, 2003. 1 CD-ROM.

ROCHA, Domingos Correia da. **Ultrasonografia Abdominal**. São Paulo: Sarvier, 1988, p. 436.

ROSIM, Giovana C. *et al.* Diclofenac phonophoresis in human volunteers. **Ultrasound in Med. & Biol.**, v. 31, n. 3, p. 337–343, 2005.

ROSSI, Ana Beatris R.; VERGNANINI, Andre Luiz. Cellulite: a review. **Journal European Academy of Dermatology and Venereology**, v.14, p. 251–262, 2000.

ROTUNDA, Adam M. *et al.* Detergent effects of Sodium Deoxycholate are a major feature of an injectable Phosphatidylcholine formulation used for localized fat dissolution. **Dermatol Surg.** v.30, p.1001–1008, 2004.

ROTUNDA, Adam M.; ABLON, Glynis; KOLODNEY, Michael,S. Lipomas treated with subcutaneous deoxycholate injections. **J. Am. Acad. Dermatol**, v. 53, n. 6, p. 973-978, dez., 2005.

ROTUNDA, Adam M.; KOLODNEY, Michael,S. Mesotherap and phosphatidylcholine injetions: historical clarification and review. **Dermatologic Surg.**, v. 32, n. 4, p. 465-480, abr., 2006.

RUSSO, Renata. Imagem corporal: construção através da cultura do belo. **Movimento & Percepção**, v.5, n.6, jan./jun., p. 80-90, 2005.

SAMPAIO, Helena Alves de Carvalho et al. Aplicabilidade das fórmulas de estimativa de peso e altura para idosos e adultos. **Rev Bras Nutr Clin.**, v.17, n. 4, p. 117-121, 2002.

SAINIO, E.L.; RANTANEN, T. e KANERVA, L. Ingredients and safety of cellulite creams. **European Journal of Dermatology**, v. 10, n. 8, p. 596 - 603, dec, 2000.

SCHÜNKE, Michael et al. **Anatomia Geral e Aparelho Locomotor. Prometheus Atlas de Anatomia**. 1. ed. atual. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

SCORZA, Flávia Acedo et al. Estudo comparativo dos efeitos da eletrolipólise com uso de TENS modo Burst e modo normal no tratamento de adiposidade localizada abdominal. **Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v.12, n.2, p.49-62, 2008.

SHEKELLE, R.B.; SHRYOCK, A.M. e OBLESBY, P. Diet, serum cholesterol, and death from coronary heart disease: the western electric study. **N. Engl. J. Med.**, v.304, p.65-70, 1981.

SILVA, Adriano Eduardo Lima *et al.* Metabolismo da gordura durante o exercício físico: mecanismo de regulação. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v.8, n. 4, p. 106-114, 2006.

SMITH, A. Effects of caffeine on human behavior. *Food and Chemical Toxicology*, v.40, p.1243-1255, 2002.

SOARES, Lúcia Maria Alves ;SOARES,Sandra Mara Brasil e SOARES, Aline Kercia Alves. Estudo comparativo da eficácia da drenagem linfeática manual e mecânica no pós-operatório de dermolipectomia. **RBPS**. v.18, n. 4, p.199-204, 2005.

SOUZA DE JESUS, Gersom; FERREIRA, Adriana da Silva; MENDOÇA, Adriana Cerqueira. Fonoforese X Permeação cutânea. **Fisioterapia em Movimento**, Curitiba, v.19, n.4, p. 83-88, out./dez., 2006.

SPEED, C.A. Therapeutic ultrasound in soft tissue lesions. **British Society for Rheumatology.**, v.40, p.1331-1336, 2001.

SPINA, Luciana Diniz Carneiro. **Metabolismo glicídico e gordura visceral em adultos deficientes de hormônio de crescimento**: dois anos de reposição. 2005. 141p. Dissertação (Doutorado em Medicina área de concentração Endocrinologia) - Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

SUHONEM, T. Marjukka; BOUWSTRA, A. Joke; URTTI, Arto. Chemical enhanced of percutaneous absorption in relation to stratum corneum structural alterations. **Journal of Controlled Release**. v. 59, p. 149-161, 1999.

TACHIBANA, Katsuro; TACHIBANA, Shunro. The use of ultrasound for drug delivery. **Echocardiography**, v. 18, n. 4, Maio, 2001.

TRAYHURN, P.; BEATTIE J. H. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, p. 329-339, 2001.

TRAYHURN, P. White adipose tissue grafts- keeping in contact. **Endocrinology**, v.146, n. 3, mar., p.1003-1005, 2005.

TER HAAR, Gail. Physic of therapeutic ultrasound. **Physiotherapy**, Londres, v. 73, n. 3, mar. 1987.

TER HAAR, Gail. Therapeutic ultrasound. **European Journal of Ultrasound**, v. 9, p. 3–9, 1999.

TER HAAR, Gail. Therapeutic applications of ultrasound. **Biophysics and Molecular Biology**, v. 93, p. 111–129, 2007.

TEZEL, Ahmet; MITRAGOTRI, Samir. Interactions of inertial cavitation bubbles with stratum corneum lipid bilayers during Low-Frequency Sonophoresis. **Biophysical Journal**, v. 85, dec., p. 3502–3512, 2003.

THOLON, L. *et al.* An *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* demonstration of the lipolytic effect of slimming liposomes: An unexpected alfa adrenergic antagonism. **J. Cosmet. Sci.**, v.53, p. 209-218, jul./aug., 2002.

VALENTINI, Elton Antônio; MACIEL, Carlos Dias; PARIZOTTO, Nivaldo Antônio. Importância da conformidade dos equipamentos de ultra-som terapêutico com a NBR-IEC 1689. **Fisioterapia Brasil.**, v.7, n.1, Jan./Fev., 2006.

VELASCO, Maria Valéria Robles et al. Effects of caffeine and siloxanetriol alginate caffeine, as anticellulite agents, on fatty tissue: histological evaluation. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v.7, p. 23 - 29, 2008.

VERNON, Richard G. Effects of diet on lipolysis and its regulation. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 51, p. 397-408, 1992.

ZESCH, A.; SCHAEFER, H.; STUTTGEN, G. The quantitative distribution of percutaneously applied caffeine in the human skin. **Archives of Dermatological Research.**, v.266, n.3, p.277-283, 1979

YAMAMOTO, Y.; HIROSE, H.; SAITO, I.; TOMITA, M.; TANIYAMA, M.; MATSUBARA, K.; et. al. Correlation of the adipocyte derived protein adiponectin with insulin resistance index serum high-density lipoprotein-cholesterol in Japanese population. **Clin Sci.**, v.103, p.137-42, 2002.

YOUNG, Steve R. Terapia por ultra-som; In: KITCHEN, Sheila; BAZIN, Sarah. **Eletroterapia de Clayton**. 11. ed. São Paulo: Manole, 1998. 350 p. ISBN 85-204-0752-8.

YOUNG, Steve R.; DYSON, Mary. Macrophage responsiveness to therapeutic ultrasound. **Ultrasound in Med. & Biol.**, v. 16, n. 8, p. 809-816, 1990.

WALTERS, Norma J.; ESTRIDGE, Barbara H.; REYNOLDS, Anna P. **Laboratório Clínico-Técnicas Básicas**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 1998.

WINTROBE, Maxwell Myer. **Hematología clínica**. Buenos Aires: Inter-Médica, 1979. 2v.

WOLLINA, Uwe, et al. Esthetic and cosmetic dermatology. **Dermatologic Therapy**, v. 21, p. 118–130, 2008.

WORLD HEALTH ORGAN (WHO). Diet nutrition and the prevention of chronic diseases. **Tech. Rep. Ser.**, n. 916, p. 1 – 149, 2003.

ANEXOS

**ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(TCLE):**

Eu _____ RGn° _____ estou sendo convidada a participar de um estudo que chama-se “Efeito da aplicação tópica da Cafeína anidra associada ao ultra-som terapêutico: estudo *in vivo* em hipoderme abdominal”, este estudo vai analisar o efeito do ultra-som terapêutico (UST) (equipamento utilizado por profissional fisioterapeuta) associado ao gel com cafeína anidra (gel que pode agir na redução de gordura local, comercializada pela empresa Fisio Line) e avaliar se essa técnica terá efeitos sobre os níveis de colesterol sanguíneo, triglicérides, na medida da cintura, índice de massa corporal (IMC) e imagens médicas por ultra-sonografia. O estudo deve ser realizado por haver poucas investigações científicas que descrevam os efeitos desse procedimento sobre a pele a humana e sobre os efeitos sistêmicos (LDL, HDL, etc).

Caso aceite participar desta pesquisa minha participação no estudo será no sentido de colaborar com a pesquisa através de meu comparecimento nos dez (10) atendimentos, sendo que dois dias antes da primeira (1º) sessão e dois dias depois da última sessão (10º) irei submeter-me a exames laboratoriais (coleta de sangue) e exame de ultrasonografia da região abdominal em clínica médica particular ambos por conta da pesquisadora. Também irei submeter-me a medidas de circunferência abdominal (medida da cintura com fita métrica), peso (balança) e altura. Fico ciente de que não irei fazer nenhum tipo de dieta para diminuir o peso, ou atividade física, enquanto durar os atendimentos. Cada sessão durará 16 minutos. Fui informada pela pesquisadora que espera-se que a Cafeína penetre até o tecido subcutâneo (gordura abaixo da pele), e depois dos atendimentos e exames realizados a pesquisadora irá avaliar se houve diferença nos valores dos exames de sangue e nas medidas da gordura.

Fui alertado de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como: diminuição de medidas na região do abdome e diminuição da gordura subcutânea (abaixo da pele) no abdome. Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo, levando-se em conta que é uma pesquisa, e os resultados positivos ou negativos somente serão obtidos após a sua realização. Assim, pode não haver nenhuma diminuição da gordura abdominal. Não há relatos de evidências de dano decorrente do uso do princípio Cafeína anidra (Fisio Line Cosméticos), trata-se de uma substância bastante usada sob a pele associada ao Ultra-som (PIRES DE CAMPOS, 2004), porém pessoas que possuem alergia ao princípio ativo cafeína (pessoas que não se sentem bem ao ingerir a bebida café) podem apresentar irritação na pele (vermelhidão e coceira) (HESXEL et al., 2005). O uso do Ultrassom terapêutico está vastamente documentada na literatura científica (LOW e REED, 2001) trata-se de uma terapia segura quando aplicada por profissional especializado (fisioterapeuta). As condições abaixo listadas são as contra-indicações do estudo.

- Tecido maligno e pré-canceroso (pessoa que teve ou tem câncer de qualquer tipo)
- Útero em gestação (grávidas)
- Infecções agudas (na pele, feridas)
- Sensibilidade ao produto Cafeína gel (Fisio Line)

Estou ciente que os itens listados acima são as condições em que o estudo não pode ser realizado, e para manter a minha segurança serei avaliada pela pesquisadora antes de qualquer procedimento, para excluir qualquer condição que possa representar dano à minha saúde.

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, será mantido em sigilo.

Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa,

não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo. Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são: Silvia Maria Prestes Jorge, João Palma Setti, todos vinculados a Pontifícia Universidade Católica do Paraná, e com eles poderei manter contato a qualquer hora, dia ou noite (24 horas) pelos telefones 42-99249806 e 42-32327749, 41-91878089 e 41-32712661, respectivamente.

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas conseqüências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

No entanto, caso eu tenha qualquer despesa decorrente da participação na pesquisa, haverá ressarcimento na forma seguinte: em dinheiro ou mediante depósito em conta-corrente. De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado, conforme determina a lei.

Guarapuava, ____ de _____ de 200__.

Nome e assinatura do sujeito da pesquisa

Silvia Maria Prestes Jorge

João Antonio Palma Setti

ANEXO B - APROVAÇÃO DO CÔMITE DE ÉTICA DA UNICENTRO.



Universidade Estadual do Centro-Oeste

Reconhecida pelo Decreto Estadual nº 3.444, de 8 de agosto de 1997

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COMEP/UNICENTRO

Ofício nº 156/2009 - COMEP/UNICENTRO

Guarapuava, 08 de outubro de 2009.

Senhora Professora,

Comunicamos que o projeto de pesquisa intitulado “Efeito da aplicação tópica da cafeína anidra associado ao ultra-som terapêutico”, protocolado sobre o nº 07616/2009, foi analisado e considerado **APROVADO** pelo Comitê de Ética em Pesquisa de nossa Instituição em reunião ordinária do dia 07 de outubro de 2009.

Em atendimento à Resolução 196/96 do CNS, deverá ser encaminhado ao COMEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou a sua interrupção.

Pesquisadora: Silvia Maria Prestes Jorge

Atenciosamente,

UNICENTRO



Prof. Jefferson Olivatto da Silva
Coordenador do COMEP/UNICENTRO.

À Senhora
Silvia Maria Prestes Jorge

Home Page: <http://www.unicentro.br>

Campus Santa Cruz: Rua Pres. Zacarias 875 – Cx. Postal 3010 – Fone: (42) 3621-1000 – FAX: (42) 3621-1090 – CEP 85.015-430 – GUARAPUAVA – PR

Campus CEDETEG: Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03 – Fone/FAX: (42) 3629-8100 – CEP 85.040-080 – GUARAPUAVA – PR

Campus de Irati: PR 153 – Km 07 – Riozinho – Cx. Postal, 21 – Fone: (42) 3421-3000 – FAX: (42) 3421-3067 – CEP 84.600-000 – IRATI – PR

ANEXO C - LAUDO DE CALIBRAÇÃO DA EMPRESA BIOSET.



Tabela de calibração								
Equipamento de Inspeção Medição e Ensaio								
990065 - Wattímetro de Ultra-som RCC nº069								
Aparelho								
Sonacel Dual 1 e 3Mhz - nº de série: 0903001 nº ANVISA 10410300010								
Indicação do Aparelho S.1015 (Frequência 1 MHz)		Valor Mensurado pelo EIME*		Erro Admissível por Norma ($\pm 20\%$) IEC 601- 2-5			Erro do Aparelho**	Desvio
Intensidade(W/cm ²)	Potência (W)	Intensidade(W/cm ²)	Potência (W)	Min.	Médio	Máx.	Potência	(%)
0,10	0,35	0,10	0,35	0,28	0,35	0,42	0,00	0,00
0,20	0,70	0,20	0,70	0,56	0,70	0,84	0,00	0,00
1,00	3,50	1,00	3,40	2,80	3,50	4,20	0,10	2,86
1,50	5,25	1,50	5,10	4,20	5,25	6,30	0,15	2,86
2,00	7,00	2,00	7,00	5,60	7,00	8,40	0,00	0,00
Indicação do Aparelho S.1015 (Frequência 3 MHz)		Valor Mensurado pelo EIME*		Erro Admissível por Norma ($\pm 20\%$) IEC 601- 2-5			Erro do Aparelho**	Desvio
Intensidade(W/cm ²)	Potência (W)	Intensidade(W/cm ²)	Potência (W)	Min.	Médio	Max.	Potência	(%)
0,10	0,35	0,10	0,35	0,28	0,35	0,42	0,00	0,00
0,20	0,70	0,20	0,68	0,56	0,70	0,84	0,02	2,86
1,00	3,50	1,00	3,40	2,80	3,50	4,20	0,10	2,86
1,50	5,25	1,50	5,20	4,20	5,25	6,30	0,05	0,95
2,00	7,00	2,00	6,90	5,60	7,00	8,40	0,10	1,43

Notas:

- * EIME – Equipamento de Inspeção, Medição e Ensaio.
- ** $ER = \frac{EA(\text{médio}) - VM}{VM}$

Onde:
ER: Erro do Aparelho
EA: Erro Admissível
VM: Valor Mensurado

- $DV = [(VM : EA(\text{médio})) \times 100] - 100$

Onde:
DV: Desvio do Aparelho

Técnico Executante
Paulo Henrique Silva Pelicioni
28/10/2009

BIOSET Indústria de Tecnologia Eletrônica Ltda. - Av. 55, n.º1212 - Jardim Kennedy - Rio Claro - SP
Cx. Postal 95 - CEP 13501-540 - Fore/Fax: (0xx19) 3534-3693 e 3524-8119 Ramal 28
Email:assistencia@bioset.com.br - hotmail: assistenciabioset@hotmail.com
site: www.bioset.com.br