

UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA  
INSTITUTO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO

*DÉBORA JANINE DIAS VIEIRA VELOSO*

**ESTUDO FOTOACÚSTICO DA NIMESULIDA  
APLICADA À PELE *IN VIVO***

São José dos Campos, SP

2006

*DÉBORA JANINE DIAS VIEIRA VELOSO*

**ESTUDO FOTOACÚSTICO DA NIMESULIDA  
APLICADA À PELE *IN VIVO***

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia da Universidade do Vale do Paraíba, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roxo Barja

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo David de Castro Lobo

São José dos Campos, SP

2006

V555e

Veloso, Débora Janine Dias Vieira

Estudo fotoacústico da nimesulida aplicada a pele *in vivo* / Débora Janine Dias Vieira Veloso. São José dos Campos: UniVap, 2006.

1. Disco laser. Color.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, 2006.

1. Pele 2. Fonoforese 3. Fotoacústica I. Barja, Paulo Roxo, Orientador. II. Lobo, Paulo David de Castro, Co-orientador. III. Título

CDU: 612.79

Autorizo, exclusividade para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processo fotocopiador ou transmissão eletrônica.

Aluna: *Débora Janine Dias Vieira Veloso*

São José dos Campos, 07 de Dezembro de 2006.

**“ESTUDO FOTOACÚSTICO DA NIMESULIDA APLICADA À PELE IN VIVO”**

Débora Janine Dias Vieira

Banca Examinadora:

Prof.<sup>a</sup> Dra. **PAULO DAVID DE CASTRO LOBO** (UNIVAP) 

Prof. Dr. **PAULO ROXO BARJA** (UNIVAP) 

Prof. Dr. **PÉRCLES ALMEIDA DELFINO DUARTE** (UNIOESTE) 

Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco

Diretor do IP&D – UniVap

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico este trabalho a DEUS.*

*Aos meus pais Jerffson e Dirce, fonte de inspiração e entusiasmo por todo amor e gratidão, por seu incansável apoio ao longo do período da elaboração deste trabalho.*

*Ao meu amado esposo, Rodrigo, por todo amor, incentivo, compreensão, encorajamento e por estar ao meu lado durante todos os momentos desta trajetória.*

*Amo vocês.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS fonte de toda sabedoria e ciência, criador da vida e senhor de toda natureza, agradeço pela dádiva da vida, e por me suster durante toda esta trajetória;

Ao meu esposo, por sempre acreditar em mim, por seu apoio e incentivo;

À minha mãe, pela ajuda, coragem, companheirismo, incentivo, por acreditar em mim, e pelo seu amor especial;

Ao meu pai, pelo apoio e compreensão durante estes anos;

Aos meus irmãos Sara e Júnior, pelo companheirismo, pelo carinho e paciência;

Ao meu sobrinho Luís Felipe que tanto me encanta;

Gostaria de expressar meus agradecimentos, de forma geral, aos amigos e colegas pelo apoio e incentivo para a realização deste trabalho e em particular:

Ao Professor Dr. Paulo Roxo Barja pela orientação, por todo apoio, encorajamento, dedicação e confiança. Com toda sabedoria e conhecimento de um doutor, para mim você foi um verdadeiro mestre, ao me mostrar o caminho da pesquisa e da ciência. Deixo minha admiração. Há sentimentos que as palavras não conseguem traduzir. Minha gratidão a você é uma delas. Muito obrigado;

Aos meus amigos Rafael, Cláudia, Jociely, Júlia e Cristiane pela amizade, incentivo e cooperação;

Aos meus tios pelas palavras de encorajamento. Aos Tios Cláudio, Denise e a minha madrinha Delma por terem me hospedado tão bem em suas casas.

Aos professores Alexandre Dias David e Alexandre Botelho Brito pela contribuição a este trabalho.

À Dona Ivone, Rúbia e Valéria pela simpatia, atenção, eficiência com seus afazeres.

# ESTUDO FOTOACÚSTICO DA NIMESULIDA

## APLICADA À PELE *IN VIVO*

### RESUMO

O efeito fotoacústico é obtido numa célula constituída por um recipiente fechado no qual uma janela de vidro permite a entrada de luz. Por um processo de desexcitação não radiativo, a radiação modulada absorvida pela amostra é transformada em calor que se propaga até a camada de ar adjacente à amostra, com a conseqüente produção de ondas acústicas. A fotoacústica tem sido utilizada na caracterização da pele humana, bem como no estudo de penetração dos fármacos de uso tópico. O presente estudo teve por objetivo analisar o tempo de absorção da nimesulida na pele, com e sem auxílio do ultra-som fisioterápico. A amostra do estudo foi composta por 16 mulheres, com idade entre 20 e 30 anos, de pele morena clara e moderada, submetidas a avaliação fisioterápica. As medidas foram realizadas numa área de 9cm<sup>2</sup> na face dos antebraços de cada voluntária, à frequência de modulação de 17Hz, utilizando uma lâmpada halógena de tungstênio (24V, 250W) como fonte luminosa. Foram realizadas 4 medidas em cada antebraço, totalizando 30 minutos para cada voluntária. Após assepsia prévia com aplicação de água e sabão, foram realizadas medidas no antebraço direito antes da aplicação do medicamento e em seguida, 3, 10 e 15 minutos após aplicação do medicamento tópico associado à massagem do ultra-som terapêutico com o equipamento desligado. Medidas realizadas no antebraço esquerdo seguiram a mesma seqüência do antebraço direito, porém com o aparelho de ultra-som ligado. Os resultados não mostram diferença significativa entre a absorção do fármaco na pele com e sem o uso do ultra-som.

**Palavras-chave:** pele humana, ultra-som terapêutico, sonoforese, nimesulida, fotoacústica.

# PHOTOACOUSTIC STUDY OF NIMESULID

## APPLIED TO SKIN *IN VIVO*

### ABSTRACT

The photoacoustic effect is obtained in a cell that consisted of a closed receptacle in which a glass window allows light to enter. By non-radioactive deexcitation, the modulated radiation absorbed by the sample is turned into heat which propagates up to the air layer adjacent to the sample, with consequent production of acoustic waves. The photoacoustic technique has been used in the analysis of the human skin as well as in the study of drug penetration into skin. The purpose of this study is to analyze the absorption time for nimesulid in the skin, with and without support from the physiotherapeutic ultra-sound apparatus. The study sample consisted of 16 women, between 20 and 30 years old, of moderate and light brown skin, under physiotherapeutic assessment. Measurements were performed over an area of 9cm<sup>2</sup> in the forearms of the volunteers at a modulation frequency of 17Hz, using a tungstenium halogen lamp (24 V; 250W) as light source. Four measurements were taken on each arm, summing up to 30minutes to each volunteer. Following previous cleaning with soap and water, registers were realized in the right forearm before the drug application and after 3, 10 and 15 minutes of the general drug manipulation associated with the turned off ultra-sound physiotherapeutic equipment massage. Measurements performed on the left forearm followed the same sequence of the right one, but with ultrasound equipment turned on during massage. The obtained results do not show relevant difference between the absorbance of the drug with or without the ultra-sound.

**Keywords :** human skin, therapeutic ultrasound, sonophoresis, nimesulid, photoacoustics.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – As camadas da pele.....	21
FIGURA 2 – Estratos da Epiderme.....	22
FIGURA 3 – Aparelho de Ultra-som Sonopulse Compact, Ibramed.....	61
FIGURA 4 – Ajuste da curva do sinal relativo do fármaco em função do tempo após aplicação da fonoforese.....	67

**LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 - Coeficientes de absorção para 1.0 MHz.....	38
TABELA 2 – Valores médios ( $\pm$ erro padrão) para $t_0$ e $\Delta t$ (em minutos).....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

cm	- centímetro
cm <sup>2</sup>	- centímetro quadrado
°C	- graus Celsius
g	- grama
Hz	- Hertz
kg	- quilograma
MHz/KHz	- Mega Hertz/- KiloHertz
m	- metro
µm	- micrômetro
mL	- mililitro
mm	- milímetro
V	- Volts
W	- Watts
A <sub>RE</sub>	- área de radiação efetiva
IP&D	Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento
SP	São Paulo
SRS	Stanford Research Systems
UNIVAP	Universidade do Vale do Paraíba
<i>e</i>	- 2,718... (base dos logaritmos neperianos)
<i>a</i>	- coeficiente de absorção (cm <sup>-1</sup> )
<i>k</i>	- condutividade térmica
<i>a</i>	- difusividade térmica
<i>r</i>	- distância de propagação
et al	- e colaboradores
<i>I</i>	- intensidade
<i>I</i> <sub>0</sub>	- intensidade em W/cm <sup>2</sup> na superfície do corpo
<i>I</i> ( <i>x</i> )	- intensidade em W/cm <sup>2</sup> à profundidade de <i>x</i> (cm)
>	- maior que
%	- porcentagem
<i>T</i>	- temperatura,
<i>t</i>	- tempo
Δ <i>t</i>	- intervalo de tempo

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 PELE HUMANA.....	18
2.1 Estrutura da pele.....	18
2.2 Camadas da pele.....	18
2.2.1 Epiderme.....	19
2.2.2 Derme.....	22
2.3 Absorção Percutânea.....	23
2.4 Vias de penetração.....	23
2.5 Métodos de estudo .....	24
2.5.1 A técnica <i>in vitro</i> .....	24
2.5.2 Técnica <i>in vivo</i> .....	24
2.6 Fatores de penetração da pele.....	25
2.7 Veículos e penetração da pele.....	26
3 ULTRA-SOM .....	27
3.1 Aparelho de sonoforese .....	31
3.2 Ultra-som contínuo ou pulsado.....	32
3.3 Efeitos do Ultra-som.....	32
3.3.1 Reações Químicas .....	32
3.3.2 Respostas Biológicas .....	32
3.3.3 Efeitos Mecânicos.....	33
3.3.4 Cavitação.....	33

3.3.5 Efeitos Térmicos.....	33
3.3.6 Ondas Estacionárias.....	34
3.4 Orientação para terapia por Ultra-som.....	34
3.5 Dose de Ultra-som.....	34
3.6 Absorção do Ultra-som.....	35
3.7 Transdutores de Ultra-som.....	36
3.8 Indicações do Ultra-som terapêutico.....	36
3.9 Contra-indicações.....	37
4 SONOFORESE.....	38
5 O FÁRMACO.....	40
5.1 Nimesulida.....	41
5.2 Farmacocinética.....	41
5.3 Dados pré-clínicos de segurança.....	42
6 EFEITO FOTOACÚSTICO.....	45
7. OBJETIVO.....	47
8. METODOLOGIA.....	48
8.1 Princípios Éticos e Legais.....	48
8.2 Local.....	48
8.3 Amostra.....	48
8.4 Critérios de inclusão.....	48
8.5 Equipamentos utilizados.....	49
8.5.1 Montagem fotoacústica convencional.....	49
8.5.2 Fármaco utilizado.....	50
8.5.3 Ultra-som .....	50

8.5.4 Papel cartão.....	51
8.5.5 Água e Sabão.....	51
8.5.6 Seringa.....	51
8.5.7 Procedimentos Experimentais.....	52
8.5.8 Riscos.....	53
9. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
10. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ANEXOS.....	66
ANEXO A.....	67
ANEXO B.....	68
ANEXO C.....	70

## 1. INTRODUÇÃO

Em diversos episódios da vida do esportista, é comum a associação de dor e atividade física. A atividade física pode ser praticada por lazer, para obtenção, manutenção ou melhora da saúde e para competição amadora ou profissional. Quanto maior for o nível da prática esportiva, maior será o número de lesões e conseqüentemente a dor e as inflamações poderão se fazer mais presentes (COHEN, 2003).

Um dos princípios do treinamento físico é o princípio da sobrecarga, no qual busca-se a melhora do rendimento submetendo o organismo a uma sobrecarga de exercícios para que haja uma resposta que induzirá uma série de adaptações, o que permitirá que o organismo funcione com maior eficiência. Esta sobrecarga deve ser muito bem administrada e possui como variáveis o volume e a intensidade. Quando se realiza um treinamento onde há um excesso desproporcional de um destes parâmetros, pode-se levar à lesão (EJNISMAN *et al.*, 2001).

São inúmeras as causas de dor e inflamação no esporte de origem músculo-esquelética: lesões tendinosas, lesões ligamentares, lesões musculares, lesões da cartilagem articular, fraturas, luxações, entorses, contusões e, por fim, dor muscular de início tardio (SILVA, 2000).

As afecções mais comuns nos atletas são as lesões musculares e em indivíduos não condicionados é a dor muscular de início tardio. Portanto, os atletas convivem constantemente com a dor, existindo uma relação muito próxima com o alto rendimento (ANDERSON *et al.*, 2000).

Manifestações álgicas são os primeiros sinais de que algo está errado com o corpo do atleta e devem sempre ser investigadas pela equipe médica, que deverá estabelecer as relações do quadro atual com os possíveis fatores que possam levar a uma lesão grave (COHEN *et al.*, 1997).

O atleta é acompanhado pelo fisioterapeuta desde os primeiros momentos em que se utilizam estratégias terapêuticas diversas para auxiliar o controle da dor, como aplicação de gelo, estimulação nervosa elétrica transcutânea (TENS), laser, ultra-som e ainda manipulações musculoesqueléticas.

A tecnologia associada à modificação da liberação de fármacos, ou outras substâncias bioativas, a partir de preparações farmacêuticas sofreu um incremento notório nas últimas décadas na tentativa de maximizar as vantagens inerentes às formas farmacêuticas de liberação controlada (DAS; DAS, 2003).

Atualmente, no Brasil e no mundo inteiro, pode-se encontrar diversos medicamentos para reduzir e/ou eliminar a dor e inflamação da lesão muscular do ser humano.

A associação de antiinflamatórios e miorrelaxantes é frequentemente utilizada nas contusões musculares, lombalgias e em quadros onde a contratura muscular é fator causador da dor. A utilização de antiinflamatórios é importante no controle da dor aguda, sendo empregada nos primeiros dias de tratamento, sempre em associação a outros métodos fisioterápicos, como por exemplo, a aplicação de ultra-som. Com uma indicação criteriosa, pode-se utilizar no controle da dor os antiinflamatórios e analgésicos (tópicos) mais a combinação do ultra-som fisioterápico.

Estudos aplicando as técnicas fototérmicas (como a fotoacústica) são recentes e envolvem a aplicação de substâncias medicamentosas na pele humana e o estudo de sua penetração (BERNENGO *et al.*,1998). A técnica fotoacústica consiste num valioso método para a caracterização de vários tipos de materiais, oferecendo, em muitos casos, significativas vantagens sobre técnicas tradicionais. Por exemplo, a técnica fotoacústica permite analisar materiais biológicos como membranas ou estruturas de tecido que sejam insolúveis ou sofram alterações significativas quando solubilizados, dificultando a

obtenção de dados por técnicas convencionais (BARJA *et al.*, 2005). A técnica fotoacústica possibilita realizar medidas em função do tempo, do comprimento de onda da luz incidente e da frequência de modulação, bem como estudar o perfil de profundidade de uma amostra (BERNENGO *et al.*, 1998).

A Espectroscopia Fotoacústica (PAS, do inglês *Photoacoustic Spectroscopy*) é uma técnica baseada no efeito de mesmo nome, descoberto por Alexander Graham Bell em 1880. O efeito fotoacústico baseia-se na absorção de radiação modulada por uma amostra, gerando calor modulado e conseqüentemente ondas acústicas, que podem ser captadas por um microfone.

O efeito fotoacústico é obtido numa célula constituída por um recipiente fechado (preenchido pelo ar ou outro gás), no qual uma janela de vidro permite a entrada de luz. Um feixe de luz modulada atravessa a janela, atinge a amostra e por ela é absorvida. Por um processo de desexcitação não radiativo, a radiação absorvida é transformada em energia térmica, aquecendo a camada de ar próxima à amostra, com a conseqüente produção de ondas acústicas (ROSENCWAIG; GERSHO, 1976).

A espectroscopia fotoacústica permite a obtenção de espectros de absorção óptica de amostras sólidas, líquidos, gases e semi-sólidas (semi-sólidos incluem pomadas, pastas, emulsões cremosas, géis e espumas rígidas). É uma técnica versátil, que permite a análise de amostras tanto opacas quanto transparentes. A luz espalhada pela amostra não atrapalha as medidas fotoacústicas, pois apenas a luz efetivamente absorvida pela amostra é convertida no sinal desejado. A técnica fotoacústica, na maioria dos casos, não exige preparação rigorosa da amostra; além disso, por ser uma técnica não destrutiva, permite o acompanhamento da mesma amostra quando submetida a tratamentos químicos, térmicos, físicos e outros.

A fotoacústica tem sido utilizada na caracterização da pele humana, bem como no estudo de penetração dos fármacos de uso tópico (ANJOS *et al.*, 2005; ROMPE *et al.*, 2005). O presente estudo visa analisar, através da técnica fotoacústica, o tempo de absorção da nimesulida pela pele com e sem efeito do ultra-som fisioterápico.

## **2. PELE HUMANA**

### **2.1 Estrutura da pele**

A pele ou *cúrtis* é o órgão de revestimento externo do corpo, o maior órgão do corpo humano responsável pela proteção do organismo. Ela é um órgão estratificado que num adulto médio pesa cerca de 3,6 kg excluindo a gordura. Sua espessura varia de 0,5 a 4 milímetros. A pele cobre uma superfície superior a 20.000 cm<sup>2</sup> e possui variadas funções e propriedades, servindo de barreira contra ataques físicos e químicos. Alguns materiais, como os íons de níquel, o gás mostarda e as óleo-resinas do *Rhus toxicodendron* (hera venenosa) podem penetrar esta barreira, mas a maioria das substâncias não consegue fazer isso. A pele atua como um termostato, fornecendo uma eficiente e bem regulada barreira térmica na manutenção da temperatura corporal, evitando a invasão do corpo por microrganismos, protege contra a radiação ultravioleta e desempenha um papel na regulação da pressão sanguínea (JACOB; FRANCONI; LOSSOW, 1990; VALENTE, 1998; LACHMAM; LIEBERMAN; KANING, 2001).

### **2.2 Camadas da pele**

Do ponto de vista anatômico, a pele possui diversas camadas histológicas. Em geral, no entanto, é descrita em termos de duas camadas de tecidos: a epiderme e a derme. Há ainda vários órgãos anexos, como folículos pilosos, glândulas sudoríparas e sebáceas, os vasos sanguíneos e outros, como mostra a figura 1.

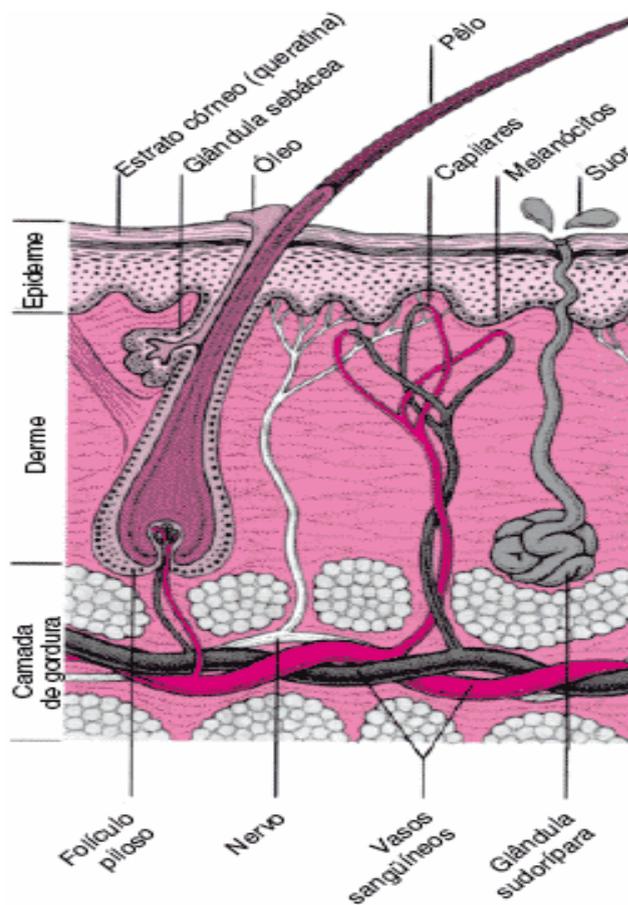


FIGURA 1 – As camadas da pele (Fonte: adaptado de [www.msd-brazil.com/msd43/m\\_manual/mm\\_sec18\\_190.htm](http://www.msd-brazil.com/msd43/m_manual/mm_sec18_190.htm)).

### 2.2.1 Epiderme

A epiderme é uma camada com profundidade diferente conforme a região do corpo. Zonas sujeitas a maior atrito como palmas das mãos e pés têm uma camada mais grossa, e chegam a até 2 mm de espessura (TCHORNOBAY, 1998).

A camada externa ou epidérmica da pele é composta de células epiteliais pavimentosas estratificadas. Ela consiste em cinco camadas, da superfície para regiões mais internas: Estrato córneo (camada cornificada), estrato lúcido (camada clara), estrato granuloso (camada granulosa), estrato espinhoso (camada espinhosa) e estrato germinativo (camada regenerativa), demonstradas na Figura 2 (JACOB; FRANCONI; LOSSOW, 1990).

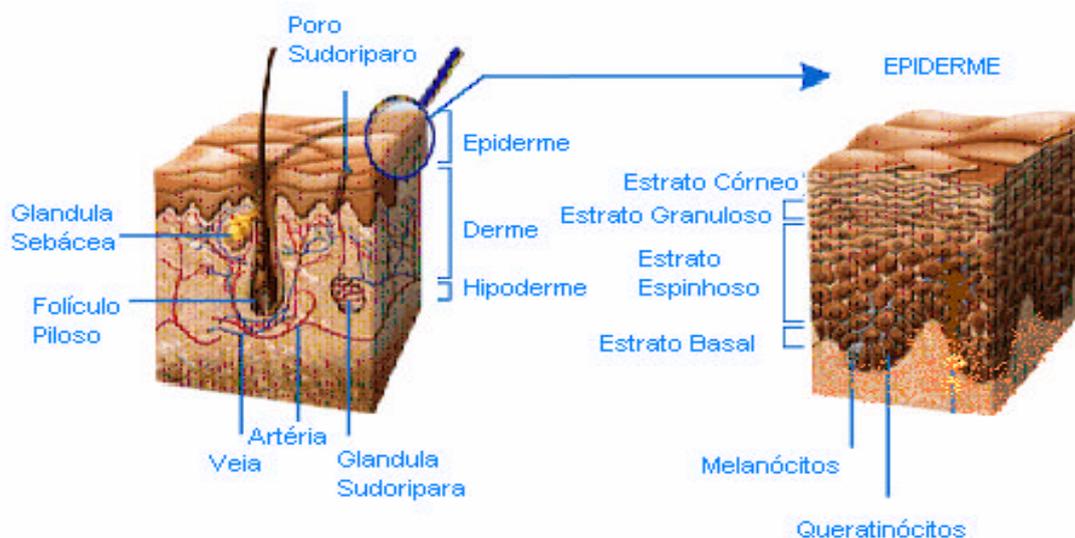


FIGURA 2 – Estratos da Epiderme (Fonte: adaptado de [www.bioderma.com/img/epiderme2.schema.gif](http://www.bioderma.com/img/epiderme2.schema.gif)).

A camada mais externa é o estrato córneo, ou camada córnea, que consiste em células compactadas, mortas, queratinizadas em camadas estratificadas com uma densidade de 1,55. Devido à natureza densa do estrato córneo, os valores dos coeficientes de difusão neste tecido são mil ou mais vezes menores do que em qualquer outro tecido da pele, o que resulta em grande resistência e impermeabilidade geral (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001).

O estrato córneo é a barreira que limita a velocidade e restringe os movimentos de entrada e saída de substâncias químicas. Estruturalmente, o estrato córneo é um tecido heterogêneo composto por células queratinizadas achatadas, a camada externa, a qual está arranjada de forma menos densa do que as adjacentes à camada granular inferior (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001).

O conhecimento da composição química desta barreira é limitado. Os principais componentes celulares são as proteínas, os lipídios e a água, combinados numa estrutura ordenada. Embora os lipídios de superfície ofereçam pouca resistência à passagem de

compostos, estudos de remoção dos lipídios da superfície cutânea indicam que eles participam na função epidérmica da água. A função mais importante da pele humana é agir como uma barreira limitando a perda de água, eletrólitos e outros constituintes do corpo e barrar a absorção percutânea de moléculas nocivas ou indesejáveis do ambiente externo. Essa função é atribuída principalmente ao estrato córneo, impedindo a penetração de compostos altamente hidrofóbicos. Por outro lado, pelo fato do mecanismo de penetração ser difusional, o papel do estrato córneo como uma barreira está intimamente relacionado ao grau de hidratação desta camada da pele; deste modo, um aumento na concentração de água na pele corresponde a um aumento na permeabilidade de compostos topicamente aplicados (MORGANTI *et al.* apud ROMPE, 2005).

A aplicação tópica de medicamentos é de grande relevância no tratamento de algumas patologias, e é o estrato córneo que atua como uma barreira à penetração de drogas por causa da sua estrutura complexa. O estrato córneo, no entanto, não é apenas uma camada inerte, e sim uma barreira ativa que se opõe à penetração de agentes externos ambientais (como os fármacos tópicos) e regula continuamente a perda de água, mantendo a homeostase da pele e de todo corpo humano (MORGANTI *et al.*, apud ANJOS, 2005).

O estrato lúcido, que se dispõe imediatamente abaixo do estrato córneo, não é visualizado em pele pouco espessa. É uma camada com espessura de uma a cinco células, consistindo em células transparentes, achatadas, mortas ou em degeneração, geralmente anucleadas (ROSS; REITH; ROMRELL, 1993).

O estrato granuloso, por sua vez, é formado por três a cinco fileiras de células achatadas, núcleo central e citoplasma carregados de grânulos basófilos, chamados grânulos de querato-hialina, que não são envolvidos por membranas. Esses grânulos contêm uma proteína rica em histidina fosforilada e também proteínas contendo cistina (JUNQUEIRA, 2004).

O estrato espinhoso consiste de várias fileiras de células "espinhosas" de forma poliédrica. As extremidades da célula são espinhosas (daí o nome células espinhosas). Em algumas classificações, esta camada é incluída junto ao estrato germinativo na camada Malpighiana.

O estrato germinativo, a camada mais profunda e mais importante da pele, contém células capazes de sofrer divisão mitótica, responsável pela regeneração da epiderme. Quando novas células são formadas, elas sofrem modificações morfológicas e nucleares à medida que se movem para a camada mais superficial. Simultaneamente estas células dão origem às outras camadas da epiderme (ROSS; REITH; ROMRELL, 1993). É nesse estrato que se situam os melanócitos, células que formam a melanina, pigmento que dá cor à pele.

A epiderme não possui vasos sanguíneos, porque se houvessem vasos na epiderme ela ficaria mais fácil de ser "penetrada" por microorganismos. Os nutrientes e oxigênio chegam à epiderme por difusão a partir de vasos sanguíneos da derme.

### **2.2.2 Derme**

A derme, com espessura de aproximadamente 2 milímetros, constitui a parte principal da massa da pele. A derme consiste de cerca de 80% de proteína numa matriz de mucopolissacáridos (GUIRRO; GUIRRO, 2004).

Disposta imediatamente abaixo da epiderme, a derme é às vezes chamada de pele verdadeira. Ela consiste em tecido conjuntivo contendo fibras colágenas brancas e fibras elásticas amarelas. Na derme estão embebidos vasos sanguíneos, nervos, vasos linfáticos, folículos pilosos e glândulas sudoríparas. A derme é formada por duas camadas que não têm limites nítidos entre si. A mais externa (e mais delgada das duas) é denominada camada papilar, porque as papilas constituem sua parte mais importante. Essa camada estende-se até pouco abaixo da base das papilas, onde é continuada pela camada reticular,

mais espessa, que compreende o restante da derme e tem essa denominação porque as fibras colágenas e os feixes de fibras pelos os quais é formada se entrelaçam formando uma rede (HAM *et al.*, 1944).

A cor rósea da pele origina-se dos vasos existentes na derme. A presença do caroteno é em parte responsável pela cor amarelada da pele (KEDE; SABATOWICH, 2004).

A hipoderme tecnicamente já não faz parte da pele. É constituído por tecido adiposo que protege contra o frio.

### **2.3 Absorção Percutânea**

Enquanto certos fármacos tópicos como emolientes, antimicrobianos e desodorizantes atuam principalmente na superfície da pele, há casos em que a área-alvo reside em camadas inferiores da epiderme ou mesmo na parte superior da derme, o que requer penetração da pele por difusão ou absorção percutânea.

### **2.4 Vias de penetração**

Quando um sistema contendo um fármaco é aplicado topicamente, difunde-se para fora do seu veículo até os tecidos superficiais da pele. Há três portas de entrada potenciais: a região folicular, os ductos sudoríparos ou o estrato córneo intacto entre estes acessórios. As substâncias podem entrar nos ductos e até mesmo nas glândulas, mas aparentemente não há penetração destas áreas para a derme.

A difusão passageira que ocorre pouco após a aplicação de uma substância na superfície da pele demonstra-se ser potencialmente maior através dos acessórios do que através da matriz do estrato córneo. Uma vez que a substância tenha atravessado o estrato córneo, aparentemente não há nenhum impedimento adicional à penetração nas camadas

epidérmicas restantes e derme; há, então, uma entrada direta na circulação através dos capilares. O gradiente de concentração acaba fundamentalmente na camada dérmica no início da circulação. A circulação sistêmica atua como um reservatório para o fármaco. Uma vez na circulação geral, o fármaco é diluído e distribuído rapidamente com pouco aumento da sua concentração sistêmica (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001).

A absorção percutânea é um processo mais complexo, no qual a difusão epidérmica é a primeira fase, e a remoção a partir da derme a segunda. A última depende do fluxo sanguíneo efetivo, do movimento do fluido intersticial, dos linfáticos e possivelmente de outros fatores que se combinem com os constituintes dérmicos.

## **2.5 Métodos de estudo**

### **2.5.1 A técnica *in vitro***

Entre as técnicas *in vitro* para estudar a penetração através da pele, podemos citar o uso de uma célula de difusão em que pele animal ou humana é atada a um suporte e a passagem de compostos da superfície epidérmica para um banho líquido é medida, assim como trabalhos onde compostos são topicamente aplicados a substâncias que simulam as propriedades da pele humana (ROSSI; BARJA, 2006; OLIVEIRA; BARJA, 2006).

### **2.5.2 Técnica *in vivo***

Os principais métodos *in vivo* são técnicas histológicas, uso de marcadores, análise de tecidos e fluidos corporais, e o desenvolvimento de uma resposta biológica. Alterações nos tecidos da pele após a aplicação de diversas substâncias na superfície cutânea podem fornecer informação acerca do tecido específico afetado, de modo que não apenas a absorção como também a via de penetração sejam reveladas. (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001).

É necessário atingir um estado estacionário entre absorção e excreção antes que as medições do agente aplicado possam ser aceitáveis. O uso de agentes tópicos que promovam reação fisiológica ao atingir a derme permite mostrar não apenas a penetração, mas também o tempo requerido para a reação ocorrer.

Vários métodos têm sido usados para estudar a absorção percutânea. Em todos os métodos existem três variáveis: a aplicação do medicamento, o aparelho, e a dose do medicamento. A combinação destas três variáveis conduziu a numerosos métodos e a comparação de resultados é difícil (TREGGAR, 1964; TREGGAR, 1966).

## **2.6 Fatores de penetração da pele**

Os fatores que influenciam a penetração da pele são fundamentalmente os mesmos que afetam a absorção gastrointestinal, a velocidade de difusão dependendo primariamente das características físico-químicas do fármaco e apenas secundariamente do veículo, do pH e da concentração. Diferentes variáveis fisiológicas envolvem a condição da pele, isto é, se a pele está intacta ou danificada, a idade da pele, a área de pele tratada, a espessura da barreira de pele, a variação da espécie e o conteúdo de água da pele (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001).

O principal fator físico-químico de penetração na pele é o estado de hidratação do estrato córneo, o que afeta a velocidade de passagem de todas as substâncias que penetram na pele. A temperatura da pele e a concentração do fármaco desempenham papéis importantes, mas secundários ao da hidratação.

A solubilidade do fármaco determina a concentração apresentada ao sítio de absorção, e o coeficiente de partilha água/lípido influencia a velocidade de transporte. Parece existir uma relação inversa entre a velocidade de absorção e o peso molecular.

Moléculas pequenas penetram mais rapidamente do que moléculas grandes, mas dentro de um limite estreito de tamanho molecular, há pouca correlação entre tamanho e a velocidade de penetração (TREGGAR, 1964; TREGGAR, 1966).

## **2.7 Veículos e penetração da pele**

A eficiência de vários tipos de veículos na promoção da penetração pode ser razoavelmente antecipada pela maneira como o veículo altera a atividade da água no estrato córneo. As gorduras e os óleos são os veículos mais oclusivos e induzem a maior hidratação através da acumulação do suor na interface pele-veículo. Os veículos também podem afetar a penetração através da sua capacidade de reduzir a perda de vapor de água na superfície da pele (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001).

Várias substâncias têm sido estudadas experimentalmente na tentativa de aumentar a velocidade de absorção de fármacos aplicados topicamente.

### 3. ULTRA-SOM

Há mais de trinta anos que o ultra-som é amplamente usado por profissionais da área médica (LEHMANN, 1978). As ondas acústicas consistem de vibrações mecânicas num meio elástico. A faixa de frequência das ondas acústicas que o ouvido humano consegue detectar está compreendida aproximadamente entre 20Hz e 20.000Hz. Frequências abaixo de 20Hz são os sub-sons ou infra-sons e acima de 20.000Hz são os ultra-sons. A frequência de uma onda de ultra-som é o número de vezes em que se repetem zonas de compressão ou zonas de rarefação por segundo. A unidade de frequência é o Hertz (Hz), sendo mais utilizados em ultra-som as unidades derivadas KHz (1.000Hz) e MHz (1.000.000Hz). Assim, a frequência empregada em terapia por ultra-som vai de 800KHz, de ação mais profunda, a 3 MHz, de ação mais superficial (SITCHEN; BAZIM, 1998).

O ultra-som é gerado por um transdutor que transforma energia elétrica em energia mecânica sob a forma de oscilação, gerando ondas acústicas através do efeito piezoelétrico. À medida que a cerâmica piezoelétrica do cabeçote do aparelho se desloca para frente e para trás, forma uma onda ultra-sônica que se propaga no tecido (TER HAAR, 1998).

Piezoelasticidade é a propriedade que têm alguns tipos de cristais de produzir polarização elétrica quando há aplicação de uma pressão mecânica sobre o cristal. O efeito oposto também é observado, com a geração de uma deformação mecânica (mudança de espessura do material) devido à aplicação de uma diferença de potencial elétrico através do cristal (SCALASSARA, 2003).

Assim, se uma diferença de potencial elétrico oscilatória for aplicada através do cristal, este irá alternativamente ficar mais espesso e mais delgado em comparação com sua espessura em repouso, acompanhando a polaridade da tensão aplicada. À medida que a face frontal do transdutor se desloca para trás e para frente, regiões de compressão e

rarefação se afastam desta parte, formando uma onda ultra-sônica (KITCHEN; BAZIM, 1998). O material piezoelétrico mais comumente utilizado nos transdutores empregados na fisioterapia é o zirconato- titanato de chumbo (PZT). É necessário que as dimensões, principalmente a espessura, do cristal sejam adequadas de maneira que o cristal possa ressoar na frequência selecionada, alcançando o máximo de vibração (LOW; REED, 2001).

O ultra-som é muito utilizado na prática clínica em fisioterapia. Há diversos estudos publicados sobre sua eficácia em diversas doenças tratadas pela fisioterapia. Por outro lado, trabalhos de caracterização das ondas acústicas produzidas pelo equipamento de ultra-som mostram que a maioria dos equipamentos apresenta um ou mais parâmetros fora de calibração (VALENTINI *et al.*, 2006).

Assim, a discussão sobre a eficácia do ultra-som terapêutico no tratamento de lesões deve começar com a preocupação se os aparelhos utilizados estão ou não calibrados. Para descobrir se o aparelho de ultra-som está calibrado é necessário avaliar o campo acústico gerado pelo transdutor. Para isso, muitas técnicas podem ser utilizadas. A norma vigente no Brasil para avaliação de campo acústico é a NBR- IEC 1689, que especifica métodos e características do desempenho de equipamentos fisioterapêuticos.

O ultra-som é transmitido na forma de onda longitudinal, onda transversal ou de onda de superfície.

Ondas longitudinais estão na direção da propagação das ondas ultra-sônicas e são transportadas em meios líquidos não viscosos.

Ondas transversais são ondas que se propagam em meios sólidos (em torno do perióstio) e a movimentação de partículas ocorre perpendicularmente à direção da propagação do feixe de ondas ultra-sonoras.

Ondas estacionárias decorrem da sobreposição das ondas ultra-sônicas refletidas do músculo/osso ou tecidos moles/ar, sobre as ondas incidentes (meios com impedâncias diferentes). As ondas são refratadas nas áreas limítrofes de diferentes impedâncias acústicas, desviando sua direção no chamado ângulo de refração. Para evitar/minimizar a ocorrência de superaquecimento e destruição de células epiteliais e sanguíneas, movimenta-se continuamente o transdutor.

No tecido biológico, a principal forma de propagação é a longitudinal, onde a agitação das partículas se dá paralelamente à direção de propagação de onda, constituindo zonas de compressão e rarefação (BISSCHOP *et al.*, 2001; KAHN, 2001). Nas zonas de compressão ocorre um aumento da pressão em relação ao valor de equilíbrio, enquanto nas zonas de rarefação ocorre uma diminuição na pressão em relação ao valor de equilíbrio.

Como todos os tipos de onda, as ondas ultra-sônicas podem ser caracterizadas em termos de comprimento, amplitude, período e frequência.

A frequência do transdutor depende da frequência de ressonância da cerâmica piezoelétrica localizada no cabeçote do transdutor ultra-sônico. A frequência de ressonância da cerâmica piezoelétrica está intimamente relacionada com os materiais que a compõe e com a espessura da cerâmica.

Estas ondas ultra-sônicas podem ser contínuas ou pulsadas. No ultra-som contínuo, não há pausa na emissão das ondas ultra-sônicas. No ultra-som pulsado, ocorre pausa entre os feixes de ondas ultra-sônicas, permitindo que os tecidos tenham tempo de dissipar o calor recebido. Isso minimiza o acúmulo de energia térmica, gerando quase que exclusivamente efeito mecânico (atérmico) no local (HOOGLAND, 1986; MEIDAN *et al.*, 1999).

A intensidade da emissão do ultra-som é expressa em  $W/cm^2$  e determinada pela potência do gerador e pela área da cabeça emissora, dividindo-se a potência pela área (TER

HAAR, 1998). A queda do nível de energia depende, do meio condutor: no ar, por exemplo, cai rapidamente. Deste modo, quando um paciente está sob tratamento, deve-se garantir a inexistência de ar entre o transdutor e a pele. Por esse motivo, para transmitir potência suficiente para os tecidos biológicos, é necessário utilizar um meio de contato (meio acoplador) como água ou um lubrificante pastoso como vaselina ou óleo mineral. Normalmente, antes do tratamento aplica-se à pele uma fina camada de óleo ou gel para atuar como acoplador. O requisito principal para que o agente sirva como meio de acoplamento é que ele tenha uma impedância acústica similar à da pele. Óleos minerais e géis de base aquosa são os meios de acoplamento de uso mais comum (KITCHEN; BAZIM, 1998).

A área de radiação efetiva do cabeçote aplicador ( $A_{RE}$ ) é a região na face do transdutor que realmente emite campo ultra-sônico. Esta área não é igual à área da face do cabeçote aplicador e nem sempre é igual à área da cerâmica piezoelétrica, pois quando a cerâmica vibra, as estruturas próximas a ela também vibram, podendo emitir energia ultra-sônica. Este efeito é conhecido como efeito de borda. A intensidade efetiva do ultra-som é dada pela razão entre a potência de saída declarada pela área de radiação efetiva. Em aplicações terapêuticas, esta intensidade nunca pode ser superior a  $3,0W/cm^2$  (VALENTINI *et al.*, 2006).

As ondas ultra-sônicas são absorvidas pelos tecidos e transformadas em calor, ocorrendo principalmente em nível molecular, sendo as proteínas os tecidos que mais absorvem. A absorção depende da impedância do meio, da frequência do ultra-som e da quantidade de proteína dos tecidos. A vibração, atrito e fricção molecular (energia cinética) são absorvidos pelos tecidos e transformados em calor (VALENTINI, 2006).

Ao passar de um meio para outro, as ondas ultra-sônicas podem sofrer reflexão, refração, absorção, ocorrendo diferentes graus em cada um desses atenuadores,

dependendo das impedâncias e índices de absorção de cada meio. A transmissão das ondas ultra-sônicas ocorre em maior quantidade quando as impedâncias acústicas dos dois meios estiverem mais próximas (casamento de impedância) e quanto mais diferentes forem às impedâncias, maior será a reflexão. São refletidas ao incidirem sobre estruturas, como osso, pele sem acoplamento, ou ainda, estruturas lisas e compactas, como os metais e principalmente o ar. As ondas sofrem reflexão de 99,73% na interface ar/pele; o uso de um meio acoplador (gel) na interface transdutor/pele evita esta reflexão. Nas estruturas ósseas, aproximadamente 30% das ondas ultra-sônica são refletidas. A reflexão nos tecidos moles/ar é de 99,73% (aquecimento local) (KITCHEN; BAZIM, 1998).

O efeito térmico do ultra-som decorre da absorção das ondas ultra-sônicas pelo tecido e sua transformação em calor, gerando vibração celular e de suas partículas; o atrito provocado gera o efeito térmico.

O ultra-som produz aumento da permeabilidade da membrana celular ao cálcio, que devido ao aumento intracelular rompe o mastócito, liberando histamina e produzindo vasodilatação. Os movimentos peristálticos, dos vasos, aumentam cerca de dez vezes ao serem estimulados pelo ultra-som.

### **3.1 Aparelho de sonoforese**

Utilizou-se um equipamento microcontrolado destinado a todos os tipos de terapia por ultra-som. Este equipamento deve ser operado somente por profissionais qualificados e dentro dos departamentos médicos devidamente credenciados.

Não está previsto o uso do ultra-som em unidade em locais onde exista risco de explosão, tais como departamentos de anestesia. Se o paciente, o equipamento e/ou cabos de conexão estiverem ligados próximos à zona de influência do emissor de um aparelho cirúrgico de alta frequência, aparelho de diatermia por ondas curtas ou micro ondas, não

está descartado a possibilidade de perigo ao paciente. Normalmente é suficiente uma distância de aproximadamente 2 a 3 metros (IBRAMED, 2004).

### **3.2 Ultra-som contínuo ou pulsado**

O uso do ultra-som pulsado em vez de ultra-som contínuo resulta numa redução média do aquecimento dos tecidos, porém, conservando o mesmo nível instantâneo da estimulação mecânica no tecido. Isto permite o aumento dos efeitos não térmicos do ultra-som nos tecidos (PATRICK, 1978).

Na terapia por ultra-som contínuo a energia emitida pelo transdutor produz um contínuo incremento no aquecimento dos tecidos e o tratamento pode tornar-se intolerável para o paciente, principalmente nos casos de traumas mais agudos e recentes, onde o ultra-som pode ser bastante eficaz. Na terapia por ultra-som pulsado são gerados pelo transdutor pulsos de onda de determinados períodos, os quais emitem energia de forma periódica, onde, através do tempo de repouso entre os pulsos permite-se que a circulação sanguínea esfrie a área tratada, impedindo um excesso de aquecimento. Sendo assim, temos efeitos fisiológicos resultantes de um processo não térmico.

### **3.3 Efeitos do Ultra-som**

**3.3.1 Reações Químicas** - As vibrações do ultra-som estimulam o tecido a aumentar as reações e os processos químicos locais, assegurando a circulação dos elementos e radicais necessários por recombinação.

**3.3.2 Respostas Biológicas** – O ultra-som aumenta a permeabilidade das membranas, o que acentua a transferência dos fluidos e nutrientes aos tecidos. Isso é importante no processo de sonoforese, onde moléculas são literalmente “empurradas” através da pele pela onda sonora com finalidades terapêuticas.

**3.3.3 Efeitos Mecânicos** - Em consequência das vibrações longitudinais, um gradiente de pressão é desenvolvido nas células individuais. Como resultado desta variação de pressão positiva e negativa, elementos da célula são obrigados a se mover, sofrendo assim o efeito conhecido por micro massagem. Este efeito aumenta o metabolismo celular, o fluxo sanguíneo e o suprimento de oxigênio.

**3.3.4 Cavitação** - Irradiar ultra-som em líquidos leva à formação de bolhas de  $10^{-6}$ m de diâmetro. Sob a ação do campo ultra-sônico, essas bolhas aumentam e diminuem de tamanho (Cavitação Estável), ou podem colapsar (Cavitação Transitória). Ambos os tipos de cavitação produzem movimento nos líquidos ao redor da bolha. A cavitação estável pode ser terapêutica e a transitória pode causar danos aos tecidos.

A vibração em alta frequência do ultra-som deforma a estrutura molecular das substâncias não fortemente unidas. Esse fenômeno é terapeuticamente útil para produzir efeitos esclerolíticos, na tentativa de reduzir espasmos, aumentar a amplitude de movimentos devido à ação em tecidos aderidos e quebrar depósitos de cálcio, mobilizando aderências, tecidos cicatriciais, etc. Se usado nos extremos de potência ou duração, este mecanismo deformador pode destruir a molécula das substâncias (KITCHEN; BAZIM, 1998).

**3.3.5 Efeitos Térmicos** - Ao lado da micro massagem, ocorre uma elevação na temperatura resultante da conversão de energia cinética em calor pelos tecidos. Este efeito pode produzir um aumento na extensibilidade do colágeno, sendo portanto recomendado para a terapêutica de patologias causadas pela contração dos tendões, ligamentos e juntas capsulares. Onde há limitações de movimento, o tratamento é muito recomendado. No entanto, deve-se lembrar que a formação de calor a partir do ultra-som ocorre nos tecidos que estão localizados diretamente sob o transdutor. Como a técnica recomendada é manter o transdutor em movimento durante o tratamento, é improvável que ocorra aquecimento

terapêutico apreciável. Um aquecimento indesejável, contudo, poderá ocorrer se não houver movimento do transdutor ou se a intensidade for muito alta. O ultra-som pulsado oferece ao clínico uma técnica com menor risco de formação de calor. A experiência clínica indica que uma sensação de calor de superfície deve servir como um aviso para impedir uma super dosagem. Um transdutor “quente” não é somente desconfortável para o paciente, mas pode ser também um sinal de perigo eminente (IBRAMED, 2004).

**3.3.6 Ondas Estacionárias** - Estas ondas são fruto da interação entre a onda refletida e a onda incidente, o que cria áreas de alta densidade num ponto específico do tecido. Evita-se a formação dessas ondas através do movimento contínuo e adequado do transdutor (IBRAMED, 2004).

### **3.4 Orientação para terapia por Ultra-som**

A área a ser tratada, segundo Lehmann, (1978) deve ser de aproximadamente 75 a 100 cm<sup>2</sup>, utilizando-se o tempo de 1 minuto por cm<sup>2</sup>. A duração máxima de tratamento não deve exceder a 15 minutos por terapia. Tempos maiores não aceleram nem fazem ocorrer efeitos específicos desejáveis.

Para determinarmos a intensidade, devemos fazer uma avaliação do local afetado, levando em consideração que o ultra-som sofre uma perda de energia no seu trajeto e portanto a requerida intensidade deve, às vezes, ser maior nas superfícies dos tecidos, especialmente na pele, conectivos subcutâneos e camadas musculares superficiais (IBRAMED, 2004).

### **3.5 Dose de Ultra -som**

A dose é o produto da intensidade pelo tempo de duração do tratamento:

$$\text{DOSE} = I \times T \qquad \text{(Equação 3.5 - 1)}$$

### 3.6 Absorção do Ultra-som

A intensidade do ultra-som diminui progressivamente à medida que este penetra e é absorvido pelos tecidos biológicos. O coeficiente de absorção é usado como medida da absorção em diversos órgãos.

Para ondas longitudinais e incidência perpendicular podemos usar a fórmula :

$$I(x) = I_0 \cdot e^{-a \cdot x} \quad (\text{Equação 3.6 - 1})$$

onde :

$I(x)$  = intensidade em  $W/cm^2$  à profundidade de  $x$  (cm)

$I_0$  = intensidade em  $W/cm^2$  na superfície do corpo

$e = 2,718...$  (base dos logaritmos naturais ou neperianos)

$a$  = coeficiente de absorção ( $cm^{-1}$ )

TABELA 1 - Coeficientes de absorção (  $a$  ) para 1,0 MHz

<b>MEIO</b>	<b>COEFICIENTE DE ABSORÇÃO</b> (para $f = 1$ MHz)
Sangue	0,028
Vasos Sangüíneos	0,4
Tecido Ósseo	3,22
Pele	0,62
Cartilagem	1,16
Ar (20° C)	2,76
Tendão	1,12
Tecido Muscular (feixe perpendicular)	0,76
Tecido Muscular (feixe paralelo)	0,28
Gordura	0,14
Água (20° C)	0,0006
Tecido Nervoso	0,2

Fonte: (manual IBRAMED, 2004).

### **3.7 Transdutores de Ultra-som**

Transdutor é um dispositivo que transforma um tipo de energia em outro. O transdutor ultra-sônico transforma energia elétrica em energia mecânica (acústica). Esses dispositivos utilizam cristais piezoelétricos, e quando recebem corrente alternada apropriada geram ondas de ultra-som na frequência determinada pelo cristal. Esse transdutor estará então emitindo (gerando) o que chamamos de campo acústico, que é caracterizado por duas regiões:

- 1) Campo Próximo (região de Fresnel), cilíndrico.
- 2) Campo Distante (região de Fraunhofer), cônico.

O comprimento do campo próximo depende do diâmetro do transdutor e da frequência do ultra-som. Nas aplicações terapêuticas, a distância entre a pele e a face de alumínio é da ordem de alguns milímetros, dentro da região de campo próximo.

### **3.8 Indicações do Ultra-som terapêutico**

O ultra-som tem sido usado como terapia adjunta nos seguintes casos gerais: artroses (grandes e pequenas articulações), atrofia de Sudeck, bursites, celulite, ciáticas claudicação, coccigonídias, doença de Raynaud, Herpes Zoster, lumbago, mialgias, mielites, miosites, neurites, neuralgia intercostal, periartrites crônicas, prostatites, radiculites, reumatismos diversos, síndrome de escaleno, sinusite frontal, sinusite maxilar, tenovaginites, úlcera.

#### **Casos comuns encontrados em atletas:**

Aderências, artrites, bursites, ciáticas, cicatrizes, contusões, distensões, edemas, neurites, torcicolos, traumatismos.

### **3.9 Contra-indicações**

Não se deve utilizar ultra-som sobre: áreas de tromboflebite, áreas pós-operatórias, áreas tratadas por radioterapia, cérebro, coração, portadores de marcapasso, globo ocular, infecções agudas, órgãos reprodutores, tumores, útero (na gravidez).

#### 4. SONOFORESE

A sonoforese consiste na combinação de terapia ultra-sônica com aplicação tópica de um fármaco a fim de alcançar concentrações terapêuticas em locais selecionados ou abaixo da pele, sendo utilizada para aumentar a permeabilidade de fármacos aplicados topicamente. (TACHIBANA; TACHIBANA, 1999). O primeiro relato da sonoforese aconteceu em 1954, quando Fellingner e Schmid relataram a utilização clínica de ultra-som terapêutico para auxiliar a penetração de um fármaco em tecido biológico(FELLINGER; SCHMID, APUD TACHIBANA; TACHIBANA, 1999).

Ao interagir com o tecido biológico, o ultra-som gera diversos mecanismos potenciais que podem favorecer a penetração de uma substância, como aquecimento, pressão de radiação, cavitação e microcorrentes acústicas (HOOGLAND, 1986; MEIDAN *et al.*, 1999). Destes, acredita-se que o principal mecanismo auxiliador na deposição da droga é o fenômeno da cavitação, que resulta na formação de microbolhas gasosas na camada externa da pele (estrato córneo). Estas microbolhas podem romper-se, permitindo a passagem da droga devido à possível desorganização da região lipídica da camada córnea (MITRAGOTRI *et al.*, 1995 a, b FANG *et al.*, 1999; MILLER, 2000), que aumentaria sua permeabilidade.

O fenômeno da cavitação aumenta com a frequência do ultra-som, sendo demonstrado de forma clara em suspensões de células em meio líquido.

Diversos estudos vêm sendo feitos com várias drogas, usando diferentes dispositivos e condições de ultra-som em termos de intensidade, frequência (MITRAGOTRI *et al.*, 1995 a,b), duração e modo (contínuo ou pulsado).

A eficiência da sonoforese depende das características da substância a ser aplicada. A absorção do ultra-som depende do peso molecular e das propriedades físicas da

substância. Quanto maior o peso molecular, maior o conteúdo protéico e portanto maior a atenuação da radiação do ultra-som (MEIDAN *et al.*, 1999).

Em muitos casos, a sonoforese apresenta vantagens sobre outros métodos de administração de drogas, como a oral, a intramuscular e a endovenosa. Comparada à administração oral de medicamentos, a sonoforese evita a agressão ao trato gastrintestinal, cujos efeitos colaterais associados são bem conhecidos. Além disso, a sonoforese evita o medo e a dor associados às injeções intramuscular e endovenosa.

A deposição de drogas pelo ultra-som é um tipo de aplicação clínica que vem ganhando força. Em particular, o ultra-som na fisioterapia vem sendo amplamente utilizado em associação com agentes antiinflamatórios. No entanto, em geral os tratamentos relatados não fornecem dados quantitativos. Por isto, alguns autores têm discutido a eficácia da sonoforese (GAM; JOHANNSEN, 1995; VAN DER WINDT *et al.*, 1999; ROBERTSON; BAKER, 2001), sugerindo estudos mais controlados.

## 5 O FÁRMACO

O objeto da farmacologia é amplo e abarca o conhecimento da fonte, das propriedades físicas e químicas, dos compostos, das ações fisiológicas, da absorção, do destino e da excreção, bem como do uso terapêutico dos fármacos. Um fármaco pode ser amplamente definido como qualquer agente químico que age no protoplasma vivo, e poucas substâncias fogem à inclusão por esta definição (GILMAM, 2003).

A absorção, a distribuição, o metabolismo e a excreção de um fármaco envolvem sua passagem através das membranas celulares. Os mecanismos pelos quais os fármacos atravessam as membranas e as propriedades físico-químicas das moléculas e das membranas que influenciam essa transferência são, portanto, importantes (CULLEN, 1998).

Quando uma substância penetra na célula, ela evidentemente tem de atravessar a membrana plasmática celular. Outras barreiras ao movimento dos fármacos podem ser uma única camada celular ou várias camadas celulares (pele).

A pele exerce muitas funções essenciais, como proteção, regulação térmica, resposta imunológica, síntese bioquímica, detecção sensorial e comunicações social e sexual. O tratamento para corrigir a disfunção de qualquer uma dessas atividades pode ser administrado por vias tópica, sistêmica, intralesional ou por meio de radiação ultravioleta.

O tratamento tópico é um método terapêutico conveniente porem sua eficácia depende de conhecimento da função da barreira da pele, primariamente no estrato córneo.

Poucos fármacos penetram rapidamente na pele íntegra. A absorção dos que o fazem depende da área de superfície sobre a qual são aplicados e de sua lipossolubilidade, já que a epiderme se comporta como uma barreira lipídica. A derme, no entanto, é livremente permeável a muitos solutos; conseqüentemente, a absorção sistêmica dos fármacos ocorre muito mais rapidamente através da pele irritada, queimada ou exposta

(BJARNASON; THJODLEIFSSON, 1999). A inflamação e outras condições que aumentam o fluxo sanguíneo cutâneo também aumentam a absorção.

### **5.1 Nimesulida**

A Nimesulida é um fármaco antiinflamatório não esteróide que pertence à classe das sulfonilidas, que age, principalmente, através da inibição seletiva da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) (BJARNASON; THJODLEIFSSON, 1999). Ela mostra alta atividade antiinflamatória, antipirética e analgésica, associada à baixa toxicidade. Devido aos efeitos colaterais associados com administrações orais e parenterais, formulações tópicas têm sido desenvolvidas. Estudos mostraram que o gel de nimesulida promoveu significativa atividade analgésica, quando aplicado topicamente. Contudo, a influência do veículo da absorção percutânea de nimesulida não foi investigada. O objetivo deste estudo é analisar através da técnica de fotoacústica o tempo de absorção da nimesulida pela pele (in vivo) com e sem efeito do ultra-som fisioterápico.

### **5.2 Farmacocinética**

Quando a nimesulida gel é aplicada topicamente, as concentrações plasmáticas de nimesulida são muito baixas em comparação com aquelas alcançadas após a administração oral. Após uma única aplicação de 200 mg de nimesulida, na forma gel, o maior nível plasmático encontrado foi de 9,77 ng/ml, após 24 horas. Não foi detectado vestígio do metabólito principal, hidroxinimesulida. Embora a absorção sistêmica seja reduzida após a aplicação tópica de nimesulida gel, a nimesulida tem uma boa e rápida absorção pela pele. A quantidade de nimesulida absorvida pela pele é proporcional ao tempo de contato e à área de aplicação, dependendo também da dose tópica total e da hidratação da pele. A nimesulida é metabolizada no fígado e o seu principal metabólito, hidroxinimesulida,

também é farmacologicamente ativo. Sua eliminação é predominantemente renal (65%), não dando origem a fenômenos de acúmulo mesmo após administrações repetidas. Sua meia-vida de eliminação é de 274,97 minutos para o gel a 2%.

A biodisponibilidade da forma gel em relação à forma oral é de 20% para o gel a 2%. Esta baixa biodisponibilidade permite obter um ótimo efeito local, sem a incidência de efeitos sistêmicos.

Nimesulida gel exerce um controle eficaz sobre os efeitos nocivos das oxidases produzidas pelos neutrófilos nos sítios de inflamação, permitindo o ajuste individual da dose e a redução da dose de antiinflamatório que se administra por via oral.

Nimesulida gel alivia a dor, diminui o edema e reduz o tempo de recuperação da área afetada.

### **5.3 Dados pré-clínicos de segurança**

Foram testados a tolerância local e o potencial de irritação e sensibilização da nimesulida gel em vários reconhecidos modelos em animais. Os resultados destes estudos indicam que a nimesulida gel é bem tolerada.

Dados pré-clínicos para nimesulida administrada sistemicamente não revelam nenhum risco especial para humanos com base em estudos convencionais de farmacologia de segurança, toxicidade de dose múltipla. Em estudos de dose múltipla, a nimesulida mostrou toxicidade gastrointestinal, renal e hepática.

Inibe a ativação dos neutrófilos e exhibe propriedades antioxidantes. Constatou-se que a nimesulida é um inibidor seletivo da COX-2 in vivo em seres humanos nas doses clinicamente recomendadas (CULLEN *et al.*, 1998).

A ciclooxigenase (COX) apresenta-se em duas formas isoenzimáticas: a ciclooxigenase tipo 1 (COX-1) e a ciclooxigenase tipo 2 (COX-2).

A COX-1 encontra-se nas plaquetas, rins, intestino e mucosa gástrica, exercendo uma função importante de proteção fisiológica.

A COX-2 está presente em pequenas quantidades nos tecidos, tendo sua concentração significativamente aumentada em consequência de estímulos inflamatórios.

Os antiinflamatórios não-esteroidais convencionais inibem a COX-1 e COX-2, inespecificamente. A nimesulida inibe seletivamente a COX-2, assegurando a eficácia nos processos inflamatórios dolorosos devido a manutenção das prostaglandinas produzidas com função de proteção fisiológica a nível gástrico, plaquetário e renal. Tendo, por isso, maior tolerabilidade em comparação aos antiinflamatórios não-esteroidais tradicionais.

Após a aplicação tópica, a nimesulida penetra rapidamente pela epiderme, sendo a quantidade de nimesulida absorvida pela pele proporcional ao tempo de contato e da área e aplicação, dependendo também da dose utilizada e hidratação da pele.

A aplicação tópica proporciona baixa biodisponibilidade da nimesulida, alcançando concentração plasmática máxima de, aproximadamente, 0,24 mg/l em 80 minutos. Esta baixa absorção permite obter ótimo efeito local, sem a incidência de efeitos sistêmicos. A meia-vida de eliminação da nimesulida é de, aproximadamente, 3,5 horas. Apresenta metabolização hepática, onde é biotransformada a hidroxinimesulida, um metabólito ativo.

A nimesulida e seus metabólitos são eliminados pelas fezes e urina. A baixa concentração sistêmica obtida com a aplicação tópica, permite o tratamento associado com a administração oral da nimesulida ou outros antiinflamatórios não-esteroidais.

Além disso, foi demonstrado que a nimesulida possui muitas outras propriedades bioquímicas que provavelmente são responsáveis pelas suas propriedades clínicas. Estas incluem: inibição da fosfodiesterase tipo IV, redução da formação do ânion superóxido ( $O_2^-$ ), 'scavenging' do ácido hipoclorídrico, inibição de proteinases (elastase, collagenase), prevenção da inativação do inibidor da alfa-1-protease, inibição da liberação de histamina dos basófilos e mastócitos humanos e inibição da atividade da histamina.

## 6 EFEITO FOTOACÚSTICO

O efeito fotoacústico foi descoberto por Graham Bell em 1880, ao perceber que a incidência de luz modulada em uma superfície sólida em forma de diafragma produzia som (BARJA *et al.*, 2005).

O efeito fotoacústico é obtido em uma célula que é constituída por um recipiente fechado, preenchido por um gás (em geral o ar), no qual uma janela permite a entrada de luz. Um feixe de luz modulada atravessa a janela, atingindo a amostra direta ou indiretamente. Por um processo de desexcitação não radiativo, a radiação absorvida é transformada em energia térmica, com a conseqüente produção de ondas acústicas (ROSENCWAIG; GERSHO, 1976).

O principal mecanismo de geração do sinal fotoacústico no presente trabalho é o de difusão térmica, matematicamente descrito por Rosencwaig e Gersho (1976) e também conhecido como mecanismo de “pistão acústico”. De acordo com o modelo proposto por estes pesquisadores, apenas uma fina camada de gás, ao redor da amostra, responde termicamente às variações de temperatura da amostra. Esta camada de gás mais próxima sofre um processo de contração e expansão periódica, funcionando como um pistão vibratório no restante da coluna de gás e desta forma gerando ondas acústicas (sinal fotoacústico). Este sinal, que possui amplitude e fase, é enviado para o amplificador síncrono, cuja função é amplificar os componentes do sinal que possuem a mesma frequência de modulação do sinal de referência, minimizando os ruídos.

A técnica fotoacústica permite analisar materiais biológicos como membranas, amostras ósseas ou estruturas de tecido que são insolúveis ou sofrem alterações significativas quando solubilizados, dificultando a obtenção de dados por técnicas convencionais. A técnica fotoacústica possibilita realizar medidas em função do tempo, do

comprimento de onda da luz incidente e da frequência de modulação, bem como estudar o perfil de profundidade de uma amostra (BERNENGO *et al.*, 1998).

A solução matemática para as variações de temperatura na amostra absorvedora e na camada de ar adjacente mostra que ela se comporta como uma onda evanescente espacial, diminuindo exponencialmente com a distância relativa ao ponto de absorção da luz. Isto permite definir o chamado comprimento de difusão térmica (distância a partir da superfície em que a variação de temperatura cai a  $1/e$  do valor da superfície), bem como dois regimes térmicos: se o comprimento de difusão térmica for maior que a espessura do material, diz-se que o regime é termicamente fino; caso contrário, o regime é chamado de termicamente grosso. O comprimento de difusão térmica depende da frequência de modulação da luz, de tal modo que o aumento da frequência de modulação permite passar do regime termicamente fino para o regime termicamente grosso (Barja *et al.* apud OLIVEIRA, 2006). Assim, a técnica permite estudar o perfil de profundidade de uma amostra, o que é de grande valia quando se deseja caracterizar amostras multicamadas, como a pele humana e outros materiais biológicos.

A espectroscopia fotoacústica permite a obtenção de espectros de absorção óptica de diversos tipos de amostras e, na maioria dos casos, dispensa a preparação prévia da amostra (PUC CETI; LEBLANC, 1996). Além disso, por ser uma técnica não destrutiva, permite o acompanhamento da mesma amostra quando submetida a tratamentos químicos, térmicos, físicos e outros.

A fotoacústica tem sido utilizada na caracterização da pele humana, bem como no estudo de penetração dos fármacos de uso tópico através da pele, tanto *in vitro* como *in vivo* (ANJOS *et al.*, 2005; ROMPE *et al.*, 2005; SEHN *et al.*, 2003). O presente estudo visa analisar o uso da nimesulida associada ao ultra-som através da fotoacústica.

## **7 OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho é analisar comparativamente, através de medidas fotoacústicas, o tempo de absorção da nimesulida pela pele com e sem efeito do ultra-som fisioterápico, a fim de verificar se este auxilia efetivamente a absorção da nimesulida.

## **8. METODOLOGIA**

### **8.1 Princípios Éticos e Legais**

O estudo configurou-se como um método experimental direto para analisar o tempo de absorção de um antiinflamatório e analgésico disponível comercialmente, após aplicação tópica. O Trabalho foi iniciado após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento - IP&D da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP) e após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos responsáveis (Anexo I). Foi mantido sigilo sobre a identidade dos voluntários envolvidos na pesquisa. Os procedimentos realizados são procedimentos já realizados na prática clínica e não oferecem riscos às pessoas envolvidas.

### **8.2 Local**

As medidas e análises experimentais foram realizadas no laboratório de Fotoacústica Aplicada a Sistemas Biológicos do Instituto de Pesquisa & Desenvolvimento (IP&D) da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Campus Urbanova, São José dos Campos (SP).

### **8.3 Amostra**

A amostra deste estudo foi composta por 16 mulheres, com idade entre 20 e 30 anos, de pele morena clara e morena moderada, escolhidas de forma aleatória a partir do corpo discente da Universidade do Vale do Paraíba - UNIVAP.

### **8.4 Critérios de inclusão:**

Os critérios de inclusão considerados foram:

- Ser do sexo feminino;

- Apresentar idade entre 20 e 30 anos à época da realização das medidas;
- Apresentar fototipo de pele III ou IV conforme a classificação clínica de Fitzpatrick;
- Pele intacta sem feridas, manchas ou alterações dermatológicas visíveis no antebraço;
- Não estar grávida;
- Não apresentar reação alérgica aos componentes do fármaco utilizado;
- Não conter outras substâncias como hidratantes e óleos nos antebraços.
- Não possuir implantes metálicos em membros superiores.
- Estar ciente e de acordo com a participação do estudo mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
- Apresentar total disponibilidade para participar da avaliação e coletas dos dados.

## **8.5 Equipamentos utilizados**

### **8.5.1 Montagem fotoacústica convencional**

Composta por:

- Lâmpada de tungstênio halógena (XELUX, 24V, 250W) com ventilador acoplado;
- Fonte alimentadora para a lâmpada de 24V (LR)
- Conjunto óptico com lentes;
- Modulador mecânico (Stanford Research Systems - SRS, modelo SR540);
- Célula fotoacústica de latão, de duas faces, fabricada na Oficina Mecânica da UNIVAP, com microfone comercial de eletreto acoplado;
- Amplificador síncrono (Stanford Research Systems – SRS, modelo SR530);
- Microcomputador para aquisição e análise dos dados.

As medidas foram efetuadas à frequência de modulação de 17Hz.

### **8.5.2 Fármaco utilizado**

No estudo foi utilizado um medicamento comercialmente chamado de Scaflam® Gel (antiinflamatório e analgésico), indicado para tratamento local de inflamações e dor em geral, clinicamente testado e disponível comercialmente. Seu princípio ativo é a nimesulida, empregada na concentração de 30mg para cada 1g de gel. Os excipientes são: dietilenoglicol monoetiléter, caprilcaproil macrogol glicerídeos, carbomero, edetato dissódico, metilparabeno, propilparabeno, trietanolamina e água purificada.

### **8.5.3 Ultra-som**

Utilizou-se o equipamento de ultra-som fisioterápico Sonopulse Compact 1.0MHZ (Ibramed), fabricado no Brasil e projetado de acordo com as normas técnicas NBR IEC 601 para equipamentos médicos. Possui painel frontal inclinado que possibilita ao terapeuta ajustar facilmente o aparelho estando sentado ou em pé. (ALLEN; BATTYE, 1978; BEARSY H, 1953).

As aplicações empregaram emissão na frequência de 1 MHz, no modo contínuo, intensidade regulável de 0,1 a 2W/cm<sup>2</sup>, tendo sido utilizada a intensidade de 1W/cm<sup>2</sup>). A aplicação proposta e utilizada no presente estudo durou três minutos (para uma área de tratamento de 9cm<sup>2</sup>), utilizando-se o temporizador digital do aparelho que, no final do tempo programado, encerra a emissão do ultra-som.



FIGURA 3 – Aparelho de Ultra-som Sonopulse Compact, Ibramed.

#### 8.5.4 Papel cartão

Para delimitar a área da aplicação do ultra-som, foi utilizado um pedaço de papel cartão de 9cm<sup>2</sup>. Esta medida serviu para fazer um traçado no antebraço das mulheres para delimitar a amostra analisada.

#### 8.5.5 Água e Sabão

Previamente à realização das medidas, foi realizada a assepsia da pele na região distal interna do antebraço com água e sabão.

#### 8.5.6 Seringa

Seringa plástica da marca BD de material descartável, utilizada para uniformizar a quantidade de fármaco utilizada em todas as mulheres. Foi estipulada a quantidade de 0,2mL para aplicação.

### 8.5.7 Procedimentos Experimentais

Inicialmente, as voluntárias foram classificadas quanto ao tipo de pele, adotando-se a classificação clínica usual proposta por Fitzpatrick (tipos de pele III e VI). Em seguida, as voluntárias responderam um questionário (Anexo II) em que foram colhidos dados pessoais, hábitos de vida e atividade física, ingestão alimentar e exposição diária ao sol, fatores que podem interferir nos resultados obtidos e na classificação dos fototipos.

A análise experimental foi realizada em uma única instância. Após delimitação e assepsia da região a ser avaliada, foram realizadas oito séries de medidas. As primeiras quatro medidas tiveram duração total de 15 minutos (tempo total da série) e foram realizadas no antebraço direito, sendo as demais realizadas no antebraço esquerdo, também com duração total de 15 minutos.

A primeira medida foi analisada no antebraço direito imediatamente após a assepsia da pele (tempo de 0min); a segunda medida analisada foi após três minutos de aplicação do medicamento tópico associado à massagem do ultra-som terapêutico com o equipamento desligado (método este adotado para não mudar a forma da massagem a fricção, permitindo comparação com o método que utilizou aplicação efetiva de ultra-som); a terceira medida foi realizada 10 minutos após o início da primeira medida, e a quarta medida foi realizada 15 minutos depois da medida inicial. As medidas realizadas no antebraço esquerdo seguiram a mesma seqüência do antebraço direito, porém com o aparelho de ultra-som ligado.

Para aquisição do sinal fotoacústico, cada voluntária teve o antebraço sob estudo apoiado e flexionado a 90°, sendo o mesmo pressionado contra a célula fotoacústica. Cada medida compreendeu 80 leituras espaçadas de 0,5 segundos, de modo que o tempo necessário para cada aquisição de sinal foi de aproximadamente 40 segundos. A frequência de modulação utilizada foi de 17Hz. Foi utilizado o programa “SIN530r” para registro do

sinal no computador. Os dados foram arquivados para cálculo posterior do valor médio do sinal fotoacústico em cada medida, sendo realizada a análise gráfica e estatística com o auxílio dos programas Origin 7® e INSTAT®.

### **8.5.8 Riscos**

As medidas propostas foram realizadas *in vivo* e acompanhadas pelos pesquisadores, apresentando risco mínimo para os voluntários, já que as medidas são realizadas sob radiação de uma lâmpada de tungstênio comum, com baixa emissão na região ultravioleta e por um curto intervalo de tempo. O procedimento adotado foi semelhante ao empregado em trabalhos anteriores já realizados no Laboratório de Fotoacústica Aplicada a Sistemas Biológicos (FASBio/UNIVAP) e previamente aprovados pelo CEP/UNIVAP.

## 9. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para análise do tempo típico de penetração do medicamento aplicado, inicialmente tentou-se um ajuste exponencial para cada seqüência de medidas. No entanto, após análise inicial, observou-se que o ajuste ideal para os dados deveria empregar uma curva sigmoidal, do tipo “S”. O ajuste então foi feito utilizando a função de ajuste sigmoidal do tipo Boltzmann (Origin 7.0 ®):

$$Amplitude(t) = \frac{A_1}{1 + e^{\left(\frac{t-t_0}{\Delta t}\right)}} + A_2 \quad (\text{Equação 8 - 1})$$

onde os parâmetros de importância para análise são  $t_0$  (tempo típico de absorção ou tempo de meia-absorção; é o tempo após a aplicação correspondente a 50% de absorção) e  $\Delta t$  (intervalo de tempo tal que 67% do processo de absorção ocorre entre  $t_0 - \Delta t$  e  $t_0 + \Delta t$ ).

Esta função de ajuste representa melhor o processo de absorção do fármaco, apresentando estabilização no valor correspondente ao sinal da pele sem o fármaco, após penetração deste além da espessura de amostra analisada pelo sinal fotoacústico, de aproximadamente  $40\mu\text{m}$  para as condições de realização do presente estudo. O melhor ajuste obtido para a função sigmoidal, em relação ao ajuste exponencial, foi comprovado pela comparação dos respectivos valores de Chi-quadrado. A análise estatística efetuada (teste Mann-Whitney, INSTAT®) comprova que o ajuste sigmoidal apresenta menor Chi-quadrado, com  $p = 0,03$ . Deste modo, serão apresentados neste trabalho os dados referentes aos ajustes sigmoidais efetuados.

A tabela a seguir mostra os resultados obtidos para os parâmetros de ajuste, conforme a forma de aplicação utilizada (massagem ou sonoforese). A análise estatística comparativa para os dados obtidos foi efetuada inicialmente através de teste t pareado, utilizando-se o programa INSTAT®; no entanto, como o teste de correlação efetuado pelo

programa não apontou pareamento significativo entre os dados ( $p > 0,20$  para as duas variáveis de interesse), a análise foi repetida utilizando-se teste t não pareado.

TABELA 2 – Valores médios ( $\pm$  erro padrão) para  $t_0$  e  $\Delta t$  (em minutos), para cada uma das formas de aplicação (todos os valores são referentes à média de nove medidas).

Forma de aplicação	$t_0$ (minutos)	$\Delta t$ (minutos)
Massagem	$12,5 \pm 1,2$	$1,8 \pm 0,4$
Sonoforese	$11,7 \pm 1,7$	$1,7 \pm 0,8$

Valores de  $p$  obtidos nos testes de significância: Testes pareados:  $p = 0,69$  para  $t_0$ ,  $p = 0,42$  para  $\Delta t_0$ ; Testes não pareados:  $p = 0,59$  para  $t_0$ ,  $p = 0,99$  para  $\Delta t_0$ .

Em todos os testes efetuados, não se constata diferença estatisticamente significativa entre as diferentes formas de aplicação. Deste modo, a análise realizada comprova que a cinética de penetração do fármaco através do estrato córneo independe da aplicação de Ultra-som, sendo equivalente para aplicação por massagem simples ou por sonoforese.

A Figura 4 mostra a curva de ajuste média para todas as medidas efetuadas, permitindo realizar uma interpretação visual do tempo típico de penetração do fármaco analisado, independentemente da forma de aplicação. O gráfico apresentado ilustra a penetração do fármaco na pele em função do tempo, indicando que o processo de penetração do fármaco avaliado apresenta um tempo típico em torno de 12 minutos, com  $\Delta t$  inferior a 2 minutos. O gráfico permite observar que, cerca de 15 minutos após a aplicação, aproximadamente 90% do fármaco já atravessou o estrato córneo.

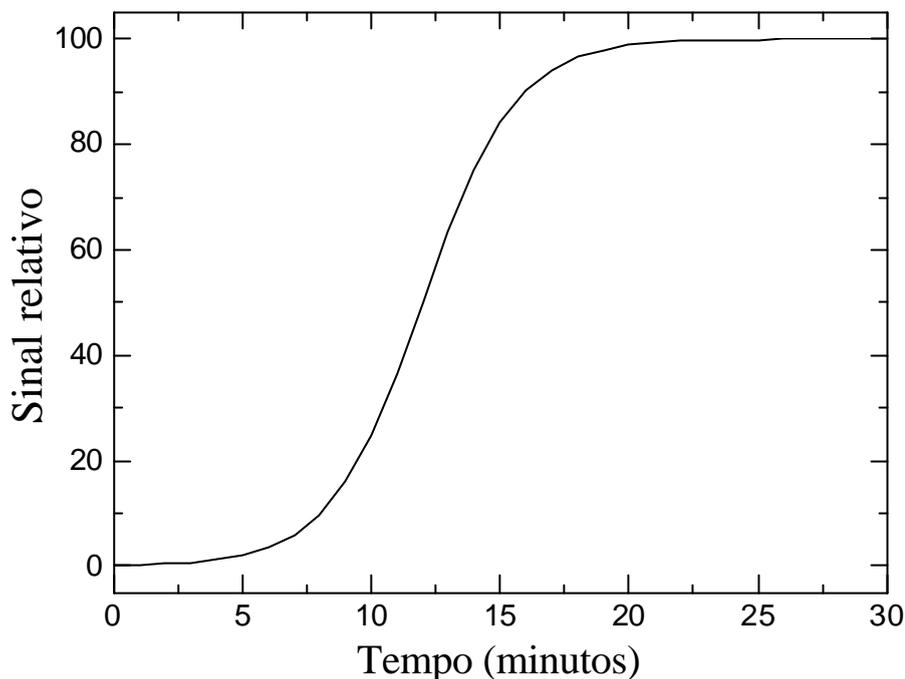


FIGURA 4 – Ajuste da curva do sinal relativo do fármaco em função do tempo após aplicação da fonoforese. O gráfico representa a curva média geral de penetração do fármaco aplicado ( $t_0 = 12,1$  minutos,  $\Delta t = 1,8$  minutos).

Resta agora comparar o típico de penetração encontrado no presente trabalho para a nimesulida (12 minutos) com valores obtidos em experimentos semelhantes, onde também foi utilizada a técnica fotoacústica para avaliar a penetração *in vivo* de outras substâncias topicamente aplicadas por massagem e/ou sonoforese.

Gutiérrez-Juárez *et al* (2002) estudaram a penetração de nitrofurazona, vaselina e vaporub no antebraço de voluntários, encontrando constantes de tempo que variaram entre 15 e 58 minutos para aplicação *in vivo* destes produtos (neste trabalho não foi feita aplicação por sonoforese).

Trabalhando com diclofenaco dietilamônio, Rompe (2005) obteve tempos típicos de penetração da ordem de 20 minutos para aplicação por sonoforese, e cerca de 60 minutos para aplicação por massagem. Deve-se considerar que os valores apresentados por

Rompe correspondem à média de medidas realizadas em apenas três voluntários (além disto, Rompe utilizou a curva exponencial para ajuste de seus dados).

Mais recentemente, Rossi (2006) analisou a penetração de gel de arnica no antebraço de voluntários após aplicação por massagem, encontrando tempos típicos de penetração da ordem de 10 minutos para este produto.

A partir dos trabalhos mencionados, pode-se concluir que a nimesulida apresenta tempo típico de penetração compatível com o de outros produtos avaliados anteriormente. No entanto, ao contrário do observado para diclofenaco dietilamônio (ROMPE, 2005), para a nimesulida a forma de aplicação não alterou o tempo típico de penetração, pelo menos nas condições empregadas no presente estudo.

## 10. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Os resultados experimentais obtidos neste estudo indicam que a técnica fotoacústica adotada pode ser um método eficaz para avaliar o tempo de penetração da nimesulida na pele.

Os resultados encontrados para o tempo de penetração do fármaco mostram que o uso de ultra-som não favorece de modo significativo a penetração desse fármaco, em comparação com a aplicação realizada através de massagem. Assim, conclui-se que não é necessário o uso do ultra-som terapêutico para aplicação eficiente deste fármaco.

É necessário considerar, no entanto, que estudos futuros poderão empregar medidas adicionais para constatar maior precisão das diferenças existentes entre as diversas formas de aplicação tópica, variando os parâmetros ajustados do ultra-som, durabilidade e intensidade da aplicação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas e Técnicas. **NBR-IEC 1689**: Ultra-som- Sistemas de Fisioterapia - Prescrições para o desempenho e métodos de medição na faixa de frequências de 0,5 MHz a 5MHz. Rio de Janeiro: ABNT, 1998.

ALLEN, K.; BATTYE, C. Performance of ultrasonic therapy instruments. **Physiotherapy**, v.64, n.6, 174-179,1978.

ANDERSON, M.K.; HALL, S.J.; MARTINS, M. **Sports Injury Management**. 2ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 2000.

ANJOS, F. H. et al. Sunscreen effects in skin analyzed by photoacoustic spectroscopy. **J Physique IV** (France) v.125, p.797-799, 2005.

BARJA, P.R. **Estudo da Indução Fotossintética Através da Técnica Fotoacústica: Efeitos de Saturação e Fotoinibição**. 1996. 71 f Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física Gleb Wataghin, Universidade Estadual de Campinas, 1996.

BARJA, P. R. et al. *In vivo* evaluation of drug delivery after ultrasound application: A new use for the photoacoustic technique. **J Physique IV** (France) v.125, p.789-791, 2005.

BEARSY H. Clinical Application of Ultrasound Energy in Treatment of Acute and Chronic Subacromial Bursitis. **Arch Phys. Med. Rehabil**. v.34, p.228, 1953.

BELL, A. G Upon the production of sound by radiant energy. **Am. J. Sci**. v.20, p.305-324, 1880.

BERNENGO, J. C. et al. Photoacoustic as a tool for cutaneous permeation studies. **High Temp.-High Press**. v.30, p 619-624, 1998.

BISSCHOP, G.; BISSCHOP, E; COMMANDRÉ, F. Vibrações mecânicas. In: **Eletrofisioterapia** . São Paulo: Santos. 2001. p.93-102.

BJARNASON, I; THJODLEIFSSON, B. Gastrointestinal toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: the effect of nimesulide compared with naproxen on the human gastrointestinal tract. **Rheumatology** (Oxford) v.38 (Suppl), p.24-32, 1999.

COHEN, M. et al. Lesões ortopédicas no futebol. **Rev. Bras. Ortop.** v.32, n.12, p.940-944, 1997.

COHEN, M. **Lesões nos esportes: diagnóstico, prevenção, tratamento.** São Paulo: Revinter 2003.

CULLEN, L. et al. Selective cyclooxygenase-2 inhibition by nimessulide in man. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v.287, p.578-582, 1998.

DAS, N. G.; DAS, S. K. Controlled-release of oral dosage forms. *Formulation, Fill & Finish – a Technology Primer 2003 – a supplement to Pharm. Tec.*, v. 27, p. 10-16, 2003. Disponível em: <<http://www.pharmtech.com/pharmtech/data/articlestandard/pharmtech/232003/59302/article.pdf>> Acesso em: 17 ago. 2006.

EJNISMAN, B. et al. Lesões musculoesqueléticas no ombro do atleta: mecanismo de lesão, diagnóstico e retorno à prática esportiva. **Rev. Bras. Ortop.** v.36, n.10, p.389-393, 2001.

FANG, J. Y. et al. Effect of low frequency ultrasound on the vitro percutaneous absorption of clobetasol 17- propionate. **Int. J. Pharmaceutics** , v.9, p.33-42, 1999.

FITZPATRICK, T. B.; MOSHER, D. B. Pigmentação cutânea e distúrbio do metabolismo da melanina. In: ISSELBACHER, Kurt J. et al. **Medicina interna.** 9ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. p.276-284.

GAM, A. N.; JHOANNSEN, F. ultrasound therapy in musculoskeletal disorders: a meta-analysis. **Elsevier Science B** , v. 63,p.85-91, 1995.

GILMAN, A.G. et al. **As Bases farmacológicas e terapêuticas.** 10 ed. Rio de Janeiro, 2003 .

GUIRRO, E. ; GUIRRO, R. **Fisioterapia dermatofuncional**, 3.ed. revista e ampliada, São Paulo,2004. p223-227.

GUTIÉRREZ-JUÁREZ, G et al. *In vivo* measurement of the human skin absorption of topically applied substances by photoacoustic technique. **Phys. Meas.** v.23, p.1-12, 2002.

HAM, A. W. et al. Experimental study of histopathology of burns, with particular reference to sites of fluid loss in burns of different depths. **Ann. Surg.** v.120, p.689, 1944.

HOOGLAND, R. **Terapia Ultrasonica**. Manual do Fabricante.[s.l.]: Enraf Nonius Delft., 1986. p.29.

JACOB, S. W.; FRANCONI, C.A.; LOSSOW, W. L. **Anatomia e Fisiologia Humana**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1990. p.80 – 85.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap 18.

KAHN, J. Ultra-som. In: **Princípios de Prática de Eletroterapia**. 4 ed. São Paulo: Santos, 2001. p.49-58.

KEDE, M. P. V.; SABATOWICH. **Dermatologia Estetica**, São Paulo: Ed Atheneu, 2004.

KITCHEN, S.; BAZIM, S. **Fisioterapia de Clayton**. São Paulo: Monole, 1998. 235p - 258p.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.; KANING, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Lisboa: Serviço de Educação e Bolsas Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.p.907-952.2 v.

LEHMANN J.F. et al. **Therapy With Continuous Wave Ultrasound**, in *Ultrasound Applications in Medicine and Biology*, Ch. X, Ed. Francis J. Fry, Part. 2, Elsevier Publishing. Co, 561 (1978).

LOW,L., REED,A. **Eletroterapia Explicada, princípios e prática**, 3.ed. Manole, 2001. p. 411-449.

MACHADO, Clauton M. **Eletrotermoterapia Prática**. São Paulo: Editora Pancast, 2002.

MANUAL do operador. Indústria Brasileira de Equipamentos médicos Ltda. IBRAMED, 2004.

MEIDAN, V. M. et al. Ultrasound enhanced diffusion into coupling gel during phonophoresis of 5-fluorouracil. **Int. J. Pharm.** v.185, p.205-213, 1999.

MILLER, M.W. Gene Transfection and Drug Delivery. **Ultrasound in Med. & Biol.**, v.26, n.1, p. 59-62, 2000.

MITRAGOTRI, S.; BLANKSCHTEIN, D.; LANGER, R. Ultrasound-mediated transdermal protein delivery. **Science**, v. 269, p. 850-853, 1995a.

MITRAGOTRI, S.; EDWARDS, D.A.; BLANKSTEIN, D.; LANGER, R A. Mechanistic study of ultrasound-enhanced transdermal drug delivery. **J. Pharm. Sci**, v.84, p.697-706, 1995b.

OLIVEIRA, L. S.; BARJA, P. R. Previsão do fator de proteção solar de formulações cosméticas - estudo de otimização de protocolo utilizando a técnica fotoacústica. In: ENVIRONMENTAL AND HEALTH WORLD CONGRESS (EHWC), 2006, Santos, SP. **Anais de Trabalhos Completos Santos**: [s.ed.], 2006. p.341-345,

OLIVEIRA, L S. **Previsão do fator de proteção solar de formulações cosméticas – estudo de otimização de protocolo utilizando a técnica fotoacústica**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Instituto de Pesquisa & Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, SP, 2006.

PARIZOTTO, N. A. et al. Utilização da fonoforese em distúrbios músculo-esqueléticos: uma meta-análise. **Rev. Bras. Fisioterapia**, v.7, n.1, p. 49-55, 2003.

PATRICK, M. K. Applications of Therapeutic Pulsed Ultrasound, **Physiotherapy**, v. 64, p.4, 1978.

PUC CETI, G; LEBLANC, R. M. A comparative study on chromophore diffusion inside porous filters by pulsed photoacoustic spectroscopy. **J. Membrane Science**, v.119, p.213-228, 1996.

ROBERTSON, V. J.; BAKER, K. G. A review of therapeutic ultrasound: Effectiveness studies. **Physical Therapy**, v. 81, p.1339-1350, 2001.

ROBINSON, A. J.; SNYDER, L. **Eletrofisiologia Clínica**. Porto Alegre: Editora Artmed. 2001.

ROEBROECK, M. E; DEKKER, J.; OOSTENDORP, R. A. B. The use of therapeutic ultrasound in physiotherapy: practice patterns in Dutch primary health care. **Phys. Ther.** v.78, p.470-478, 1998.

ROMPE, P. C. B. et al. Characterization of human skin through photoacoustic spectroscopy. **Journal de Physique IV**, France, v.125, p.785-787, 2005.

ROSENCWAIG, A.; GERSHO, A. Theory of photoacoustic effect with solids. **J. Appl. Phys.** v.47, p. 64-69, 1976.

ROSS, M. H.; REITH, E.J.; ROMRELL, L.J. **Histologia - Texto e Atlas**. 2 ed. São Paulo: Panamericana, cap 14, 1993.

ROSSI, R. C. P.; BARJA, P. R. Estudo fotoacústico das propriedades de penetração de Arnica montana de uso tópico na pele humana. In: ENVIRONMENTAL AND HEALTH WORLD CONGRESS (EHWC), 2006, Santos, SP. **Anais de Trabalhos Completos Santos: [s.ed.] 2006. p.328-331.**

ROSSI, R. C. P. **Estudo fotoacústico *in vivo* e *in vitro* da cinética de permeação dos géis carbopol e transdérmico para uso tópico**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Instituto de Pesquisa & Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, SP, 2006.

SCALASSARA, P.R. **Medidas de características físicas de tecidos biológicos por inspeção de ultra-som**. Monografia (Engenharia Elétrica). Londrina: Universidade Estadual de Londrina; 2003.

SEHN, E. et al. Photoacoustic spectroscopy to evaluate the penetration of sunscreens into human skin in vivo: A statistic treatment. **Rev. Sci. Instr.** v 74 ,p.758-760, 2003.

SILVA, R. T **Lesões musculoesqueléticas no tênis**. Dissertação (Mestrado). São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2000.

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

TACHIBANA, K.; TACHIBANA, S. Application of ultrasound energy as a new drug delivery system. **Japan J Appl. Physics**, v.38, n.5B, p.3014-3019, 1999.

TCHORNOBAY, A. M.. In: BADIN, A.Z.D. et al. **Rejuvenescimento facial a laser**, Rio de Janeiro: Revinter, 1998. cap 4, p. 86-113.

TER HAAR, G. Princípios eletrofísicos. In: KITCHEN, S.; BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton**. 10.ed. São Paulo: Manole; 1998. p. 23-30.

TREGGAR, R. T.: The permeability of the skin to molecules of widely differing properties: **In Progress in the Biological Sciences in Relation to Dermatology**-2. ed. Cambridge :University Press, 1964.p. 275.

TREGGAR, R T. **Physical Functions of the Skin**. New York: Academic Press, 1966.

VALENTINI, E. A.; MACIEL, C. D.; PARIZOTTO, N. A. Importância da Conformidade dos Equipamentos de Ultra-som terapêutico com a NBR – IEC 1689. **Fisioterapia Brasil**, v. 7, n. 1, p. 59-65, 2006.

VALENTE, N. Y. S.; Estrutura e função da pele. In: SITTART, JA S; PIRES, M C. **Dermatologia para o clínico**. São Paulo: Lemos-Editorial, 1998.p.1-5.

VAN DER WINDT, D. A. W. N. et al. Ultrasound therapy for musculoskeletal disorders: a systematic review. **Pain** , v.81, p.257-271, 1999.

## ANEXOS

## ANEXO A



## COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVAP

## CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo n.º H016/2006/CEP, sobre "*Estudo fotoacústico da nimesulida aplicada à pele in vivo*", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Paulo Roxo Barja, está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos, conforme Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi **aprovado** por esta Comissão de Ética em Pesquisa.

Informamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação.

São José dos Campos, 02 de maio de 2006

**PROF. DR. LANDULFO SILVEIRA JUNIOR**  
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da Univap

**ANEXO B****Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE****CONSENTIMENTO FORMAL DE PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO****INTITULADO**

ESTUDO FOTOACÚSTICO DA NIMESULIDA APLICADA À PELE IN VIVO

**Pesquisadora responsável:** Débora Janine Dias Vieira. Fisioterapeuta (R. São Paulo 313, Todos Santos, Montes Claros, MG, Cep 39400-124. E-mail: djdvieira@yahoo.com.br Telefones: 038-3213-3825 e 9112-0969.

**Orientador Responsável:** Prof. Dr. Paulo Roxo Barja (IP&D / UNIVAP).

Telefone: 3947-1108 / 1107

Eu, \_\_\_\_\_, portador do RG \_\_\_\_\_, concordo em participar do presente estudo de forma voluntária. Este será realizado sob os termos do projeto proposto pelo Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento - IP&D, da Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP.

O presente projeto de pesquisa é relevante na medida em que o tempo de absorção do fármaco aplicado à pele influencia na resposta antiinflamatória e analgésica apresentada. A probabilidade de aparecimento de reações adversas com seu uso é mínima. Alguns pacientes mais sensíveis ao medicamento podem apresentar reações alérgicas no local da aplicação. Até o momento, não se observou a existência de interação medicamentosa com o uso do Scaflan gel. Pretende-se avaliar a cinética de penetração do fármaco a partir de diferentes formas de aplicação (com e sem efeito do ultra-som

fisioterápico). Os resultados da pesquisa permitirão otimizar o tratamento de indivíduos com dor, inflamação, edema etc.

As medidas serão efetuadas no antebraço, que será posicionado de modo a vedar a célula fotoacústica aberta, não causando dor e/ou desconforto durante o procedimento.

As informações obtidas serão mantidas em sigilo, podendo ser utilizadas apenas para fins estatísticos e/ou científicos, sempre resguardando minha privacidade.

Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito do projeto que me foi apresentado. Estão claros para mim os propósitos do mesmo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de informações confidenciais e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade ou prejuízo.

Declaro que obtive de forma apropriada, livre e voluntária as informações e, deste modo, assino o presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para a participação neste estudo.

São José dos Campos, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2006.

---

Participante

---

Prof. Dr. Paulo Roxo Barja

Orientador

---

Débora Janine Dias Vieira

Pesquisadora



***Histórico Esportivo***

não pratica esporte

2 a 3 vezes na semana

todos os dias da semana

***Histórico Médico***

Tem insônia:  não  sim  às vezes

Dorme normalmente:  não  sim Quantas horas por dia: \_\_\_\_\_ horas.

Fuma ou já fumou:  não  sim Quanto tempo: \_\_\_\_\_

Faz uso de Medicamento controlado:  não  sim

Quais:

Tem dor freqüente:  não  sim

Onde:

Apresenta o seguinte histórico atual:

Dores de garganta:  presentes  ausentes

Alergias:  presentes  ausentes

Resfriados:  freqüentes  raramente

Doenças cardíacas:  não  sim

Problemas circulatórios:  não  sim

Hepatite:  não  sim

Otite:  não  sim

Hipertensão:  não  sim

Hipotensão:  não  sim

Problemas intestinais:  não  sim

Doenças renais:  não  sim

Doenças da infância:  não  sim

Doenças pulmonares:  não  sim

Herpes:  não  sim

Ausência no controle esfinteriano:  não  sim

Neoplasias:  não  sim

Labirintite:  não  sim

Diabetes:  não  sim

Sofreu alguma cirurgia ?  não  sim

Qual (quais):

Traumatismo nos membros superiores:  não  sim

Se sim, qual o local ?

### **Pele e Circulação**

Cor de pele:

Tem costume de tomar sol regularmente para bronzear-se?

Sim Qual a periodicidade ? \_\_\_\_\_

Por quantas horas? \_\_\_\_\_

Não

Já realizou bronzeamento artificial?

Sim. Há quanto tempo? \_\_\_\_\_

Não

estrias  manchas  escaras  descamações  varizes

ressecadas  edemas  feridas  cianose

Trofismo: Hipotrofia  Hipertrofia  Flacidez

### **Comentários Gerais**