

Artigo original**Análise dos efeitos da terapia por ultra-som 3 MHz sobre a concentração sanguínea de lipídeos de ratas Wistar*****Analysis of 3 MHz ultrasound therapy effects on sanguineous concentration of Wistar rats lipids***

Sheila Regina Schmidt Francisco*, Marcelo Schrubbe*, Marco Aurélio Neuwien*, Zelinda Maria Braga Hirano*

.....

* *Departamento de Ciências Naturais da FURB*

Resumo

O objetivo deste trabalho foi verificar as concentrações plasmáticas de colesterol, triglicerídeos e lipídeos totais após terapia por ultra-som pulsado de 3 MHz, em ratas Wistar. As ratas foram divididas em grupo experimental e placebo e subdivididas conforme o tempo de retirada do sangue. O ultra-som foi aplicado na região abdominal, com potência de 1 W/cm² e 2 min/cm² ou com o aparelho desligado, respectivamente. Os níveis de colesterol foram significativamente ($p < 0,05$) superiores no grupo ultra-som imediatamente e 30 minutos após uma sessão e após dez sessões. As concentrações de lipídeos totais foram significativamente ($p < 0,05$) superiores imediatamente, 10 e 30 minutos após uma sessão e ($p < 0,01$) após dez sessões. Triglicerídeos séricos diminuíram significativamente no grupo ultra-som após dez sessões. As concentrações de triglicerídeos e lipídeos totais foram inversamente proporcionais após uma e dez sessões de ultra-som. Conclui-se que o ultra-som atua na liberação e quebra de gordura para o plasma sanguíneo após uma e dez sessões de terapia.

Palavras-chave: ultra-som, colesterol, triglicerídeos.

Abstract

The purpose of this study was to verify plasmatic concentrations of cholesterol, triglycerides and total lipids in Wistar rats after 3 MHz pulsed ultrasound therapy. Rats were divided into experimental and placebo groups and subdivided depending on the blood collecting time. Ultrasound was applied in abdominal area at 1 W/cm² potency and 2 min/cm² or with the equipment off, respectively. Cholesterol levels were significantly higher ($p < 0.05$) in ultrasound group immediately and 30 minutes after one and ten sessions. Total lipids concentrations were significantly higher ($p < 0.05$) immediately, 10 and 30 minutes after one session and ($p < 0.01$) after ten sessions. Serum triglycerides decreased significantly in the ultrasound group after ten sessions. It was observed that triglycerides and total lipid concentrations were in inverse proportion after the first and the tenth session of ultrasound. Thus, it was concluded that ultrasound act on fat release and the break down of fat to blood plasma after one and ten sessions of therapy.

Key-words: ultrasonic, cholesterol, triglycerides.

Introdução

O termo “celulite”, ou fibro edema gelóide (FEG), foi usado pela primeira vez, na década de 1920, para descrever alterações na superfície cutânea. Desde esse tempo outras formas mais descritivas têm sido sugeridas, incluindo lipoesclerose nodular, paniculopatia edemato-fibroesclerótica, paniculose, lipodistrofia ginóide e fibroedema gelóide (FEG) entre outras [1].

A celulite é caracterizada por adiposidade circunscrita acompanhada de placa lipodistrófica cujos locais de predileção são as regiões trocantérica, lateral supra-ilíaca, infra-umbilical e deltoideana [2].

A fisioterapia se utiliza de uma grande variedade de modalidades eletroterapêuticas com a finalidade de reduzir o quadro de FEG, dentre as técnicas mais utilizadas, estão a massagem manual ou mecânica [3] e a terapia por ultra-som [4] – utilizado na frequência de 3 MHz, tem sua ação superficial, e a onda ultra-sônica propagada até a camada adiposa da pele [5].

Originalmente, o ultra-som terapêutico foi produzido a partir de um cristal de quartzo vibrante submetido a uma onda de alta frequência. Hoje, os cristais utilizados são cerâmicos sintéticos produzidos a partir de chumbo, zinco e titânio. Este material garante durabilidade e eficiência na conversão de corrente elétrica em vibrações mecânicas. A vibração oscila as partículas do meio, produzindo ondas por compressão e decompressão [6].

Os efeitos do ultra-som podem ser divididos em efeitos térmicos e atérmicos sobre os tecidos [7]. Os efeitos térmicos incluem aumento de excitabilidade e fluxo sanguíneo local, modulação da dor, redução de espasmos musculares e rigidez articular e auxílio em respostas inflamatórias. Os efeitos atérmicos podem ou não estar associados aos efeitos térmicos. Dentre os efeitos puramente atérmicos destacam-se a cavitação e micromassagem acústica [8,9]. Quando as ondas ultra-sônicas penetram no corpo provocam uma vibração em nível celular (micromassagem), levando a difusão de íons através da membrana celular. Com isso, ocorre aumento da permeabilidade da membrana e uma aceleração nos processos osmóticos [10,11]. Associados aos efeitos térmicos, os efeitos atérmicos promovem estimulação da atividade fibroblástica, aumento de síntese proteica e fluxo sanguíneo e regeneração tecidual. Sugere-se que os efeitos térmicos do ultra-som costumam estar relacionados com o tratamento de lesões teciduais profundas e os efeitos atérmicos com o reparo de tecidos superficiais [9].

Dentre os efeitos químicos do ultra-som destacam-se a hidrólise, oxidação e despolimerização de polímeros de cadeia longa. Destacam-se ainda, seus efeitos biológicos, como o aumento na síntese e liberação de colágeno, promoção de oscilação dos tecidos, do movimento dos fluidos e da circulação nos vasos sanguíneos expostos às ondas ultra-sônicas [5].

O uso do ultra-som no tratamento do FEG está vinculado à sua capacidade de fonoforese, além de promover

neovascularização com conseqüente aumento da circulação, rearranjo e aumento da extensibilidade das fibras de colágeno e melhora das propriedades mecânicas do tecido [3].

A fonoforese ou sonoforese é descrita como a habilidade do ultra-som em facilitar a penetração de agentes farmacológicos ativos através da pele. Acredita-se que este efeito se deva à agitação e ao movimento rápido e contínuo das moléculas no trajeto das ondas, além da alteração nos potenciais de membrana e conseqüente aumento na permeabilidade celular proporcionado pelo ultra-som [3].

Outra ação extremamente importante do ultra-som na fisioterapia dermatofuncional, especialmente no tratamento do FEG, é sua ação tixotrópica, ou seja, a capacidade que as ondas ultra-sônicas possuem de transformar colóides em estado sólido para o estado gel, aumentando a elasticidade tecidual e diminuindo a consistência tecidual fibrótica [10,3].

Este trabalho teve como objetivo o estudo dos efeitos atérmicos e não fonoforéticos do ultra-som sobre a concentração de colesterol, triglicerídeos e lipídeos totais no sangue de ratas Wistar em dois momentos: primeiro, objetiva-se observar o efeito do ultra-som após zero, 30 e 60 minutos após uma única aplicação; segundo, observar o efeito do ultra-som após dez aplicações consecutivas do ultra-som sobre a camada lipídica do abdome de ratas Wistar.

Material e métodos

População e amostra

O estudo foi composto por ratas da raça Wistar, com 4 meses de idade e peso médio de 300 gramas, mantidas em biotério setorial com ciclo claro-escuro de 12 h, temperatura controlada e em regime de alimentação e de água *ad libitum*. As ratas foram providas do Biotério Central da FURB e o protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética à Experimentação Animal da FURB.

Aplicação do ultra-som

Os animais foram divididos em dois grupos: um experimental (GE) e um placebo (GP), cada um contendo 35 ratas. Os grupos GE e GP foram subdivididos em 12 subgrupos (GEZero, GPZero, GE5', GP5', GE10', GP10', GE30', GP30', GE60', GP60', GE10 e GP10), com 5 ratas em cada um dos 10 primeiros grupos e 10 ratas em GE10 e GP10. Os grupos foram divididos conforme o tempo da coleta de sangue após uma sessão de ultra-som e conforme o número de aplicações da radiação ultra-sônica. Ratas dos grupos GEZero a GE60' foram submetidas a uma aplicação de ultra-som. Os grupos GPZero a GP60' foram submetidos a uma sessão de manipulação do animal com o aparelho de ultra-som desligado (placebo). GE10 foi submetido a 10 aplicações de radiação ultra-sônica e GP10 foi submetido

a 10 sessões de manipulação com o aparelho de ultra-som desligado.

As aplicações da radiação ultra-sônica foram realizadas na região abdominal próxima a epífise proximal dos membros inferiores, com ultra-som pulsado, frequência de 3 MHz, potência de 1W/cm² e tempo de 2 min/cm² [12,13].

Para tanto, foi utilizado o aparelho *Sonomaster Dual Frequency*, da KW Eletrônica cedido pelo Ambulatório de Fisioterapia da FURB.

Coleta sanguínea

Após aplicação da radiação ultra-sônica foi realizada a coleta de sangue através da punção caudal, na qual foram coletados cerca de 1,5 ml de sangue de cada rato, estando os animais em jejum por 8 horas. As coletas de sangue ocorreram antes das sessões de ultra-som em todos os grupos e em diferentes tempos após a aplicação da radiação ultra-sônica. Nos grupos GEZero e GPZero a coleta se deu imediatamente após a aplicação do ultra-som, nos grupos GE5', GP5', GE10', GP10', GE30', GP30', GE60', GP60', as coletas de sangue ocorreram 5, 10, 30 e 60 minutos após a aplicação do ultra-som, respectivamente. Nos grupos GE10 e GP10 a coleta de sangue foi realizada antes da primeira aplicação da radiação ultra-sônica e após 12h da décima sessão de ultra-som.

Análise das amostras de sangue

Todas as amostras foram submetidas à análise bioquímica individual dos níveis colesterol e triglicerídeos no sangue através de kits de dosagens bioquímicas da Biosystems e análise dos níveis de lipídios totais através de kits bioquímicos da Bioclin.

Análise estatística

Realizou-se a análise comparativa dos dados por meio dos testes de Mann-Whitney e de Wilcoxon para comparar as concentrações de lipídios totais, colesterol e triglicerídeos antes e depois da terapia por ultra-som. Utilizou-se também a análise de variância para analisar as diferenças entre os grupos ultra-som e placebo e entre os diferentes tratamentos realizados.

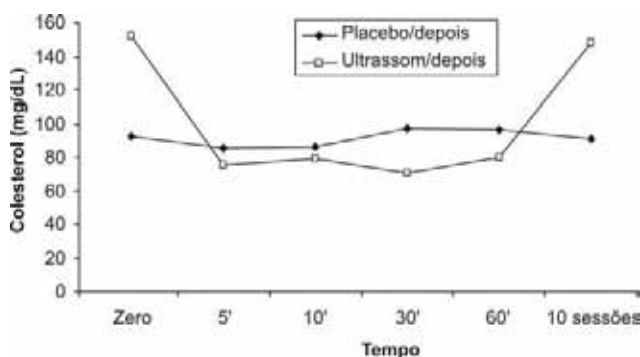
Resultados e discussão

Os efeitos do ultra-som nos tratamentos clínicos e estéticos estão vinculados aos seus efeitos mecânicos, que ocasionam oscilação das células em alta velocidade, levando à diminuição do potencial da membrana celular, aumentando a permeabilidade e induzindo o aumento da atividade metabólica [8]. No tratamento do FEG, a radiação ultra-sônica age sobre os adipócitos aumentando a atividade metabólica celular, favorecendo a liberação de ácidos graxos (AGL),

colesterol total (CT) e outros lipídios da membrana celular e de seu interior [4]. Tais efeitos podem levar a alteração transitória nos níveis plasmáticos de lipídios facilitando sua drenagem pelo sistema linfático e melhorando a distribuição da gordura corporal [9].

Neste trabalho, o Gráfico 1 mostra dados relativos às concentrações de colesterol imediatamente após uma sessão de terapia por ultra-som e após 10 sessões da terapia e observou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) quando comparados os grupos ultra-som e placebo. Entretanto, analisando-se as concentrações séricas de colesterol após 30 minutos da terapia, observou-se uma diminuição significativa ($p < 0,05$) no grupo ultra-som quando comparado com o grupo placebo. Observando-se os valores indicados na Tabela I para os grupos ultra-som, antes e depois da terapia, verificou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) nas concentrações de colesterol após a terapia por ultra-som. Sugere-se que o aumento observado após 10 sessões de terapia seja devido ao aumento na síntese de lipoproteínas transportadoras de lipídios, os quais acredita-se terem sido mobilizados para a corrente sanguínea através da ação da radiação ultra-sônica sobre a camada adiposa das ratas.

Gráfico 1 - Concentração de colesterol obtidos de plasma de ratos *Wistars* coletados em diferentes tempos após terapia de ultra-som. (*) diferença significativa pelo teste Mann-Whitney ($p < 0,05$).



Os triglicerídeos e o colesterol mobilizados dos tecidos associam-se às lipoproteínas de alto peso molecular (HDL) através de um gradiente de concentração, exercido pela enzima LCAT (Lecitina: colesterol aciltransferase), que atrai o colesterol dos tecidos e de outras lipoproteínas em direção à HDL. Esta se torna mais densa e descarrega o colesterol no fígado para subsequente metabolização ou incorporação aos sais biliares [14,15].

Analisando-se as concentrações de triglicerídeos após uma e dez sessões de terapia por ultra-som, observou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) no grupo ultra-som após 10, 30 e 60 minutos quando comparado com o grupo placebo. Após 10 sessões de terapia há uma diminuição significativa ($p < 0,05$) nas concentrações de triglicerídeos quando comparado com o grupo placebo. A Tabela I mostra que as concentrações séricas de triglicerídeos estão significativamente ($p <$

Tabela I - Valores médios e respectivos desvios padrões de lipídeos totais, triglicerídeos e lipídeos totais em ratos Wistars submetidos à terapia de Ultra-som e Ultra-Som/Placebo de plasmas coletados antes e após 0', 5', 10', 30', 60' e 12 h após 10 sessões. Diferenças significativas (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,01$.

Lipídios Totais (mg/dL)						
	ZERO	5'	10'	30'	60'	10 SESSÕES
PLACEBO Antes	98,8 ± 4,9	94,9 ± 6,0	90,5 ± 8,4	100 ± 2,4	91,5 ± 5,9	100,5 ± 9,9
PLACEBO Depois	98,1 ± 12,2	92,9 ± 7,2	100 ± 5,9	96,6 ± 6,5	99,3 ± 7,6	96,3 ± 6,3
ULTRA-SOM Antes	142,6 ± 33,3	94,5 ± 20,7	159,0 ± 26,8	58,1 ± 12,5	72,7 ± 11,8	91,6 ± 20,6
ULTRA-SOM Depois	170,3 ± 18,7	100,8 ± 37,1	175,5 ± 43,4	167,6 ± 18,9	111,7 ± 18,3	380,7 ± 69,1
Triglicerídeos (mg/dL)						
	ZERO	5'	10'	30'	60'	10 SESSÕES
PLACEBO Antes	83,1 ± 5,9	77,9 ± 9,5	69,9 ± 15	73,2 ± 4,5	88 ± 11,8	93,1 ± 5,2
PLACEBO Depois	83,1 ± 6,1	73,2 ± 10,8	71,9 ± 10,6	71,9 ± 1,0	87,4 ± 8,5	87,6 ± 6,2
ULTRA-SOM Antes	72,3 ± 7,2	97,9 ± 9,3	83,8 ± 6,0	58,9 ± 3,1	77,5 ± 8,7	53,5 ± 5,1
ULTRA-SOM Depois	72,3 ± 3,3	97,6 ± 10,8	82,7 ± 4,7	96,5 ± 4,9	115,2 ± 8,7	52,8 ± 4,6
Colesterol (mg/dL)						
	ZERO	5'	10'	30'	60'	10 SESSÕES
PLACEBO Antes	94 ± 5,2	77,7 ± 11,7	88,2 ± 6	92,4 ± 8,4	104,3 ± 12,5	93,8 ± 2,8
PLACEBO Depois	92,7 ± 5,8	85,3 ± 7,3	86 ± 9,97	97,4 ± 5,6	96,6 ± 11,6	91,2 ± 8,2
ULTRA-SOM Antes	122,1 ± 22,7	78,9 ± 22,5	100,2 ± 18,3	84,7 ± 6,6	87,5 ± 7,6	87,2 ± 6,8
ULTRA-SOM Depois	151,9 ± 12,9	75,7 ± 6,75	79,3 ± 2,5	70,8 ± 5,9	80,2 ± 8,3	148,2 ± 13,8

0,05) elevadas após 30 e 60 minutos após a terapia quando comparado com as concentrações de triglicerídeos antes da terapia. Entretanto, após 10 sessões de terapia por ultra-som há uma diminuição significativa ($p < 0,05$) nas concentrações de triglicerídeos.

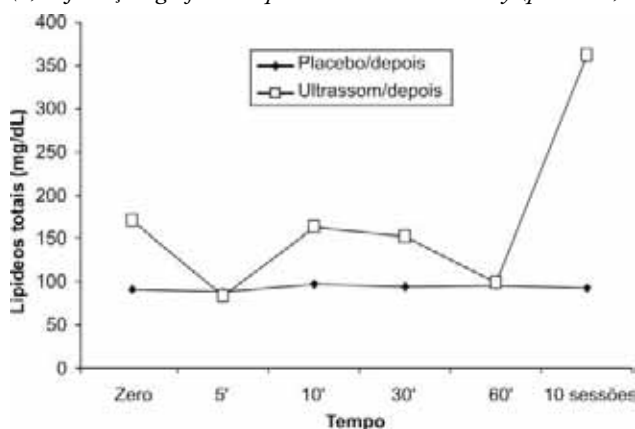
Frente às ações da radiação ultra-sônica sobre os tecidos, como o aumento da permeabilidade celular [16], despolimerização de polímeros de cadeia longa, quebra de moléculas em cadeia [5], e movimento mecânico dentro dos complexos celulares [9], acredita-se que o aumento observado nas concentrações de triglicerídeos após 30 e 60 minutos da terapia se deve à mobilização para a corrente sanguínea de triglicerídeos da camada adiposa da rata e a diminuição observada após 10 sessões de terapia se deve à metabolização dos triglicerídeos plasmáticos, diminuindo assim, suas concentrações séricas.

O Gráfico 2 mostra que as concentrações de lipídeos totais são significativamente ($p < 0,05$) maiores no grupo ultra-som quando comparadas com o grupo placebo nos tempos imediatamente após, 10 e 30 minutos após uma sessão de terapia por ultra-som, assim como depois de 12h após 10 sessões de terapia por ultra-som ($p < 0,01$). Analisando-se a Tabela I, verifica-se um aumento significativo ($p < 0,05$) nas concentrações de lipídios totais 30 e 60 minutos após a terapia por ultra-som, assim como após 10 sessões de terapia quando comparado com as concentrações séricas de lipídios totais antes da terapia.

Assim, acredita-se que os triglicerídeos liberados a partir da ação da radiação ultra-sônica tenham sido metabolizados a di e monoglicerídeos, aumentando os níveis de lipídios totais e diminuindo os níveis de triglicerídeos observados após dez sessões de terapia por ultra-som. Para

análise mais detalhada destes dados utilizou-se análise através da constante de correlação de Pearson (R^2). Seu valor negativo (-0,86) demonstrou que as duas variáveis (triglicerídeos e lipídios totais) são inversamente proporcionais, sustentando a hipótese de que o aumento nos níveis de lipídios totais se deu a partir da degradação dos triglicerídeos da camada adiposa das ratas.

Gráfico 2 - Concentração de lipídeos totais obtidos de plasma de ratos Wistars coletados em diferentes tempos após terapia de ultra-som. (*) diferença significativa pelo teste Mann-Whitney ($p < 0,05$). (#) diferença significativa pelo teste Mann-Whitney ($p < 0,01$).



Conclusão

Os efeitos da incidência da radiação ultra-sônica sobre o organismo são amplamente difundidos e discutidos pela comunidade científica, entretanto os efeitos mecânicos e atérmicos das ondas de ultra-som permanecem pouco acreditados.

Com este trabalho demonstramos a ação em nível celular da aplicação da radiação ultra-sônica superficial (3 MHz) e atérmica (corrente pulsada) sobre a camada adiposa de ratas. Observou-se a mobilização e liberação de lipídios do tecido adiposo para a corrente sanguínea elevando num primeiro momento os níveis de colesterol e triglicerídeos no plasma. Após aplicação de dez sessões de terapia por ultrassom observou-se uma diminuição nos níveis de triglicerídeos e acentuado aumento nos níveis de lipídios totais no plasma. Estes resultados comprovam os efeitos mecânicos e atérmicos da radiação ultra-sônica sobre a camada adiposa, recurso amplamente utilizado na diminuição dos graus de celulite pelos profissionais da área estética.

Agradecimentos

Agradecemos ao Programa de Incentivo à Pesquisa (Pipe) da FURB pelo financiamento desta pesquisa e ao Prof. Carlos Efrain Stein pela assessoria na análise estatística do trabalho.

Referências

1. Rossi ABS, Vergnanini AL. Cellulite: a review. *Europ Acad Dermat Venerol* 2000;14: 251-62.
2. Ricoux R. Notions actualles sur la cellulite at San traitement. *Thesis Med*; 1936.
3. Rawlings AV. Cellulites and its treatment. *Int J Cosmet Sci* 2006;28:175-90.
4. Gonçalves WLS, Ciqueira JP, Soares LS, Bissoli LS, Moysés MR. Utilização da terapia ultra-sônica de baixa intensidade na redução da lipodistrofia ginecóide: uma terapia segura ou risco cardiovascular transitório? – Um estudo pré-clínico. *An Bras Dermatol* 2005;80(Supl 3):S352-9.
5. Guirro E, Guirro R. *Fisioterapia dermatofuncional*. 3ª ed. São Paulo: Manole; 2002.
6. Fuirini Junior N, Longo GJ. *Ultrassom*. São Paulo: KLD – Biosistemas e Equipamentos Eletrônicos; 1996.
7. Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: Biophysical Effects. *Phis Ther* 81: 1351-1358.
8. Robertson VJ, Baker KG. A review of therapeutic ultrasound: effectiveness studies. *Phis Ther* 2001;81:1339-50.
9. Speed CA. Therapeutic ultrasound in soft tissue lesions. *Rheumatology* 2001;40:1331-36.
10. Machado CM. *Eletroterapia prática*. São Paulo: Pancast; 2002.
11. Haar G. Therapeutic ultrasound. *Eur J Ultrasound* 1999;9(1):3-9.
12. Kitchen S, Basin S. *Eletroterapia de Clayton*. 10ª ed. São Paulo: Manole; 1996
13. Guimarães CS, Rodrigues EM *Manual de recursos fisioterapêuticos*. Rio de Janeiro: Revinter; 1998.
14. Marzocco A, Torres BB. *Bioquímica básica*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991.
15. Guedes DP, Guedes JERP. Body fat distribution, blood pressure and plasma lipids and lipoprotein levels. *Arq Bras Cardiol* 1998;70:93-8.
16. Dyson M, Suckling J. Biological effects of therapeutic ultrasound. *Reumatol Rehab* 2001; 12:209-13.