

APLICAÇÃO DE GEL DE CARBOPOL® E TRIETANOLAMINA® COM CORANTE VIOLETA DE GENCIANA® ASSOCIADO À IONTOFORESE EM TECIDO CADAVERÍCO DE FRANGO

Eddy Krueger¹, José Luiz Claudino Junior², Felipe Zampieri³, Percy Nohama⁴

RESUMO

Iontoforese é uma técnica não invasiva que visa aumentar, direcionar e controlar a entrada de substâncias ionizadas para as células. Baseia-se na lei de Du Fay em que cargas iguais se repelem e cargas opostas se atraem, porém, estudos recentes demonstram que além da repulsão das cargas elétricas, ocorrem efeitos físico-químicos como a eletrosmose. O objetivo da pesquisa descrita neste artigo é avaliar alterações macroscópicas na coloração de tecido cadavérico com a aplicação da iontoforese. Utilizando eletrodos ligados a uma fonte de tensão, colocou-se nos eletrodos a substância ionizada gel básico de Carbopol® e Trietanolamina® com corante Violeta de Genciana®. As resistências das amostras e do corante foram mensuradas. As amostras foram constituídas por tecido cadavérico de frango, divididas em: grupo (A), que foi submetido a uma tensão de 12 V de amplitude e frequência de 108 Hz durante 40 min; grupo (B), no qual foi aplicada uma tensão fixa (corrente contínua) de 20 V por 40 min, e no grupo (C) foram conectados os eletrodos, mas sem liberação de qualquer tipo de corrente elétrica. Depois de concluída a aplicação, constatou-se que não houve diferença colorimétrica entre a aplicação de iontoforese e gel básico de Carbopol® e Trietanolamina® com corante violeta de genciana® sobre tecido cadavérico de frango e a aplicação de placebo.

Palavras chave: Iontoforese; Íons; Aplicações tópicas; Tecido cadavérico de frango.

ABSTRACT

Iontophoresis is a noninvasive technique designed to enhance, direct and control the entry of ions into cells. It is based on Du Fay's law in which electrical charges of the same sign repel and opposite sign charges attract each other, but recent studies show that in addition to the repulsion of electric charges, physico-chemical effects occur as electrosmose. The aim of this study is to assess macroscopic changes in the color of cadaver tissue with application of iontophoresis. Electrodes were connected to a voltage source, and in them was placed a Carbopol® and Triethanolamine® ionized basic gel substance with Gentian® Violet dye. The resistances of the samples and the dye were measured. The samples consisted of cadaver tissue of chicken, divided into: group (A), which was subjected to a potential difference of 12 V and frequency of 108 Hz for 40 min; group (B), in which a 20 V fixed voltage (direct current) was applied for 40 min and in group (C) the electrodes were connected, but without releasing any type of electrical current. After completing the experimental protocol, there was no difference on colorimetric images between iontophoretic application with basic Carbopol® and Triethanolamine® gel and Gentian® Violet dye on cadaver tissue of chicken and the application of placebo type.

Keywords: Iontophoresis; Ions; Topical applications; Cadaver tissue of chicken.

1. Fisioterapeuta, MSc. em Engenharia Biomédica pela UTFPR, Doutorando em Engenharia Biomédica pela UTFPR, Bolsista CNPq, Curitiba, PR - Brasil, E-mail: kruegereddy@gmail.com

2. Farmacêutico, Universidade do Vale do Iguaçu, União da Vitória, SC - Brasil.

3. Engenheiro, MSc. em Processamento de Sinais e Imagens pelo INSA, Doutorando em Engenharia da Computação pelo INSA, Lyon - França.

4. Doutor em Engenharia Biomédica pela UNICAMP, Campinas – SP. Docente da PUCPR e da UTFPR, Curitiba, PR - Brasil.

INTRODUÇÃO

A prática de terapias utilizando a iontoforese vem sendo mencionadas na literatura desde o século XVII cujo pioneiro foi Pivati (1689 – 1764). Mais tarde, no início do século XX, Le Duc (1853 – 1939), após realizar estudos *in vivo* com coelhos, demonstrou que através de uma corrente galvânica (contínua) ocorria transferência iônica dependendo da polaridade dos íons e dos eletrodos (MARTINS *et al.*, 2007; GAZELIUS, 2008). O uso de iontoforese varia em tempo de aplicação e em intensidade da corrente elétrica para cada substância, utilizando um potencial elétrico, ou uma corrente elétrica definida, oferece de maneira controlada uma maior quantidade de transferência transdermal de íons, tanto positivos quanto negativos (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

Sendo uma técnica não invasiva, utiliza-se da difusão passiva e também de mecanismos como a eletrorepulsão, eletrosmose, e o aumento da permeabilidade da pele para promover uma maior movimentação iônica para o meio intertissular (ESTEVES JUNIOR *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2005; MESQUITA *et al.*, 2009). Por intermédio de uma fonte de energia e com o auxílio de dois eletrodos, um positivo (ânodo) e outro negativo (cátodo), e utilizando uma solução eletrolítica entre o ânodo e a pele, aplica-se a corrente elétrica. O procedimento da iontoforese baseia-se no princípio de Du Fay no qual cargas iguais se repelem e cargas opostas se atraem, facilitando a penetração de íons através das camadas da pele (TAVEIRA, 2007; GRATIERI *et al.*, 2008).

Atualmente, a iontoforese tem maior aplicabilidade para tratamentos estéticos (ZANIN *et al.*, 2008), em parte devido à falta de estudos experimentais que dêem relevância a sua eficácia em tratamentos de ação terapêutica (LEITE, 2005; ZANIN *et al.*, 2008). Entretanto, a iontoforese, por ser uma técnica terapêutica tópica, oferece efeitos locais sem possivelmente provocar efeitos sistêmicos indesejáveis (BEHAR-COHEN *et al.*, 1997). Devido ao seu baixo custo e eficácia terapêutica, esta técnica vem ressurgindo como opção de tratamento (JUNIOR *et al.*, 2004). Há uma escassez de material científico que auxilie na definição de técnicas farmacêuticas a serem aplicadas, na dosagem dos fármacos utilizados, assim como na especificação da natureza do sinal elétrico aplicado (intensidade, forma de onda e duração). Há escassez de estudos bem como a identificação de possíveis efeitos indesejados decorrentes do tratamento (HEIDEMANN e ROSAS, 2003; FIALHO *et al.*, 2007),

sendo estes os fatores que nos motivaram a realização desta pesquisa, principalmente relativo à penetração da substância aplicada nos tecidos.

Considerando as dificuldades apresentadas, objetiva-se neste trabalho, aplicando uma tensão elétrica definida, proceder à aplicação de Iontoforese com gel básico de Carbopol®, Trietanolamina® e corante Violeta de Genciana®, em tecido muscular cadavérico de frango, visando avaliar qualitativamente a intensidade da penetração do mesmo através das camadas musculares das amostras.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa experimental foi realizada com o intuito de obter resultados visuais qualitativos, quanto ao aumento da penetração de íons através das camadas do tecido cadavérico de frango. A pesquisa ficou delimitada a analisar apenas macroscopicamente o possível aumento da penetração de um corante através das camadas musculares das amostras, não sendo efetuados testes mais aprofundados ou análise microscópica das mesmas.

O critério de inclusão da amostra foi peito de frango fresco dentro do prazo de validade. O critério de exclusão seria uma diferença qualitativa da densidade do tecido, como presença de caroços no tecido muscular e possível aumento da resistência tissular nesses caroços, inviabilizando os testes.

A amostra constituiu-se de seis pedaços da carne de peito de frango *ex vivo*, cada pedaço com 16 cm de comprimento por 9 cm de largura, com massa aproximada de 250 g, como ilustra a Figura 1.



Figura 1 - Fotos mostrando as amostras onde foram aplicados os procedimentos.

Utilizou-se gel básico de Carbopol® e Trietanolamina®, com 20% de corante Violeta de Genciana® como mostra a Figura 2, com eletrodos de silicone carbono 5 cm x 1 cm. O estímulo elétrico foi gerado por meio de um oscilador de corrente, construído especialmente para o ensaio, e alimentado por uma fonte regulada, alimentado com a tensão da rede elétrica. Para monitoração da tensão de saída do estimulador, utilizou-se um osciloscópio Tektronix® modelo TDS 1002B. Para a medição da temperatura e umidade relativa, empregou-se um termo-higrômetro Minipa® MT-241. Como a resistência elétrica influencia proporcionalmente a atenuação da penetração de substâncias ionizadas durante a iontoforese, um multímetro digital Icel® IK-1500 foi utilizado na medição da resistência aparente do corante e dos tecidos, onde nas pontas do multímetro foram colocados os eletrodos e posicionados sobre as amostras e sobre o corante. Para a aquisição das imagens, utilizou-se uma câmera digital Atos® ACAM 1770 com o foco a aproximadamente trinta centímetros do objeto.



Figura 2 - Gel básico de Carbopol e Trietanolamina com corante Violeta de genciana utilizado no experimento.

Procedimento

Após limpeza do cadáver de frango (sem dados do abatimento) com dissecação do tecido muscular frente a tecidos adjacentes como gordura, ossos, cartilagens, dentre outros. Foi realizada assepsia com álcool etílico hidratado a

concentração de 70%. As partes do cadáver de frango foram divididas em três grupos de aplicação: A, B e C. As resistências das amostras de corante e do fármaco diclofenaco dietilamônico (antiinflamatório tópico) foram medidas.

Para aplicação do protocolo experimental, utilizou-se o circuito oscilador com limite de corrente em 4 mA, ligado a um osciloscópio Tektronix® modelo TDS 1002B (não isolado da rede elétrica) para monitorar o funcionamento do estimulador elétrico durante o procedimento experimental. Como interface, utilizou-se na amostra do grupo A, gel básico de Carbopol® e Trietanolamina® com corante Violeta de Genciana® sob ambos os eletrodos.

O estimulador fornecia ao grupo A uma onda quadrada de 108 Hz e 12 V, ou seja, a cada período de 9,2 ms a amostra foi submetida à estimulação elétrica de 4,6 ms como ilustra a Figura 3, durante um período total de 40 min (FRUCHT-PERY *et al.*, 2004; ZANIN *et al.*, 2008). No grupo B, foi aplicada uma tensão constante de 20 V durante 40 min (ESTEVES JUNIOR *et al.*, 2005). No grupo C, procedeu-se apenas à colocação dos eletrodos sobre uma camada de gel base com corante, sem a aplicação de qualquer corrente elétrica durante 40 min (ESTEVES JUNIOR *et al.*, 2005).

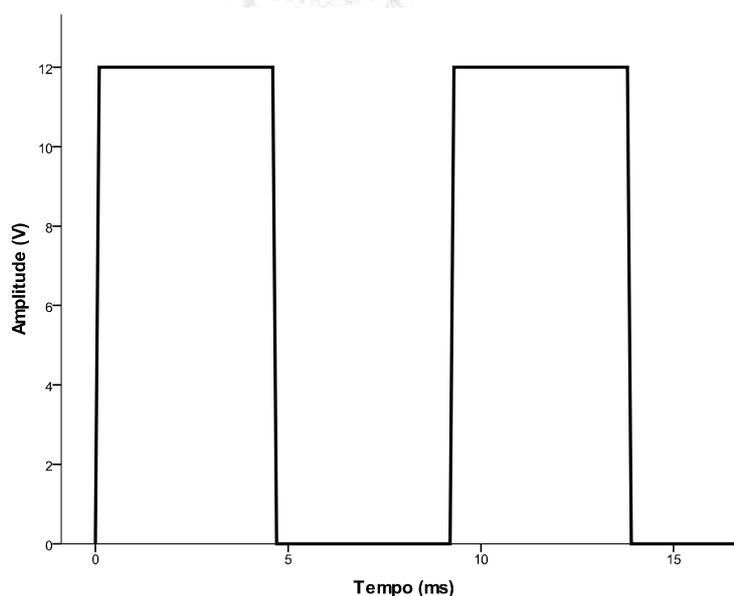


Figura 3 - Gráfico ilustrativo da frequência do oscilador. Tempo on (ativo) do pulso de 4,6 ms; tempo off (inativo) do pulso de 4,6 ms.

Após concluir a aplicação do protocolo, os grupos tiveram um corte anatômico sagital (longitudinal) no nível do eletrodo, para análise fotográfica da penetração do corante.

RESULTADOS

Como se observa na Figura 4, os resultados obtidos por imagem fotográfica, após a aplicação no Grupo B não foram satisfatórios, não tendo sido possível identificar de forma visível e direta o grau de penetração do corante através das camadas de tecido da amostra.

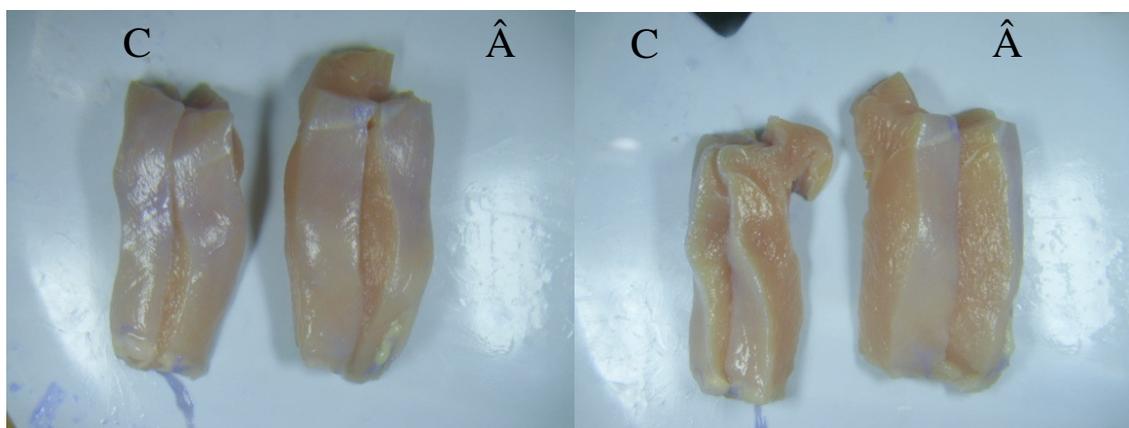


Figura 4: Fotos do Grupo (B), onde em C foi aplicado o eletrodo negativo e Â foi aplicado o eletrodo positivo. Os pedaços foram divididos após a aplicação e seccionados sagitalmente.

A Tabela 1 mostra os valores das resistências aparentes medidas para o experimento.

Tabela 1- Resistências medidas

Amostra	Resistência aproximada (kΩ)
Gel básico	33
Frango (sem gel e com eletrodo)	137
Frango (com gel e eletrodo)	78
Diclofenaco Dietilamônico	625

DISCUSSÃO

Kim *et al.* (1993) adotaram um modelo de aplicação em pele de ratos com o estrato córneo removido, utilizando uma corrente de 0,2 mA com uma tensão que variou de 2,1 V a 1,24 V em aplicações que duraram até 2 h. Os resultados indicaram uma diminuição na medição da impedância da pele quando a tensão elétrica utilizada variava entre 1,5 V a 2,0 V, devido à iontoforese atuar no transporte de íons circundantes. Neste estudo, os resultados obtidos após análise do Grupo A (sem imagem) também não foram satisfatórios. Neste grupo, foi aplicada uma corrente oscilante de 108 Hz com intensidade limitada em 5 mA e duração de 40 min. Frucht-Pery *et al.* (2004) avaliaram a penetração de Gentamicina® na córnea de coelhos, mas ao contrário deste estudo, os pesquisadores obtiveram resultados positivos. O insucesso deste estudo poderia ser decorrente da resistência do corante, da intensidade ou do tempo da aplicação.

O objetivo da pesquisa realizada por Zanin *et al.* (2008) foi investigar a ação de um tratamento utilizando iontoforese e gel de cúrcuma sobre o tecido adiposo abdominal, e avaliar o perfil lipídico, antes e depois das aplicações. Os resultados foram satisfatórios, tanto para a diminuição da gordura abdominal quanto para o aumento de HDL-C ($p=0,085841$) e diminuição do LDL-C ($p=0,005065$), pois houve diferença estatística significativa ($p<0,05$). No experimento descrito por Zanin *et al.* (2008), a iontoforese foi aplicada juntamente com gel de cúrcuma a 10%, e foi induzida por uma corrente estimulatória de frequência igual a 10 Hz e intensidade de 4 mA, totalizando 10 sessões de 40 min cada.

Neste estudo, no Grupo C, foi aplicado o gel com corante sob os eletrodos positivo e negativo, durante o período de 40 min; porém, nesta amostra não houve uso de qualquer tipo de corrente elétrica. Os resultados revelaram-se negativos quanto à ocorrência de penetração do corante através das camadas musculares. Resultados semelhantes aos do Grupo C foram obtidos por Esteves Junior *et al.* (2005), onde uma solução de 3 ml de Cloridrato de Hidralazina® em solução fisiológica com concentração de 0,2 mg/ml foi aplicada em um retalho cutâneo feito em ratos. A solução foi aplicada sob o eletrodo negativo sem a aplicação de qualquer tipo de corrente elétrica. Este experimento revelou que em relação ao tratamento utilizando juntamente a iontoforese, o Cloridrato de Hidralazina® utilizado

de forma tópica não proporcionou melhora diante ao quadro de necrose no retalho cutâneo.

O corante utilizado no experimento foi o Violeta de Genciana®, que retém uma carga negativa. O gel com o corante pode ser aplicado tanto no eletrodo catódico quanto no anódico (GRATIERI *et al.*, 2008). Este tipo de aplicação decorre do fato de que alguns autores sugerem que as substâncias de carga negativa devem ser aplicadas a partir do pólo negativo (LIANZA, 2001). Por outro lado, Low e Reed (2001) descrevem que substâncias negativas devem ser aplicadas em eletrodos de pólo positivo, demonstrando contradição da aplicação da iontoforese entre os autores.

No experimento realizado por Heidemann e Rosas (2003), foi utilizada uma solução de Diclofenaco de Sódio®, fármaco de carga negativa. Esta solução foi aplicada juntamente com a iontoforese, utilizando ambos os eletrodos, positivo e negativo. O procedimento foi realizado com auxílio um aparelho Nemesys®-941, sendo que quando a solução de carga negativa teve seu posicionamento variado em (1) eletrodo negativo e (2) eletrodo positivo. A distância entre os eletrodos foi de 5 cm. O tempo de aplicação foi de 8 min, totalizando 10 aplicações. Os resultados revelaram que a solução de carga negativa empregada teve melhores resultados quando aplicado sob o eletrodo de pólo positivo.

Nesta pesquisa, a Tabela 1 indica que o antiinflamatório (Diclofenaco Dietilamônico®) teve uma impedância maior (625 k Ω) que a do corante utilizado (33 k Ω). Mesmo que a penetração do corante não tenha apresentado alteração imaginológica, a hipótese é de que as alterações sejam microscópicas. Devido ao antiinflamatório possuir uma impedância muito maior que a do corante utilizado, e apresentar resultados positivos em pesquisas com humanos, como em Heidemann e Rosas (2003).

CONCLUSÕES

Após terem sido feitos cortes sagitais nas amostras na altura dos eletrodos, efetuou-se a análise visual e qualitativa para evidenciar o aumento da penetração do corante nas amostras. A metodologia de aplicação utilizada neste ensaio experimental baseou-se em pesquisas científicas já publicadas, em sua maioria, obtiveram resultados satisfatórios, porém utilizaram amostras *in vivo*, compostas por humanos ou cobaias de laboratório (ratos, coelhos). Os resultados visuais obtidos neste estudo revelam que não houve um aumento na penetração do corante através das

amostras *ex vivo*. As resistências aparentes medidas neste estudo com um multímetro digital, revelam que o Diclofenaco Dietilamônico® possui uma resistência aparente maior (625 kΩ) que a do corante utilizado nesta pesquisa (33 kΩ). Desta forma, o corante teria mais possibilidade de penetrar as camadas musculares do que o Diclofenaco Dietilamônico®, o que levanta a hipótese de que a eficiência da iontoforese pode ser comprovada somente de forma microscópica, inviabilizando a identificação de qualquer aumento da penetração do corante por meio das amostras por meio de análise macroscópica. Entretanto, as amostras utilizadas nesta pesquisa foram em tecido muscular de frango *ex vivo*. Pode-se levantar a questão de que a intensidade de corrente utilizada, bem como o tempo de aplicação não foram suficientes para que a iontoforese pudesse a produzir ação desejada nesse tipo de amostras.

Portanto, conclui-se a aplicação de iontoforese com gel básico de Carbopol® e Trietanolamina® com corante Violeta de Genciana® sobre tecido cadavérico de frango, não apresenta diferença imagiológica em relação ao grupo controle (sem aplicação de iontoforese). Em futuras pesquisas, poder-se-á verificar a utilização de diferentes intensidades e frequências de corrente aplicada, assim como a origem das amostras a serem utilizadas, podendo ser avaliado tecido cadavérico de suíno ou até mesmo amostras *in vivo*, além de análises histológicas por meio de microscopia.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, à SETI-PR e ao CNPQ pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

BEHAR-COHEN, F., PAREL, J., POULIQUEN, Y., THILLAYE-GOLDENBERG, B., GOUREAU, O., HEYDOLPH, S., COURTOIS, Y. e DE KOZAK, Y. Iontophoresis of dexamethasone in the treatment of endotoxin-induced-uveitis in rats. **Experimental Eye Research**, v.65, n.4, p.533-545, 1997.

ESTEVES JUNIOR, I., MASSON, I. B., FERREIRA, L. M., LIEBANO, R. E., BALDAN, C. e GOMES, A. C. Topical administration of hydralazine hydrochloride on the viability of random skin flaps in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.20, p.164-167, 2005.

FIALHO, S. L., JÚNIOR, A. S. C. e DA SILVA, A. Sistemas de transporte de drogas para o segmento posterior do olho: bases fundamentais e aplicações. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.70, n.1, 2007.

FRUCHT-PERY, J., MECHOULAM, H., SIGANOS, C., EVER-HADANI, P., SHAPIRO, M. e DOMB, A. Iontophoresis-gentamicin delivery into the rabbit cornea, using a hydrogel delivery probe. **Experimental Eye Research**, v.78, n.3, p.745-749, 2004.

GAZELIUS, B. Iontophoresis-theory. 2008. Disponível em: http://www.perimed.se/p_Products/IontophoresisTheory.pdf#search=%22iontophoresis%20theory. Acessado em 23 de fevereiro de 2010.

GRATIERI, T., GELFUSO, G. e LOPEZ, R. Princípios básicos e aplicação da iontoforese na penetração cutânea de fármacos. **Química Nova**, v.31, n.6, p.1490-1498, 2008.

HEIDEMANN, K. e ROSAS, R. Tratamento iontoforético com diclofenaco sódico. 2003. Disponível em <http://www.fisio-tb.unisul.br/Tccs/03a/karla/artigokarlaheidemann.pdf>. Acessado em julho de 2010.

JUNIOR, I. E., FERREIRA, L. M. e LIEBANO, R. E. Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina por iontoforese na viabilidade de retalho cutâneo randômico em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.19, n.6, 2004.

KIM, A., GREEN, P., RAO, G. e GUY, R. Convective solvent flow across the skin during iontophoresis. **Pharmaceutical research**, v.10, n.9, p.1315-1320, 1993.

LEITE, R. G. Fisioterapia Dermato – Funcional Uma área em observação. 2005. Disponível em: <http://www.fisioterapia.com.br>. Acessado em Outubro de 2008.

LIANZA, S. **Medicina de reabilitação**: Guanabara Koogan. 2001.

LOW, J. e REED, A. **Eletroterapia explicada: princípios e prática**: Manole São Paulo. 2001.

MARTINS, F., MAZZALLÍ, J. H. e DE ARAÚJO FURTADO, M. Estudo da viabilidade da iontoforese na infusão de medicamentos, utilizando eletrodos móveis. 2007.

MESQUITA, C. R., ALMEIDAB, J. C. F., YAMAGUTIC, P. M., DE PAULAD, L. M. e GARCIAE, F. C. P. hiperestesia dentinária: opções de tratamento management of dentin hyperesthesia. **Revista Dentística On line 2009**, v.8, p.18, 2009.

OLIVEIRA, A. S., GUARATINI, M. I. e CASTRO, C. E. S. Fundamentação teórica para iontoforese. **Rev. bras. fisioter. Vol**, v.9, n.1, p.1-7, 2005.

TAVEIRA, S. F. Desenvolvimento de formulações iontoforéticas semi-sólidas para o tratamento de tumores cutâneos: estudo *in vitro* em cultura de células tumorais (Tese) USP, Ribeirão Preto, 2007.

ZANIN, C. T. P., NOHAMA, P. e DA LOZZO, E. J. Efeitos da eletrolipoforese e da iontoforese com cúrcuma no tecido adiposo. Em: **21º Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica** Salvador, BA. p. 263-6, 2008.

