

ESTUDO COMPARATIVO DA VEICULAÇÃO DO DICLOFENACO SÓDICO PELA FONOFORSE DE ALTA E BAIXA FREQUÊNCIA EM RATOS¹

COMPARATIVE STUDY OF SODIC DICLOFENACO VEICULATION BY FONOFORESIS USING HIGH AND LOW FREQUENCY IN RATS.

José Wagner Cavalcante MUNIZ², José Luiz Martins DO NASCIMENTO³, Larissa Maria Guimarães BORGES⁴, Camilla Fernanda Chuva Mergulhão⁵ e Lidiane Maria Guimarães DE SOUSA⁶

RESUMO

Objetivo: estudar a aplicação do ultrassom terapêutico com alta frequência-3MH em estudo comparativo com aplicação do ultrassom terapêutico de baixa frequência-1MHz, na indução do aumento na absorção transcutânea do diclofenaco de sódio pela pele de ratos. **Método:** estudo experimental utilizando 15 ratos machos, adultos, da linhagem Wistar, com peso entre 250 a 350 gramas, distribuídos em três grupos: Alta, Baixa Frequência e Controle de 5 ratos cada. Foram coletadas 4 amostras de sangue de cada animal, nos tempos de 0' antes da aplicação do ultrassom, 30', 60' e 90' minutos após a realização da técnica específica para cada grupo. Na leitura das amostras, foi utilizado o equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência-CLAE. **Resultado:** a análise foi obtida através do método não paramétrico, ANOVA de Kruskal-Wallis, não comprovando diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados no que diz respeito a maior absorção do fármaco. **Conclusão:** os resultados obtidos sugerem novos estudos, que busquem aperfeiçoar o método aplicado e possa agregar maiores conhecimentos ao assunto pesquisado o que possibilitará resultados cada vez mais precisos.

Palavras-chave: fisioterapia, fonoforese, diclofenaco e cromatografia. Eficiência (CLAE).

INTRODUÇÃO

Na fisioterapia, é muito comum o emprego da terapia ultrasônica nas lesões de partes moles, com efeito antiálgico, antiedema, e de aceleração na recuperação do tecido lesionado¹.

O diclofenaco faz parte de um grupo de fármacos Antiinflamatórios Não Esteroidais (AINE's); estes medicamentos são, comumente, utilizados para reduzir processos inflamatórios associados com lesões de tecidos

moles, sendo sua principal aplicação clínica como agente antiinflamatório².

A prática clínica associada a aplicação do ultrassom terapêutico com fármacos tem sido utilizada para maximizar a absorção do fármaco em processos anti-inflamatórios. Este método é chamado de fonoforese³.

As ondas ultrassônicas não fazem parte do espectro eletromagnético da mesma forma que as ondas curtas ou micro-ondas. Embora sejam produzidas eletricamente, as ondas ultrassônicas são ondas de compressão⁴. As frequências das ondas ultrassônicas variam de 20.000 a 20.000.000 de ciclos por segundo, sendo que, cada ciclo corresponde a uma

¹Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia. Laboratório de Neuroquímica Molecular e Celular, Universidade Federal do Pará, Belém/PA.

²Professor Assistente IV Mestre da Universidade do Estado do Pará/Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/DCMH.

³Professor Adjunto Doutor. Diretor do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará. Chefe do Laboratório de Neuroquímica e Biologia Celular do ICB da UFPA.

⁴Estagiário no Laboratório de Toxicologia da Universidade Federal do Pará.

⁵Graduando do Curso de Fisioterapia da Universidade da Amazônia.

⁶Graduando do Curso de Fisioterapia da Universidade da Amazônia.

pressão-rarefação por segundo (onde, 1 ciclo/s = 1 Hz). A frequência para terapia varia de 0,7 a 3 MHz. No Brasil trabalha-se com frequência de 1 e 3 MHz⁵.

O feixe de ultrassom tem sua intensidade reduzida pela metade a determinada distância (D/2), que dependerá da natureza do meio e da frequência de ondas. Ondas de frequências altas são absorvidas mais rapidamente e possuem menor D/2 do que frequências baixas, portanto, quanto mais alta a frequência, e menor o comprimento de onda, maior será sua absorção^{5,6}.

QUADRO I. Profundidade das ondas ultrassônicas em média D/2 em diversos meios.

Profundidade média D/2 em diversos meios			
ATENUAÇÃO EM DIFERENTES TECIDOS			
	1MHz	3MHz	OBS
Tecido Ósseo	2.1mm		
Pele	11.1mm	4mm	
Cartilagem	6mm	2mm	
Ar	2.5mm	0.8mm	
Tecido tendinoso	6.5mm	2mm	
Tecido muscular	9mm	3mm	Feixe perpendicular ao tecido
	24.6mm	8mm	Feixe paralelo ao tecido
Tecido adiposo	50mm	16.5mm	
Água	115mm	3.833,3mm	

FONTE: Adaptado de COHEN & ABDALLA, 2005.

Os princípios da absorção dizem que quanto maior a frequência, menor o comprimento da onda, e maior será a absorção superficial, sendo dependente da: impedância acústica do tecido, densidade do tecido e suas interfaces, frequência do ultrassom, quantidade de proteína do tecido, quantidade de água e gordura, ângulo de incidência, viscosidade do fluido, reflexão, refração e ondas transversais, conforme quadro:

QUADRO II. Comportamento da absorção do ultrassom com a relação frequência.

Comportamento da absorção com a frequência			
Coeficiente de Absorção			
Frequência MHz	Músculo	Gordura	Sangue
1	0,12	0,04	0,18
2	0,36	0,16	0,58

FONTE: COHEN & ABDALLA, 2005 (adaptado de Wodsworth e Chanmugan).

Agne⁶ descreve que à medida que o feixe ultrassônico avança nos tecidos, vai perdendo sua intensidade. Isto se dá por diversos fatores, desde a própria absorção das ondas ultrassônicas pelo meio até as diversas reflexões. A profundidade de penetração está em relação inversa com a frequência. A profundidade ainda é bastante discutida, obviamente pelas metodologias distintas utilizadas nos diferentes estudos de investigação científica^{6,7}.

A indução à absorção transcutânea de drogas pela sonoforese se baseia na perturbação tecidual, ou seja, na mudança da estrutura das camadas cutâneas¹. O ultrassom aumenta a penetração transcutânea por pressão somática, podendo chegar a média a atingir entre 4-5 cm de profundidade⁶.

A quantidade de diclofenaco sódico absorvida através da pele é proporcional ao tempo de contato e à área da pele coberta com diclofenaco e depende da dose tópica total e da hidratação da pele. Quantidade de absorção em cerca de 6% da dose de diclofenaco, após aplicação tópica de 2,5g de Voltaren emugel[®] por 500 cm² de pele, foram determinadas, tomando como referência a eliminação renal de Voltaren comprimido (Novartis Pharma Brasil, São Paulo, Brasil)²⁰.

Eliminação – O *clearance* (depuração) sistêmico total do diclofenaco do plasma é de 263 ± 56 ml/min (valor médio ± DP). A meia-vida terminal no plasma é de 1-3 horas (Dicionário de Especialidades Farmacêuticas)²⁰.

OBJETIVO

Comparar a aplicação do ultrassom terapêutico com alta frequência (3MHz), induzindo um aumento na absorção transcutânea de um fármaco anti-inflamatório conhecido e de larga escala comercial de consumo (diclofenaco sódico na forma de gel) pela pele de ratos em estudo experimental com aplicação do ultrassom terapêutico de baixa frequência (1MHz).

MÉTODO

Realizada uma análise quantitativa, experimental, randomizada, no período de janeiro a setembro de 2007.

O trabalho foi realizado após aprovação pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas e Saúde - CCBS da Universidade do Estado do Pará – UEPA, pelo Protocolo nº 126/06, conjuntamente no Laboratório de Neuroquímica e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará - UFPA e no Laboratório de Cirurgia Experimental – LCE/UEPA. As análises cromatográficas foram efetuadas no Laboratório de Toxicologia no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará - UFPA.

Material

Foram utilizados 15 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*) machos, adultos, da linhagem Wistar, com peso entre 250 a 350 g e com idade aproximada de doze semanas.

Todos os animais procederam do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas –CCB/UFPA. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas (cinco animais por gaiolas), em condições ambientais controladas quanto à luminosidade, com ciclo claro/escuro de 12 h, temperatura (22-25 °C) e umidade (40% a 60%), recebendo dieta padrão constituída de ração NUVILAB CR-1 (Nuvital Nutrientes Ltda., Paraná, Brasil) e água, *ad libitum*. Durante as 24 horas que antecedem o início do experimento os animais foram submetidos à dieta líquida.

Critérios de inclusão e exclusão

Foi padronizada a inclusão das amostras sanguíneas coletadas de animais ainda vivos, as quais se encontraram viáveis à análise; excluídas todas as amostras coletadas de animais que por ventura evoluíram a óbito durante o procedimento, ou que se tornou impossibilitada a adequada coleta das mesmas nos exatos intervalos de tempo determinados.

Grupo de animais estudados

Os grupos de ratos foram escolhidos pelo método de amostras aleatórias simples, feita por sorteio computadorizado, utilizando o programa *BioEstat*® 5.0; os ratos foram distribuídos em três grupos compostos de cinco animais cada, conforme distribuição a seguir:

- Grupo Controle (GC) (n=05) – Aplicação tópica do diclofenaco sódico na forma gel veiculado pelo

transdutor do ultrassom em *off line* por 5 min. na região do abdômen do animal em área de 16 cm².

- Grupo Alta Frequência (GAF) (n=05) – Aplicação tópica do diclofenaco sódico na forma gel com veiculação através de ondas ultrassônicas de alta frequência (3 MHz) e intensidade (0,5 W/cm²) e curta duração (5 min.) na região do abdômen do animal em uma área de 16 cm².
- Grupo Baixa Frequência (GBF) (n=05) – Aplicação tópica do diclofenaco sódico na forma gel com veiculação através de ondas ultrassônicas de baixa frequência (1 MHz) e intensidade (0,5 W/cm²) e curta duração (5 min.) na região do abdômen do animal em área de 16 cm².

Aparato experimental

O experimento foi realizado com equipamento de ultrassom clínico de 1 – 3 MHz modelo *ultrasound Therapy Plus* da marca Bioset®. Este equipamento atende os requisitos da norma de segurança para equipamentos eletromédicos IEC 601 (norma geral) e ICE 601-2-5 (norma particular para equipamentos de ultrassom).

O gel medicamentoso utilizado foi Voltaren Emugel® e, conforme informações contidas na bula, contém 1g do diclofenaco sódico a cada 100g do gel. Cada animal recebeu 3g do gel no abdômen a ser tratado, de modo que a massa total recebida foi equivalente a 0,03 g de diclofenaco sódico.

Reagentes, soluções de Referência e equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Foram utilizados os seguintes reagentes de grau CLAE: Acetonitrila (Sigma) e Trietilamina (MERCK); e reagentes de grau analítico: Hexano (VETEC) e Álcool Isopropílico (MERCK). As soluções de referência e padrões que foram utilizados são: ácido octo-fosfórico 2,5 M; solução padrão de Diclofenaco 1,0µg/ml; solução padrão de Fenacetina 5,0 ; solução tampão pH 7 e pH 4.

A análise cromatográfica foi executada utilizando cromatógrafo VARIAN® (FIGURA 1) para CLAE composto de módulo de bombeamento isocrático ProStart 300, injetor manual reodyne com loop de 20 ul, detector duplo canal Ultravioleta e Visível ProStar 220 com monitoramento e aquisição de dados

simultaneamente em software Star Cromatography Workstation® para processamento de dados, desenvolvimento de métodos, gerenciamento e controle cromatográficos. A coluna foi uma Symmetryshield, VARIAN®, RP18 com 5 µm e 250 x 4.6 mm. Também foi utilizado no desenvolvimento do experimento, ultra-som, Q-335D, *Quimis*®; agitador de tubos vortex, Q-22OB1, *Quimis*®; centrífuga, 2K15, *Sigma Laborzentrifugen* e peagâmetro digital PHS-EB, *Phtek*.

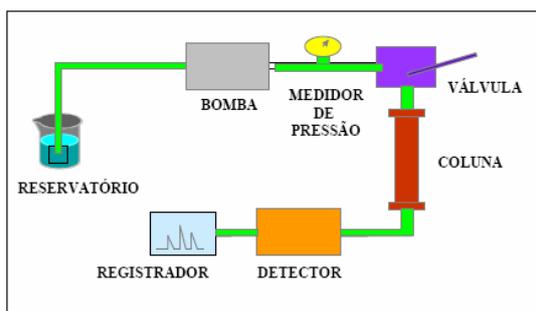


Figura 1: Esquema dos Componentes de um sistema de CLAE
Fonte: Silva, 2007.

Material de análise

Amostras de sangue (total de 4,4 ml igual a 04 amostras de 1,1ml) foram coletadas pela cateterização de artéria carótida interna, segundo método descrito por Brito e col.⁸. A venoclise foi mantida com cateter heparinizado, conforme descrito por Kohn⁹, a fim de se repetir a coleta no período, imediatamente, anterior a aplicação do ultra-som e nos intervalos de 30, 60 e 90 minutos após a realização do procedimento. As amostras foram colocadas em tubos contendo 0.011 ml do anticoagulante Ácido etilenodiaminotetracético – EDTA. O plasma permaneceu congelado a – 20°C até a data da análise cromatográfica.

Procedimentos experimentais

Os animais foram anestesiados com uma solução de ketamina (60mg/Kg) e xylazina (10mg/Kg), por via intraperitoneal¹⁰.

Com o animal em plano anestésico, foram pesados e posteriormente feita epilação da região abdominal, iniciando-se de uma linha imaginária verticalmente que passa na região crânio caudal, cruzando com uma linha imaginária do membro superiores, com um total de 16cm² de área.

Experimento.

Após a cateterização da artéria carótida e retirada da primeira amostra de sangue, foi colocado 3g do gel diclofenaco sobre o ultrassom no modo contínuo, que foi aplicado sobre a região epilada do animal, com intensidade de 0,5 W/cm², pelo tempo de 5 minutos e de acordo com cada grupo (alta e baixa frequência), tiveram seu parâmetro de frequência ajustado. Após 30, 60 e 90 minutos seguiram-se as três outras coletas, todas armazenadas em tubos com 0,011 de anticoagulante EDTA e guardadas refrigeradas até o momento da análise cromatográfica..

Utilizada inalação excessiva de éter etílico para eutanásia.

Procedimento de análise cromatográfico

As determinações de diclofenaco foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), segundo método descrito por Rosim¹¹, com modificações.

A fase móvel para diclofenaco sódico consistiu de uma mistura isocrática composta de acetonitrila e solução aquosa de Trietilamina 0,01 M, pH6,3, ajustado com ácido fosfórico a 50%. A solução foi submetida à filtração e degaseificação no ultra-som por dez minutos antes do uso. O fluxo utilizado foi 1,2 ml/min e comprimento de onda de 280 nm.

Para extração de diclofenaco do sangue total, foi utilizado uma alíquota de 225 µl da amostra adicionada a um tubo de ensaio contendo 100 µl de Fenacetina 5,0µg/ml (padrão interno). A solução obtida foi agitada em Vortex por 30 segundos. Em seguida foi adicionado 500 µl de ácido orto-fosfórico 2,5M e 1,5 ml de Hexano: álcool isopropílico (80:20). A mistura foi homogeneizada por 5 minutos e centrifugada a 3.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para tubo Eppendorf de 2,0 ml e evaporados em banho maria na temperatura de 60°C até *secura completa*. O resíduo foi dissolvido em 100µl de fase móvel e uma alíquota de 50 µl foi injetada no CLAE.

A curva de calibração do diclofenaco foi realizada utilizando sangue branco adicionado com as concentrações de 0,025, 0,05, 0,1, 0,2 e 0,3 µg/ml da solução de trabalho de diclofenaco (solução padrão de diclofenaco 1,0µg/ml). A solução formada foi agitada em Vórtex durante 30 segundos e, em seguida, submetida ao mesmo procedimento de extração descrito acima.

A concentração plasmática de diclofenaco sódico foi determinada a partir da relação entre a área da amostra e a área do padrão interno. Em seguida, os valores obtidos foram plotados na equação da curva de calibração e a concentração do fármaco foi obtida.

Análise estatística

Para avaliar a hipótese nula a qual declara que a absorção do diclofenaco independe da condição experimental, foi utilizado um método não paramétrico, a ANOVA de Kruskal-Wallis, conforme recomenda Ayres *et al.*¹² Foi previamente fixado o nível de significância $p = 0.05$ para rejeição da hipótese de nulidade. As estatísticas descritivas e inferenciais foram realizadas sob o suporte computacional do pacote bioestatístico *BioEstat 5.0*.

RESULTADOS

A penetração do diclofenaco foi observada no plasma sanguíneo em todas as amostras.

Tabela IV: Estatística descritiva da variável Peso(s) ns grupos experimentais. $p = 0.4538$

	Controle (n=5)	Grupo B (n=5)	Grupo A (n=5)
Mínimo	215	241	200
Máximo	296	310	312
Mediana	250	302	256
Primeiro Quartil (25%)	246	270	244
Terceiro Quartil (75%)	276	308	285
Média Aritmética	256.60	286.20	259.40
Desvio Padrão	30.88	29.99	42.42
Assimetria (g1)	-0.07	-1.06	-0.28
Curtose (g2)	-0.36	-0.50	-0.05

Fonte: Protocolo da pesquisa.

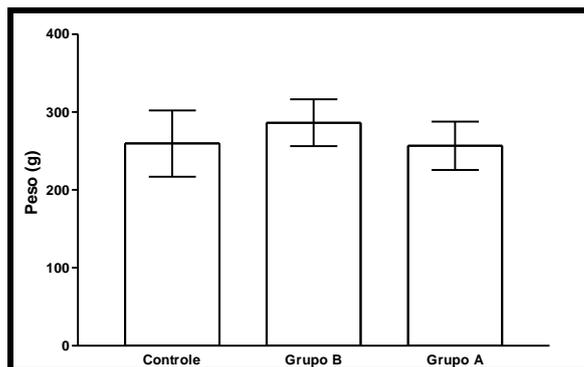


Gráfico 1: Média e desvio padrão da variável Peso(s) ns grupos experimentais.

A tabela V, a comparação da aplicação do diclofenaco, em intervalos de 30 minutos nos três grupos, observou-se que o grupo de Alta Frequência, apesar de ter maior média, apresentou alta variabilidade expressa pelo desvio padrão.

Tabela V: Aplicação de diclofenaco em intervalos de 30 minutos nos três grupos. $p = 0,5258$

	Controle (n=5)	Grupo B (n=5)	Grupo A (n=4)
Mínimo	0.23	0.44	0.60
Máximo	1.08	1.18	1.96
Mediana	0.83	0.75	0.95
Primeiro Quartil	0.53	0.54	0.78
Terceiro Quartil	0.98	0.91	1.28
Média Aritmética	0.73	0.76	1.11
Desvio Padrão	0.35	0.29	0.59
Erro Padrão	0.16	0.13	0.30
Coefficiente de Variação	0.48	0.39	0.53
Assimetria (g1)	-0.71	0.50	1.42
Curtose (g2)	-0.98	-0.77	2.26

Fonte: Protocolo da pesquisa.

A tabela VI, a comparação da aplicação de diclofenaco em intervalos de 60 minutos nos três grupos, verifica-se que os valores da média foram próximos, sendo o grupo de Alta Frequência o mais alto, entretanto, todos apresentaram desvio padrão equivalente.

Tabela VI: Aplicação de diclofenaco em intervalos de 60 minutos nos três grupos. $p=0.3946$

	Controle (n=5)	Grupo B (n=5)	Grupo A (n=5)
Mínimo	0.16	0.17	0.50
Máximo	1.53	0.88	0.78
Mediana	0.54	0.33	0.74
Primeiro Quartil	0.38	0.18	0.57
Terceiro Quartil	0.55	0.60	0.76
Média			
Aritmética	0.63	0.43	0.67
Desvio Padrão	0.53	0.30	0.12
Erro Padrão	0.24	0.14	0.06
Assimetria (g1)	1.71	0.89	-0.72
Curtose (g2)	3.44	-0.74	-2.27

Fonte: Protocolo da pesquisa.

Na comparação da aplicação de diclofenaco em intervalos de 90 minutos nos três grupos, apresentada na tabela VII, a média do grupo de Alta Frequência, como nas comparações das tabelas anteriores, foi maior, entretanto, seu desvio padrão foi alto, comprometendo a comprovação de sua melhor eficácia na absorção.

Tabela VII: Aplicação de diclofenaco em intervalos de 90 minutos nos três grupos. $p=0.0680$

	Controle (n=5)	Grupo B (n=4)	Grupo A (n=4)
Mínimo	0.58	0.08	0.50
Máximo	1.33	0.74	2.94
Mediana	0.89	0.20	1.13
Primeiro Quartil	0.89	0.14	0.67
Terceiro Quartil	1.03	0.37	1.89
Média			
Aritmética	0.94	0.31	1.43
Desvio Padrão	0.27	0.30	1.11
Erro Padrão	0.12	0.15	0.55
Assimetria (g1)	0.18	1.67	1.16
Curtose (g2)	1.28	2.89	0.51

Fonte: Protocolo da pesquisa.

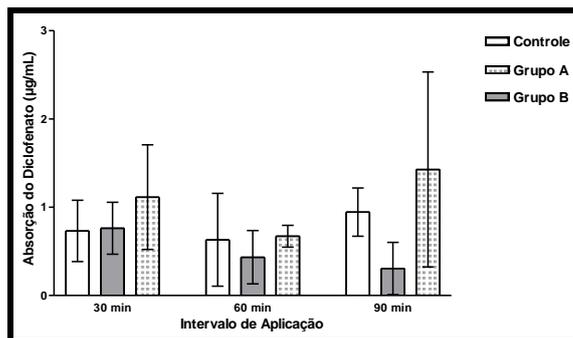


Gráfico 2: Absorção do diclofenaco, média e desvio padrão, conforme intervalo e a condição experimental.

Na comparação da aplicação do diclofenaco nos três intervalos de tempo, nos três grupos (tabela VIII), verificou-se que a média do grupo de Alta Frequência, apresentou maior valor que o dos outros grupos, entretanto, seu desvio padrão, foi relativamente maior, sugerindo que sua absorção não foi eficaz como.

Tabela VIII: Aplicação de diclofenaco nos três intervalos nos três grupos. $p=0.1449$

	Controle (n=14)	Grupo B (n=15)	Grupo A (n=13)
Mínimo	0.23	0.16	0.08
Máximo	1.96	1.53	2.94
Mediana	0.84	0.55	0.74
Primeiro Quartil	0.55	0.35	0.50
Terceiro Quartil	1.03	0.75	1.03
Média Aritmética	0.85	0.58	0.90
Desvio Padrão	0.42	0.35	0.75
Erro Padrão	0.11	0.09	0.21
Assimetria (g1)	1.26	1.32	1.77
Curtose (g2)	3.02	3.05	4.21

Fonte: Protocolo da pesquisa.

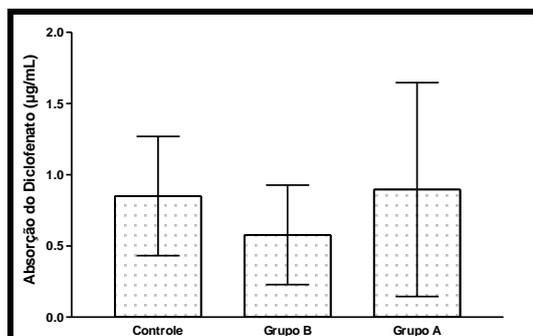


Gráfico 3: Absorção do diclofenaco, média e desvio padrão, nas três condições experimentais.

DISCUSSÃO

A taxa de transmissão do ultrassom com acopladores do tipo gel, pomadas ou óleos minerais aliados a uma variação dos procedimentos metodológicos, possibilita a ocorrência de grande dificuldade em obter um padrão para os meios acopladores^{13,14,15}.

Clapis e Moreno¹⁶ relatam fatores inerentes ao fármaco e ao modo de aplicação que podem influenciar nos resultados da pesquisa, tais como: fatores biológicos relacionados a pele, espessura da epiderme, peso, idade, irrigação sanguínea, condições metabólicas do organismo, hidratação e região de aplicação da pele. Corroborando com os fatores supracitados, estes foram todos contemplados para não influenciar nos resultados da pesquisa.

Para Agne⁶, a frequência está diretamente relacionada com a absorção e a atenuação do feixe, de forma que, o ultrassom de 3 MHz proporciona mais absorção, sendo também, mais superficial. O estudo não comprovou diferença estatisticamente significativa em seus resultados de absorção no grupo de alta frequência (3MHz).

Byl *et. al*¹⁷, evidenciou que o ultrassom favorece a penetração transcutânea de fármacos. No estudo, apesar do ultrassom ter favorecido a absorção do fármaco utilizado em todos os grupos, não ocorreu evidência estatística dessa penetração, dentro do tempo estabelecido pela pesquisa, porém, o resultado da média aritmética dos três grupos nos três tempos, sugere que o grupo de alta frequência, no tempo de 90 minutos, teve uma maior absorção em relação aos demais, sugerindo que

se houvesse sequência cronológica no tempo de coleta das amostras, talvez os resultados pudessem comprovar a eficiência da penetração transcutânea do fármaco.

O ultrassom aplicado nas diferentes frequências (1 e 3 MHz) para a introdução do fármaco, não obtiveram significância entre os grupos e os tempos aplicados, podendo ser explicado por Feldmann e Maibach¹⁸, que afirmam ser a região da aplicação transdérmica, um fator biológico de fundamental importância, uma vez que o percentual de absorção percutânea, é variável nas diferentes regiões anatômicas, sendo o abdômen uma área de menos percentual de absorção, quando comparada com áreas como: a superfície axilar, testa frontal, canal auditivo, que apresentam percentual maior de absorção.

CONCLUSÃO

A pesquisa evidenciou que a maior concentração do fármaco no plasma sanguíneo, ocorreu a partir de uma hora e trinta minutos após a aplicação do diclofenaco de sódio, utilizando a fonoforese com ultrassom no modo contínuo de alta frequência, dentro dos parâmetros especificados neste estudo.

Os resultados obtidos com esta pesquisa contribuem para a realização de novos estudos sobre a eficácia da fonoforese com o uso do fármaco, e um estabelecimento da padronização do procedimento, facilitando a difusão de drogas tóxicas.

SUMMARY

Comparative study of sodic diclofenaco veiculation by fonoforesis using high and low frequency in rats.

José Wagner Cavalcante MUNIZ, José Luiz Martins DO NASCIMENTO, Larissa Maria Guimarães BORGES, Camilla Fernanda Chuva MERGULHÃO e Lidiane Maria Guimarães DE SOUSA.

Objective: to study the application of therapeutic ultrasound with high frequency-3MH in a comparative study with application of therapeutic ultrasound, low-frequency 1MHz-induced increase in transcutaneous absorption of diclofenac sodium by the skin of mice. **Method:** an experimental study using 15 male rats, adult male rats, weighing 250 to 350 grams were divided into three groups: High, Low Frequency Control and 5 mice each. We collected 4 blood samples from each animal at 0 'prior to the application of ultrasound, 30', 60 'and 90' minutes after the completion of specific techniques for each group. In reading the samples, we used the equipment Chromatography High Performance Liquid-HPLC. **Result:** the analysis was performed using the method nonparametric

ANOVA Kruskal-Wallis test does not confirm a statistically significant difference between the groups with regard to the greater absorption of the drug. **Conclusion:** the results suggest further studies that seek to improve the methodology used, and may add more knowledge to the subject researched the results will enable more precise.

Keywords: Physiotherapy. Fonoforesis. Diclofenaco. High Efficiency Liquid Chromatography (CLAE).

REFERÊNCIAS

1. Low, J.; Reed, A. Eletroterapia explicada. 3 ed. Barueri: Manole, 2001.
2. Heyneman Ca, Liday Cl, Wall Gc: Oral versus Topical NSAIDS in Rheumatic Diseases. *Drugs* 60: 555-74, 2000.
3. Bare, A. C. ; Mcanaw, M. B. ; Pritchard, A. E., et al. Phonophoretic delivery of 10% hydrocortisone through the epidermis of humans as determined by serum cortisol concentrations. *Phys Ther.* 76:738-749, 1996.
4. Arnould T. W. Princípios e práticas de fisioterapia. 4 ed. Porto Alegre: ArteMed, 1999.
5. Cohen, M; Abdalla, EJ. Lesões nos esportes: Diagnóstico, prevenção e tratamento. Rio de Janeiro: Revinter, 2005.
6. Agne, J. E. Eletrotermoterapia teoria e prática. Santa Maria: Pallotti, 2004.
7. Mitragotri, S.; Sundaram, J, And Mellein, B. R. An experimental and theoretical analysis of ultrasound-induced permeabilization of cell membranes. *Biophysical Journal.* v.84, 2003 May; 3087-3101.
8. Brito, M. V. H.; Maneschy, R. B.; Albuquerque, B. Costa M.; Araújo Júnior, F. A. de; Braz, M. N.; Rocha Neto, O. G. da.. Técnica de dissecação e cateterização de artéria carótida comum de ratos. *Rev. Par. Med.*; 18(1): 36-41, Jan-mar. 2004.
9. Kohn Df, Wixson Sk, White Wi, Benson Gi. Anesthesia And Analgesia In Laboratory Animals. 1 ed. Londres, Academic Press, 1997.
10. Mitragotri, S.;Colemam, M.; Kost ,J.; Langer, R. Transdermal Extraction of analytes using low-Frequency ultrasound. *Pharmaceutical Research.* V.17 n.4, 2000.
11. Rosim, G. De C. Análise da influência do ultra-som terapêutico na penetração transcutânea de diclofenaco sódico em humanos sadios. Dissertação de Mestrado. São Carlos: Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de São Carlos: 2003.
12. Ayres, M. et al. Biostat 5.0: Aplicação estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém, Imprensa Oficial do Estado do Pará, 2007.
13. Balsameda, J, M, T; Fatehi, M, T; Koozekanahi, S, H, Lee, A, L. Ultrasound herapy: a comparative study of different coupling media. *Arch phys med Rehabil,* 67: 147- 50, 1986.
14. BENSON, H.A.E.; McELNAY, J.C. Topical non-steroidal anti-inflammatory products as ultrasound couplants: their potential in phonophoresis. *Physiotherapy,* v.80, n.2, 1994. P.74-6.
15. Cameron, M, H; Manroe, L, G. Relative transmission of ultrasound by media customarily used of Phonophoresis. *Physical Therapy,* 72: 142-8,1992.
16. Clapis, F, C, M; Moreno, G, D. Estudo piloto sobre a absorção percutânea de diclofenaco através de ultra-som contínuo. São Paulo. Trabalho de conclusão de curso - Faculdades Adamantinenses Integradas. São Paulo, 2003.
17. Byl, N.; Mckenzie, A.; Halliday, B.; Wong, T.; O'connell, J. The effects od phomophoresis with corticosteroids: a controlled pilot study. *Jospt,* V.18, n.5, 1993. p.590-600.
18. Feldmann, R.J.; Maibach, H.I. Regional variation in percutaneous penetration of ¹⁴C cortisol in man. *J Invest Dermatol* 1967. 48: 181-183.
19. Dicionário de Especialidades Farmacêuticas 27. ed. Editora de Publicações Científicas, 2000/01.

Endereço para correspondência

José Wagner Cavalcante Muniz
Universidade do estado do Pará-UEPA
Tv. Perebibui, 2623
CEP: 66.050-420
Telefone: (91) 3276-9366
E-mail: wagnermuniz@superig.com.br

Recebido em 01/06/2009 - Aprovado em 01/10/2009