

Avaliação Histológica da Hipoderme de Suínos Submetida a Tratamento Mesoterápico com Tiratricol, Cafeína e Hialuronidase

Marlus CHORILLI ^{1*}, Lucimary de Souza CARVALHO ²,
Maria Sílvia Mariani PIRES-DE-CAMPOS ², Gislaine Ricci LEONARDI ²,
Maria Cristina de Almeida Prado RIBEIRO ² & Maria Luiza Ozores POLACOW ².

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas,
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Departamento de Fármacos e Medicamentos,
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho,

Rodovia Araraquara-Jaú, Km 1, 14801-902, Araraquara - SP, Brasil.

² Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba,
Rodovia do Açúcar, Km 156, 13400-911, Piracicaba - SP, Brasil.

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente a pele de suínos submetida a mesoterapia com tiratricol, cafeína e hialuronidase. Realizou-se processamento histológico das peles em Hematoxilina e Eosina, sendo obtidas medidas de espessura da hipoderme usando ocular milimetrada da Zeiss. Verificou-se que os tratamentos com tiratricol e cafeína provocaram redução da espessura da hipoderme (42,3% e 55,3%, respectivamente, $p < 0,05$). A mesoterapia com hialuronidase não apresentou resultados estatisticamente significativos (17,5%, $p > 0,05$).

SUMMARY. "Histological Evaluation of Swines' Hipodermis Submitted to Mesotherapeutic Treatment with Tiratricol, Caffeine and Hyaluronidase". The aim of this research was to evaluate histologically the skin of swines submitted to mesotherapy with tiratricol, caffeine and hyaluronidase. Histological processing was conducted in Hematoxylin and Eosin (HE) of the skin of swines treated being obtained measures of thickness of the hipodermis using a Zeiss ocular micrometer. It was verified that the treatments with tiratricol and caffeine provoked reduction of the thickness of the hipodermis (42.3% and 55.3%, respectively, $p < 0.05$). The mesotherapy with hyaluronidase did not present significant results (17.5, $p > 0.05$).

INTRODUÇÃO

A penetração na pele é uma exigência essencial para os efeitos biológicos de fármacos empregados em formulações tópicas ¹.

A pele é um órgão que entre os meios externo e interno, protege o organismo impedindo a entrada de substâncias nocivas, evitando a evaporação excessiva de água o que levaria à desidratação, exercendo, desse modo uma função de barreira ².

Os lipídios lamelares presentes no estrato córneo, camada mais externa da epiderme, são muito importantes na formação da barreira cutânea ²⁻⁴.

Para entrar em contato com camadas mais profundas da pele, os fármacos contidos nas formulações tópicas devem difundir-se pelo estrato córneo e demais camadas da epiderme, o que traz grandes limitações no que diz respeito aos tipos de princípios ativos preteríveis para

essas aplicações, já que alguns deles não conseguem vencer as barreiras cutâneas, ficando retidos pelas camadas lipídicas ⁵.

Várias técnicas tem sido utilizadas com o propósito de eliminar a barreira epidérmica, entre elas a mesoterapia, técnica de origem francesa cuja prática foi introduzida no Brasil na década de 80 ⁶. Esta técnica consiste em efetuar injeções intradérmicas de 0,05-0,1 mL de soluções muito diluídas de fármacos, ou de uma única substância, focalizando o tratamento onde manifesta-se a afecção. É largamente utilizada em medicina, especialmente para dores no aparelho locomotor ⁷.

A mesoterapia é também empregada em afecções cutâneas e em condições estéticas como quelóides, cicatriz hipertrófica, acne, psoríase, vitiligo, rugas, queda de cabelo, celulite, lipodistrofia e linfoedema ⁷.

PALAVRAS CHAVE: Cafeína, Hialuronidase, Mesoterapia, Tiratricol.

KEY WORDS: Caffeine, Hyaluronidase, Mesotherapy, Tiratricol.

* Autor a quem a correspondência deverá ser enviada: E-mail: chorilli@fcfar.unesp.br

Histologicamente, na lipodistrofia ginóide têm-se hipertrofia de tecido adiposo, deterioração da substância intersticial, espessamento e proliferação das fibras interadipocitárias e da rede capilar, levando à retenção excessiva de líquidos e modificações estruturais das glicosaminoglicanas com hiperpolimerização, elevando seu poder hidrofílico e a pressão osmótica intersticial⁸⁻⁹.

Estudos de Rosenbaum *et al.*¹⁰ mostram que a anatomia topográfica da fáscia superficial é diferente em relação ao sexo. Em homens, o limite derme-hipoderme é liso, os septos são mais espessos e oblíquos e quando ocorre alterações histológicas na hipoderme, como por exemplo hipertrofia, os septos pressionam as células adiposas contra a musculatura subjacente, sem formar, portanto, herniações. Já em mulheres, o limite derme-hipoderme é irregular e os septos de tecido conjuntivo formam vigas verticais. Dessa forma, se houver hipertrofia da hipoderme, ocorrerá a formação de herniações para a derme reticular, resultando no aspecto irregular da pele. Tais diferenças estruturais na fáscia superficial são determinadas por hormônio sexual feminino estrógeno.

Dentre os vários fármacos que são utilizados na atenuação da lipodistrofia ginóide por mesoterapia têm-se o tiratricol, a cafeína e a hialuronidase.

O ácido triiodotiroacético (tiratricol) é um metabólico fisiológico da triiodotironina (T₃). Pesquisa recente sugere que o T₃ modula a expressão de genes com várias funções no tecido adiposo humano¹¹. Já a cafeína vem sendo utilizada em vários formulações anti-celulite^{12,13}. Estudos experimentais indicaram que tanto o tiratricol como a cafeína atuam por inibição da enzima fosfodiesterase, enzima que induz a degradação de AMPc transformando-o em 5'AMP inativo, acarretando na manutenção da taxa de AMPc. A disponibilidade de AMPc ativa a proteína quinase A e conseqüentemente a lipase hormônio sensível (LHS), induzindo à lipólise através da mobilização de ácidos graxos e glicérol^{14,15}.

Já a utilização de hialuronidase na atenuação da lipodistrofia ginóide baseia-se na despolimerização de ácido hialurônico, reduzindo a viscosidade do meio intercelular, aumentando a permeabilidade das membranas e dos vasos sanguíneos e promovendo a reabsorção de excesso de fluidos e mobilizando os edemas¹⁶. Assim, muitas vezes ela é utilizada como coadjuvante no

tratamento da celulite, ou associada a outros fármacos, pois não se trata de um fármaco lipolítico propriamente dito.

São praticamente inexistentes na literatura trabalhos científicos com nível de evidência A (duplo cego, randomizados e controlados) relatando a utilização da mesoterapia na celulite. Dessa forma, a técnica é, na maioria das vezes, utilizada de forma empírica, sem comprovação científica.

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi comparar os efeitos do tiratricol, da cafeína e da hialuronidase injetados diretamente no subcutâneo, na espessura da hipoderme de suínos, através de análises morfométricas e histopatológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados cinco suínos machos, híbridos (Landrace x Large White), com 35 dias e 20 kg, para cada um dos cinco grupos experimentais. O suíno foi escolhido como modelo experimental porque seu tecido adiposo é morfológica e funcionalmente semelhante ao humano^{17,18}.

Uma área de 2 cm² no dorso de cada animal foi tricotomizada e dividida em quatro quadrantes para o tratamento que perdurou por 13 dias. A terapêutica mesoterápica foi realizada em quatro sessões (no 3º, 7º, 10º e 13º dias de tratamento)⁷ e consistiu de aplicações intradérmicas das soluções em quatro pontos da região pré-estabelecida (0,5 mL em cada quadrante). O primeiro grupo experimental foi utilizado como controle. No segundo grupo aplicou-se 2 mL de solução fisiológica. No terceiro, 2 mL de uma solução de tiratricol (0,035%). No quarto grupo, 2 mL de uma solução de cafeína (2%), e no quinto grupo experimental, 2 mL de uma solução de hialuronidase (5000 UTR). Tais concentrações de soluções de fármacos são, geralmente, empregadas por vários médicos dermatologistas em protocolos de mesoterapia.

Os animais foram sacrificados no 15º dia e segmentos das peles tratadas foram retirados e fixados em BOUIN (24 h). Por área de tratamento de cada animal, obteve-se nove cortes de 6 µm de espessura, não seriados, os quais foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE) e submetidos a análise morfométrica e histopatológica. A hipoderme foi mensurada a partir do limite derme-hipoderme até a fáscia superficial. Portanto, as medidas obtidas referem-se à camada areolar (mais externa), desprezando-se a cama-

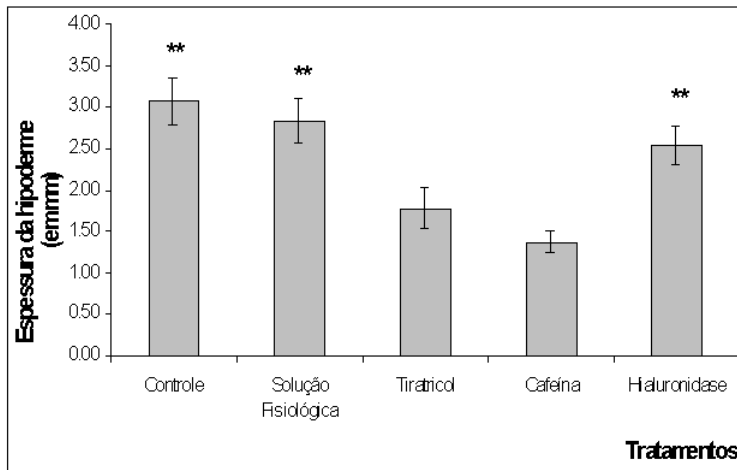


Figura 1. Média \pm desvio padrão da média da espessura da hipoderme de suínos controle (mm) e submetida a tratamento mesoterápico com solução fisiológica, tiratricol, cafeína e hialuronidase. (* e ** ao lado das médias indicam médias estatisticamente não diferentes) [n=5].

da lamelar (mais profunda), pois esta não estava íntegra em todos os cortes. As medidas de espessura foram obtidas em milímetros (mm) através de vinte medidas feitas aleatoriamente nos cortes, usando-se uma ocular milimetrada da Zeiss¹⁹.

Como a amostragem era razoavelmente homogênea e a distribuição de frequências bem próxima da distribuição de frequências da normal matemática, foi empregado teste paramétrico na análise dos dados.

O teste paramétrico utilizado foi a análise de variância ANOVA, seguido pelo teste de Tukey para comparações múltiplas ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela Figura 1, pode-se observar a espessura da hipoderme submetida à tratamento mesoterápico com solução fisiológica, tiratricol, cafeína e

hialuronidase. Pela análise estatística, os tratamentos que apresentaram redução estatisticamente significativa foram o tiratricol e a cafeína.

A redução do tecido adiposo poderia ter ocorrido pela própria força mecânica provocada pela aplicação do injetável. Tal fato não se comprova já que a infiltração de solução fisiológica no mesmo volume utilizado com as soluções dos fármacos não produziu redução estatisticamente significativa no tecido adiposo (Figs. 1 e 2B).

Pela análise da hipoderme tratada com tiratricol observa-se lise dos adipócitos e achatamento dos lóbulos de tecido adiposo (Fig. 2C) comparando-se com o controle (Fig. 2A).

A Fig. 3A mostra que o tratamento mesoterápico com cafeína também provocou um achatamento nos lóbulos de tecido adiposo, levando à redução da espessura de hipoderme. Cheung *et*

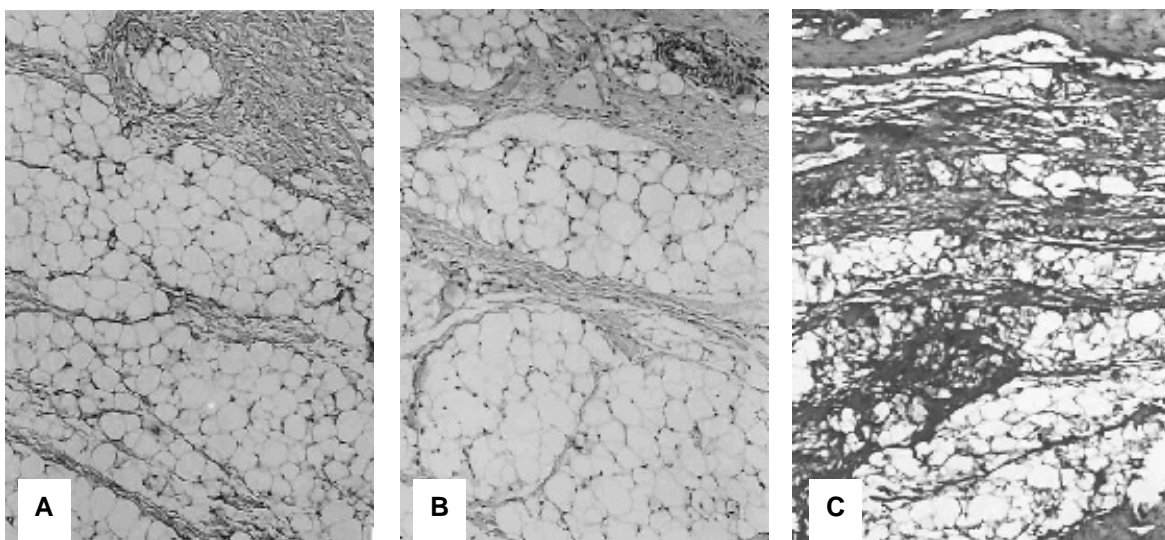


Figura 2. Fotomicrografia da hipoderme de suíno: **A** controle; **B**, submetida a mesoterapia com solução fisiológica; **C**, submetida a mesoterapia com tiratricol (HE, 400x).

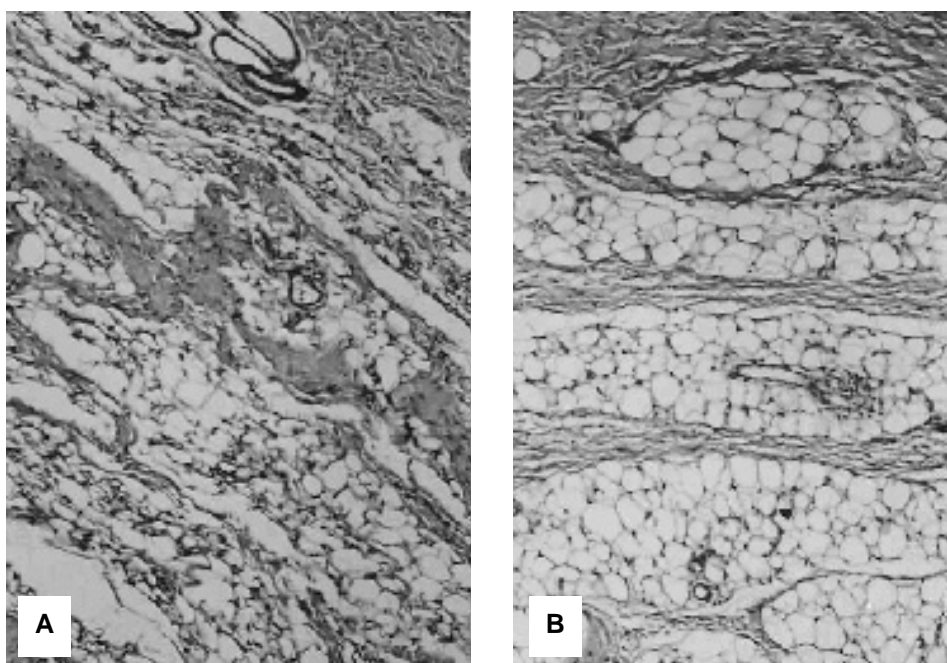


Figura 3.
Fotomicrografia da hipoderme de suíno:
A, submetida a mesoterapia com cafeína
B, submetida a mesoterapia com hialuronidase (HE, 400x).

al. (1988) ²⁰ também verificaram diminuição no diâmetro dos adipócitos em ratos tratados com cafeína administrada por via oral quando comparados com ratos controle.

Tais resultados de lise adipocitária foram encontrados tanto para os suínos submetidos ao tratamento com tiratricol quanto com cafeína, pois ambos induzem à lipólise, provavelmente através da mobilização de ácidos graxos e glicérol, pela inibição da fosfodiesterase ¹⁴⁻¹⁵.

Já o tratamento com hialuronidase, pela análise histopatológica (Fig. 3B) não apresentou alterações teciduais, bem como na espessura da hipoderme (Fig. 1). Como a hialuronidase atua na substância fundamental amorfa, pode mobilizar edemas comuns na lipodistrofia ginóide. Todavia, como o modelo experimental utilizado não apresentava edema, uma menor eficiência da hialuronidase era esperada. Godeau & Robert ²¹ observaram, após injeções intradérmicas de hialuronidase em coelhos, degradação das proteoglicanas e dissociação pronunciada dos feixes de colágeno devido à atividade endoglicosaminodásica da hialuronidase, sem, contudo, referenciar lise adipocitária.

Hidalgo ²² afirma que dentre os possíveis mecanismos de ação de substâncias que atuam no combate a lipodistrofia ginóide estão a lipólise de tecido adiposo. Verificou-se neste trabalho, pela Figura 1 e Figs. 2C e 3A, que tanto o tiratricol quanto a cafeína provocaram lise adipocitária. Isto aponta para o fato de que estes fár-

macos podem ser empregados associados com a mesoterapia no tratamento da lipodistrofia ginóide. Outros trabalhos já enfatizaram o emprego de tiratricol e cafeína no tratamento desta patologia comparando-se o efeito destes fármacos por mesoterapia e por fonoforese, que é um método físico promotor de permeação cutânea utilizando ultra-som de baixa frequência ^{23,24}. Para ambos os fármacos, a ação foi mais pronunciada quando utilizou-se mesoterapia. Entretanto, quando o fármaco hialuronidase foi utilizado, não verificou-se lipólise do tecido adiposo (Fig. 3B), o que sugere a não eficácia deste fármaco para o tratamento da lipodistrofia ginóide.

É importante ressaltar, no entanto, que esta técnica apresenta riscos e tem sido associada com o desenvolvimento de infecções bacterianas que podem ser evitadas com a normatização de medidas assépticas na prática médica ²⁵.

CONCLUSÃO

Diante das condições experimentais deste trabalho verificou-se que tanto o tiratricol quanto a cafeína ocasionaram redução da espessura da hipoderme devido ao achatamento nos lóbulos de tecido adiposo, enquanto que a hialuronidase não produziu alterações morfométricas e histopatológicas no tecido adiposo subcutâneo.

Agradecimentos. Agradecemos ao CNPq e ao FAP-UNIMEP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Leonardi, G.R. (1997) *"Influência do ácido glicólico na penetração cutânea da vitamina A palmitato e na estabilidade de formulações dermocosméticas"*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, pág. 114.
2. Marjukka Suhonen, T., J.A. Bouwstra & A. Urtti (1999) *J. Control. Release* **59**: 149-61.
3. Imokawa, G., S. Akasaki, A. Kawamata, S. Yano & M.W. Takaishi (1989) *J. Soc. Cosm. Chem.* **40**: 273-85.
4. Potts, R.O. & M.L. Francoeur (1991) *J. Invest. Dermatol.* **96**: 495-9.
5. Rieger, M (1993) *"Factors affecting absorption of topically applied substances"*, en: *"Skin permeation: fundamentals and application"* (J.L. Zatz, ed.), Allured Publishing Corporation, Wheaton, págs. 33-72.
6. Guirro, E. & R.J. Guirro (2002) *"Fisioterapia dermatofuncional: fundamentos, recursos e patologias"*, Ed. Manole, São Paulo, págs. 203-26.
7. Rosina, P., C. Chierogato, D. Miccolis & F.S. D'Onghia (2001) *Int. J. Dermatol.* **40**: 581-3.
8. Rossi, A.B & A.L. Vergnanini (2000) *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **14**: 251-62.
9. Draelos, Z.D & K.D. Marenus (1997) *Am. Soc. Dermatol. Surg.* **23**: 1177-81.
10. Rosenbaum, M., V. Prieto, J. Hellmer, M. Boschmann, J. Krueger, R. Leibel & A.G. Ship (1998) *Plast. Reconstr. Surg.* **101**: 1934-9.
11. Viguerie, N., L. Millet, S. Avizou, H. Vidal, D. Larroy & D. Langin (2002) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **87**(2): 630-4.
12. Bertin, C., H. Zunino, J.C. Pittet, P. Beau, P. Pineau, M. Massonneau, C. Robert & J. Hopkins (2001) *J. Cosmet. Sci.* **52**(4): 199-210.
13. Sainio, E.L, T. Rantanen & L. Kanerva (2000) *Eur. J. Dermatol.* **10**(8): 596-603.
14. Murray, R., D. Granner, P. Mayes & V. Rodwell (1998) *"Harper Bioquímica"*. 8. ed. Ed. Atheneu, São Paulo, págs. 267-8.
15. Beavo, J.A, N.L. Rogers, O.B. Crofford, J.G. Hardman, E.W. Sutherland & E.V. Newman (1970) *Mol. Pharmacol.* **6**: 597-603.
16. Lotti, T., I. Ghersetich, C. Grappone & G. Dini (1990) *International Journal of Dermatology* **29**: 272-4.
17. Ding, S.T., R.L. McNeel, E.O. Smith, H.J. Mersmann (2000) *J. Anim. Sci.* **78**: 919-26.
18. Carey, G.B. (1997) *Med. Sci. Sports. Exerc.* **29**: 1437-43.
19. De Lacerda, C.A.M. (1994) *"Manual de quantificação morfológica: morfometria, alometria, estereologia"*. 2.ed. Ed. CEBIO, Rio de Janeiro, págs. 8-9.
20. Cheung, W., C. Lee & T. Ng (1988) *Pharmacology* **36**: 331-9.
21. Godeau, G. & A.M. Robert (1988) *Path. Biol.* **36**: 833-8.
22. Hidalgo, L.M. (2002) *Am. J. Clin. Dermatol.* **3**: 497-506.
23. Polacow, M.L., M.S.M. Pires-de-Campos, G.R. Leonardi, L.S. Carvalho, M.C.A.P. Ribeiro & M.I.L. Montebello. (2004) *Revista Brasileira de Fisioterapia* **8**: 53-60.
24. Chorilli, M., M.L.O. Polacow, M.S.M. Pires-de-Campos, G.R. Leonardi, T.M. Granzotto. (2002) *"Estudo da permeação cutânea da cafeína com o uso do ultra-som: teste in vivo e avaliação histológica"*. Anais do XXXIV Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental, Águas de Lindóia, pág. 239.
25. Paul, C., A.M. Burguiere, V. Vincent, P. Susbille, D. Bonvalet & L. Dubertret (1997) *Ann. Dermatol. Venerol.* **124**: 710-2.