



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM BIOCÊNCIAS**

**ANÁLISE DA APLICAÇÃO DA CRIOLIPÓLISE SOBRE PARÂMETROS CLÍNICOS,
FISIOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS**

BRUNO GONÇALVES FERREIRA

Foz do Iguaçu

2021



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM BIOCIÊNCIAS**

**ANÁLISE DA APLICAÇÃO DA CRIOLIPÓLISE SOBRE PARÂMETROS CLÍNICOS,
FISIOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS**

BRUNO GONÇALVES FERREIRA

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. CEZAR RANGEL
PESTANA
Coorientadora: Profa. Dra. ELENICE
STROPARO

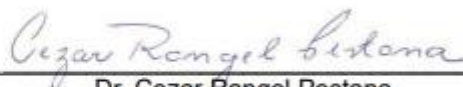
Foz do Iguaçu
2021

BRUNO GONÇALVES FERREIRA

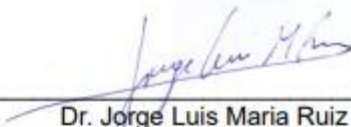
**ANÁLISE DA APLICAÇÃO DA CRIOLIPÓLISE SOBRE PARÂMETROS CLÍNICOS,
FISIOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

BANCA EXAMINADORA



Dr. Cezar Rangel Pestana
Orientador
UNILA



Dr. Jorge Luis Maria Ruiz
UNILA



Dr. Fabiano de Macedo Salgueirosa
UP / TUIUTI

Foz do Iguaçu, Estado do Paraná, 16 de dezembro de 2021.

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

F383

Ferreira, Bruno Gonçalves.

Análise da aplicação da criolipólise sobre parâmetros clínicos, fisiológicos e hematológicos / Bruno Gonçalves Ferreira. - Foz do Iguaçu-PR, 2021.
69 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana. Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza. Programa de Pós-Graduação em Biociências. Foz do Iguaçu-PR, 2021.
Orientador: Cezar Rangel Pestana.
Coorientador: Elenice Stroparo.

1. Criolipólise. 2. Inflamação. 3. Proteína C Reativa. I. Pestana, Cezar Rangel. II. Stroparo, Elenice. III. Título.

CDU 617.5-089.844

Dedico este trabalho a minha mãe e ao meu parceiro que sempre me apoiaram em minha caminhada e no período de realização da dissertação de mestrado.

AGRADECIMENTO

Em primeiro lugar agradeço a Deus por sua fidelidade e amor. Quantas vezes pensei em desistir, mas lembrava da sua promessa e pedia mais forças para caminhar.

Em segundo lugar agradeço ao meu professor orientador Dr. Cezar Rangel Pestana não só pela constante orientação neste trabalho, mas sobretudo pelo apoio desde o começo para seguir em frente.

A minha coorientadora professora Dr^a Elenice Stroparo que me incentivou durante a graduação a me ingressar na pesquisa e me inspirar sempre.

Ao professor Dr. Fernando Cezar primeiramente por sua amizade que aconteceu naturalmente (obra do destino) e por toda a orientação e ajuda nos modelos estatísticos. Que você tenha sucesso sempre.

Ao professor Dr. Jorge Ruiz e sua esposa Roberta que sempre me apoiaram e que tenho um carinho gigante.

A empresa Dermasul que prontamente forneceu o equipamento da Criolipólise para a pesquisa, acreditando no meu trabalho.

A empresa Ice Protection que generosamente forneceu todas as membranas anticongelamento para o procedimento da criolipólise, confiando na nossa pesquisa.

Os meus pacientes modelos que prontamente acreditaram na nossa pesquisa e tiveram paciência nas coletas de dados.

A minha querida amiga e médica Adriana Cristina da Silva que aceitou o desafio de supervisionar os atendimentos durante toda a pesquisa.

Aos meus professores do mestrado que são exemplos de seres humanos e competência.

Aos meus amigos de curso que vou levar para toda a minha vida; entre, choro, sofrimento, determinação, alegria e companheirismo, conseguimos vencer.

A todos os meus alunos de pós-graduação que me apoiaram e me incentivaram.

As minhas amigas maravilhosas do nosso clube particular, que sempre estão ao meu lado.

E principalmente aos meus pacientes que tiveram paciência com toda a ausência no consultório para me dedicar aos estudos.

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado”.

Roberto Shinyashiki

FERREIRA, Bruno Gonçalves. PESTANA, César Rangel. STROPARO, Elenice. **ANÁLISE DA APLICAÇÃO DA CRIOLIPÓLISE SOBRE PARÂMETROS CLÍNICOS, FISIOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS** subtítulo. 69 páginas. Dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biociências – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2021.

RESUMO

A criolipólise é uma técnica mundialmente conhecida para redução de gordura localizada, não invasivo e capaz de resfriar o tecido gorduroso sem gerar danos a tecidos adjacentes e gradativamente reduzir a camada adiposa. As evidências científicas comprovam a redução, entretanto as investigações nos parâmetros laboratoriais em âmbito sistêmico são superficiais, gerando dúvidas sobre a segurança do método. O objetivo principal deste trabalho foi analisar possíveis alterações em parâmetros hematológicos, inflamatórios e bioquímicos, além da redução de percentual de massa de gordura corporal através da análise de bioimpedância (BIA). Neste estudo longitudinal prospectivo, obteve-se uma amostragem total de 20 participantes, segregados em grupo A e B, respectivamente, composto por 5 homens e 5 mulheres em cada grupo e com idade entre 25 e 45 anos. Os participantes foram submetidos a exposição de resfriamento por 60 minutos, seguindo padrão de aplicação, o grupo A em -5°C com o manípulo 360°; o grupo B em -10°C com o manípulo “blindada”. As análises bioquímicas incluíram níveis séricos de Proteína C Reativa (PCR) e hemograma nos tempos: T0 (*baseline*), T1 (2 dias após), T2 (14 dias), T3 (30 dias) e T4 (60 dias) e as análises de medição corporal avaliaram o percentual de massa de gordura corporal por BIA nos tempos: T0 (*baseline*), T1 (30 dias após), T2 (60 dias), T3 (90 dias) e T4 (120 dias). Os valores obtidos pelas análises de marcadores hematológicos e inflamatórios não revelaram alterações estatisticamente significativa nos níveis séricos. Todavia, a medição através da BIA pelo equipamento *In Body*, revelou diferenças na redução do percentual de massa de gordura corporal, com resultados estatisticamente significativos. Os participantes submetidos a -5°C, apresentaram 2,6%; 7,3% e 8,2% de redução média respectivamente em 30, 90 e 120 dias comparado a *baseline* ($p<0,05$). Os submetidos a -10°C, apresentaram 4,4% e 5,2% de redução média, respectivamente em 60, 90 e 120 dias comparado a *baseline* ($p<0,01$). Os resultados obtidos sugerem que a criolipólise é considerado um método eficaz para redução de gordura localizada, sem alterações bioquímicas significativas por meio das análises utilizadas.

Palavras-chave: Criolipólise. Inflamação. Proteína C Reativa. Gordura localizada. PCR.

FERREIRA, Bruno Gonçalves. PESTANA, César Rangel. STROPARO, Elenice. **ANÁLISIS DE LA APLICACIÓN DE CRIOLIPOLISIS SOBRE PARÁMETROS CLÍNICOS, FISIOLÓGICOS Y HEMATOLÓGICOS** subtítulo. 69 páginas. Tesis de maestría del Programa de Posgrado en Biociencias - Universidad Federal de Integración Latinoamericana, Foz do Iguaçu, 2021.

RESUMEN

La criolipólisis es una técnica mundialmente conocida para la reducción de grasa localizada, no invasiva capaz de enfriar el tejido graso, sin dañar los tejidos adyacentes y de reducir gradualmente la capa adiposa. La evidencia científica apoya la reducción; sin embargo, las investigaciones sobre los parámetros de laboratorio a nivel sistémico son superficiales, lo que genera dudas sobre la seguridad del método. El principal objetivo de este trabajo fue analizar posibles cambios en los parámetros hematológicos; inflamatorio y bioquímico, además de verificar el porcentaje de reducción de masa grasa corporal mediante bioimpedancia (BIA). En este estudio longitudinal prospectivo se obtuvo una muestra total de 20 participantes, divididos en los grupos A y B, respectivamente, conformados por 5 hombres y 5 mujeres en cada grupo y con edades comprendidas entre 25 y 45 años. Los participantes fueron sometidos a una exposición de enfriamiento durante 60 minutos, siguiendo el patrón de aplicación, grupo A a -5°C con el equipo 360 $^{\circ}$; grupo B a -10°C con el equipo "blindada". Los análisis bioquímicos incluyeron niveles de Proteína C Reactiva en suero y recuento sanguíneo en momentos: T0 (línea de base), T1 (2 días después), T2 (14 días), T3 (30 días) y T4 (60 días) y los análisis de medición corporal evaluaron el porcentaje de cuerpo masa grasa por BIA, a veces: T0 (basal), T1 (30 días después), T2 (60 días), T3 (90 días) y T4 (120 días). Los valores obtenidos por el análisis de marcadores hematológicos e inflamatorios no revelaron cambios estadísticamente significativos en los niveles séricos. Sin embargo, la medición mediante BIA con el equipo *In Body*, reveló diferencias en la reducción del porcentaje de masa grasa corporal; presentó resultados estadísticamente significativos. Los participantes sometidos a -5°C presentaron 2.6%; Reducción media del 7,3% y del 8,2%, respectivamente, a los 30, 90 y 120 días en comparación con el valor inicial ($p < 0,05$). Los sometidos a -10°C , presentaron una reducción media de 4,4% y 5,2%, respectivamente, en 60, 90 y 120 días respecto a la basal ($p < 0,01$). Los resultados obtenidos sugieren que la criolipólisis se considera un método eficaz para reducir la grasa localizada, sin cambios bioquímicos significativos a través de los análisis utilizados.

Palabras clave: Criolipólisis. Inflamación. Proteína C-reactiva. Grasa localizada. PCR

FERREIRA, Bruno Gonçalves. PESTANA, César Rangel. STROPARO, Elenice. **ANALYSIS OF THE APPLICATION OF CRYOLIPOLYSIS ON CLINICAL, PHYSIOLOGICAL AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS** subtitle. 69 pages. Master's thesis of the Graduate Program in Biosciences - Federal University of Latin American Integration, Foz do Iguaçu, 2021.

ABSTRACT

Cryolipolysis is a worldwide known technique for localized, non-invasive fat reduction capable of cooling the fat tissue without causing damage to adjacent tissues and gradually reducing the adipose layer. Scientific evidence supports the reduction; however, investigations laboratory parameters at the systemic level are superficial, raising doubts about the safety of the method. The main objective of this work was to systematically analyze possible changes in hematological parameters; inflammatory and biochemical, in addition to verifying the percentage reduction of body fat mass through bioimpedance analysis (BIA). In this prospective longitudinal study, a total sample of 20 participants was obtained, divided into groups a and b, respectively, consisting of 5 men and 5 women in each group and aged between 25 and 45 years. Participants were submitted to cooling exposure for 60 minutes, following the application pattern, group a at -5°C with the 360° equipment; group b at -10°C with the “shielded” equipment. Biochemical analyzes included serum CRP levels and blood count at times: T0 (*baseline*), T1 (2 days after), T2 (14 d.), T3 (30 d.) and T4 (60 d.) and body measurement analyzes evaluated the percentage of body fat mass by BIA, at times: T0 (*baseline*), T1 (30 days after), T2 (60 d.), T3 (90 d.) and T4 (120 d.). The values obtained by the analysis of hematological and inflammatory markers did not reveal statistically significant changes in serum levels. However, the bioimpedance measurement was performed by the *In Body* equipment, revealed differences in the reduction of the percentage of body fat mass; presented statistically significant results. Participants submitted to -5°C presented 2.6%; 7.3% and 8.2% mean reduction at 30, 90 and 120 days compared to *baseline* ($p<0.05$). Those submitted to -10°C , presented an average reduction of 4.4% and 5.2%, respectively in 60, 90 and 120 days compared to baseline ($p<0.01$). The results obtained suggest that cryolipolysis is considered an effective method to reduce localized fat, without significant biochemical changes through the analyzes used.

Keywords: Cryolipolysis. Inflammation. C-Reactive Protein. Localized Fat. CRP.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Imagem ilustrativa dos diferentes dispositivos utilizados.	16
Figura 2. Análise de parâmetros hematológicos após aplicação da criolipólise à -5° C e -10°C.	34
Figura 3. Análise de parâmetros hematológicos de glóbulos brancos após a aplicação da criolipólise às temperaturas de -5° C e -10°C.....	35
Figura 4. Análise de parâmetros hematológicos da resposta imunológica celular após intervenção com criolipólise à -5° C e -10°C.	37
Figura 5. Determinação de marcadores inflamatórios após a intervenção com criolipólise a -5°C e -10° C por sexo.....	42
Figura 6. Determinação de marcadores inflamatórios após a intervenção com criolipólise de -5°C e -10°C.	43

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Sequência dos tubos na coleta do espécime diagnóstico sanguíneo	25
Quadro 2 – Cronograma das coletas da amostra biológicas.....	26
Quadro 3 – Cronograma das coletas da amostra de medição corporal através da BIA.	27
Quadro 4 – Roteiro de análise para padronização da criolipólise	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise de parâmetros hematológicos antes e após intervenção com criolipólise à -5° C.	31
Tabela 2 – Análise de parâmetros hematológicos antes e após intervenção com criolipólise à -10°C.	32
Tabela 3 – Análise da porcentagem de gordura corporal antes e após intervenção com criolipólise à -5 °C e à -10 °C.....	38
Tabela 4 - Análise da porcentagem de gordura corporal estratificada por sexo antes e após intervenção com criolipólise à -5 °C.	39
Tabela 5 - Análise da porcentagem de gordura corporal estratificada por sexo antes e após intervenção com criolipólise à -10°C.	39
Tabela 6 - Parâmetros inflamatórios e bioquímico antes e após intervenção com criolipólise à -5°C.	40
Tabela 7 - Parâmetros inflamatórios e bioquímico antes e após intervenção com criolipólise à -10°C.	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina Aminotransferase
AMB	Associação Médica Brasileira
ANOVA	Análise Variância
AST	Aspartato Aminotransferase
BAST	Bastonetes
BIA	<i>Bioelectrical Impedance Analysis</i> ,
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CFM	Conselho Federal de Medicina
CHCM	Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CRM	Conselho Regional de Medicina
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EOSI	Eosinófilos
HB	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HE	Hemácias
HT	Hematócrito
LANAC	Laboratório de Análises Clínicas das Nações
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LEU	Leucócitos
LINF	Linfócito
LMR	Razão linfócito-monócito
ML	Medicina Laboratorial
MONO	Monócito
NLR	Razão neutrófilo-linfócito
PCR	Proteína C Reativa
PLAQ	Plaquetas
PLR	Razão plaqueta-linfócito
PCNQ	Programa Nacional de Controle de Qualidade
RDW	<i>Red Cell Distribution Width</i>
SBPC	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica

SEG	Segmentados
SII	Índice de Inflamação Imunológica
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UNILA	Universidade Federal da Integração Latino-Americana
VCM	Volume Corpuscular Média
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VPM	Volume plaquetário médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Referencial teórico	15
1.2 Justificativa.....	20
1.3 Pergunta Norteadora e Hipótese.....	21
2 OBJETIVOS.....	22
2.1 Geral	22
2.2 Específicos	22
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 Critérios de inclusão/exclusão.....	23
3.2 Amostragem.....	23
3.3 Método de determinação	24
3.4 Padronização da coleta.....	24
3.5 Coleta das amostras e análise laboratorial.....	255
3.6 Amostra de medição corporal	27
3.7 Análise da medida corporal.....	27
3.8 Aplicação da técnica de criolipólise	28
3.9 Análise estatísticas	30
4 RESULTADOS	31
4.1 Parâmetros hematológicos	31
4.2 Parâmetro de medida corporal por bioimpedância.....	38
4.3 Parâmetros inflamatórios e bioquímico	39
5 DISCUSSÃO	44
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
REFERÊNCIAS.....	47
ANEXOS	51
ANEXO A – TCLE.....	51
ANEXO B - Declaração infraestrutura I.....	55
ANEXO C - Declaração infraestrutura II.....	57
ANEXO D – Declaração de atendimento médico.....	58
ANEXO E – Resultado Automatizado.....	59
ANEXO F – Valores de Referencias da PCNQ.....	60
ANEXO G – Parecer Consubstanciado do CEP.....	62

1 INTRODUÇÃO

1.1 Referenciais teórico

Os primeiros indícios observados em meados de 1997 através de relatos clínicos traziam a hipótese de que a camada de gordura era mais suscetível ao frio e consequentemente alcançasse uma redução de medida. O primeiro relato desse fenômeno trazia a diminuição das bochechas de crianças que consumiam picolés, chamado de “paniculite picolé” (do inglês *popsicle panniculitis*), em que o tecido adiposo bucal sofria um processo inflamatório quando exposto frequentemente a baixas temperaturas. O segundo caso clínico demonstrou o mesmo efeito de redução da camada de gordura na região interna de coxas de mulheres que utilizavam calças apertadas para prática de equitação em temperaturas muito baixas, a chamada “paniculite equestre” (do inglês *equestrian cold panniculitis*) (MANSTEIN *et al.*, 2008).

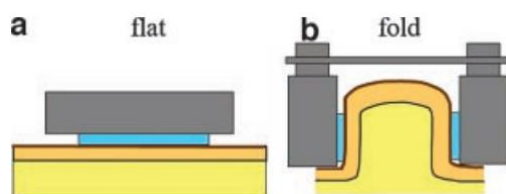
A técnica de resfriamento do tecido adiposo, conhecida atualmente como Criolipólise, foi desenvolvida pela empresa Zeltiq Aesthetics, Inc. (Pleasanton, CA) em 2005 com o intuito de reduzir a camada de gordura subcutânea pela aplicação do frio. O termo criolipólise tem origem grega “*kryos*” que significa gelo ou frio, “*lípos*” gordura e “*lúsis*” dissolução ou separação. Logo, o princípio da técnica compreende a destruição da gordura através do frio (BORGES, 2014). Entretanto, a aplicação do procedimento foi chamada por Manstein em 2008 de “criólise seletiva”, pois causava danos intencionais no tecido adiposo pelo resfriamento e que o método era seletivo, apenas para os adipócitos e preservando os tecidos adjacentes (MANSTEIN *et al.*, 2008).

O primeiro experimento fora realizado em animais e as metodologias adotadas por Manstein e seus colaboradores, visava coletar parâmetros distintos para cada equipamento. A pesquisa segregada em três etapas e com dispositivos de resfriamentos diferentes (MANSTEIN *et al.*, 2008).

Na etapa inicial, denominada fase de exposição exploratória ao frio, a hipótese era a possibilidade da redução do tecido adiposo subcutâneo com uma técnica não invasiva. O procedimento foi realizado com um aplicador plano e uma placa de cobre circular, projetado para comprimir firmemente contra a superfície da pele, conforme apresentado na figura 1 (a). Para não gerar dano na epiderme do

animal e aumentar o contato dérmico, fora utilizado uma loção de glicerol e água. O tempo de exposição nas áreas aplicadas variou de 5 a 21 minutos e sua temperatura se manteve constante em -7°C . O animal foi observado por 3,5 meses, em seguida eutanasiado para produção de lâminas de cortes histológicos do local submetido ao resfriamento (MANSTEIN *et al.*, 2008).

A etapa subsequente fora o estudo dosimétrico, realizado em quatro porcos com um dispositivo protótipo da empresa Zeltiq, desenvolvido com um elemento termoelétrico e sensores de temperatura incorporados dentro da placa de arrefecimento, sua área ativa de resfriamento era de $3 \times 4 \text{ cm}^2$. O dispositivo permitia variar a temperatura de exposição, os tecidos foram submetidos a temperaturas que variavam de 20°C a -7°C , a temperatura escolhida se mantida constante. Algumas regiões testes utilizaram o modelo de aplicação em “configuração dobrada” - conforme apresentado na figura 1 (b), com um aplicador placa de cada lado paralelamente, formando uma dobra cutânea (MANSTEIN *et al.*, 2008).



Fonte: MANSTEIN *et al.*, 2008.

Figura 1 – Imagem ilustrativa dos diferentes dispositivos utilizados; Figura - a mostra o aplicador plano com uma placa de resfriamento e; Figura - b o aplicador em forma de copo com vácuo para sucção do tecido, cada lado paralelamente placas de resfriamento na “configuração dobrada”.

A etapa final do estudo piloto de Manstein *et al.*, analisou o nível lipídico de 6 porcos, o dispositivo protótipo laboratorial utilizado tinha uma área de aplicabilidade maior que o primeiro protótipo, cerca de $11,5 \times 11,5 \text{ cm}^2$, submetidos a 10 minutos, 15 regiões e a temperatura variou de -5°C a -8°C . Os animais estavam em jejum de 12 horas para realizar o teste e as amostras coletadas de sangue seguiu em modo seriado; pré-exposição (antes da aplicação), pós-exposição (1 hora após o teste), um dia, três, 14, 30, 60 e 90 dias (MANSTEIN *et al.*, 2008).

Ele descreveu seus resultados seguindo as três etapas de estudos diferentes: fase de estudo de exposição exploratória, estudo dosimétrico e estudo do nível sérico lipídico. Meses após a primeira fase, observou após a aplicação uma redução

de 80% na camada superficial de gordura, uma discreta inflamação e presença de alguns linfócitos dispersos. Na fase de estudo dosimétrico, após dois dias do procedimento utilizando a exposição fria de -1°C , foi evidente o processo de paniculite lobular com a presença de aglomerados de células inflamatórias no tecido, neutrófilos e células mononucleares; todavia, os adipócitos permaneciam íntegros. No sétimo dia, a paniculite lobular era mais intensa e o infiltrado celular foi mais de células mononucleares. No intervalo de 14 a 30 dias após exposição ao frio, a paniculite lobular ainda era intensa, o tamanho de alguns adipócitos fora reduzido, apresentando diferentes tamanhos no tecido e as células mononucleares começaram a fagocitar os adipócitos apoptóticos. Entretanto, observou que o grau de paniculite lobular induzida pela exposição ao frio, estava diretamente associado a temperatura que o tecido fora submetido, portanto, o nível de processo inflamatório está equivalente proporcional a temperatura escolhida. Já na fase final do estudo, que analisava o nível sérico lipídico não houve quaisquer alterações estatisticamente significativas nas coletas realizadas durante os três meses (MANSTEIN *et al*; 2008).

Outro estudo em animal extremamente relevante foi realizado por Zelickson *et al* em 2009, o material de pesquisa foi conduzido em três porcos de Yucatán e um porco Yorkshire. O objetivo era determinar a destruição seletiva das células de gordura, sem causar danos nos tecidos adjacentes e verificar o aumento de níveis séricos de lipídeos. Os animais foram submetidos a uma única sessão de criolipólise em áreas previamente marcadas e o tempo de exposição ao frio variou de 45 a 60 minutos. Após a retirada do dispositivo da criolipólise do local, os animais receberam uma massagem por 5 minutos na área tratada para realizar a reperusão do tecido. A avaliação do lipidograma do animal seguiu também em amostras seriadas com o intervalo de 12 horas antes da aplicação da técnica, um dia, uma semana, um mês, dois meses, e três meses (ZELICKSON *et al*; 2009).

O resultado obtido após a realização de uma única sessão nos animais, fora utilizado dois métodos para quantificar a redução; um ultrassom para mensurar a espessura da camada de gordura, indicou uma redução de 33% na gordura superficial (de 2,1 para 1,4cm), e o exame de espécimes de análise patológico macroscópica revelou uma redução de 50% na camada superficial de gordura (de 2,0 para 1,0cm). Entretanto, os níveis lipídicos não apresentaram nenhuma alteração durante os três meses de análise após o tratamento. O modelo animal Yorkshire submetido ao dispositivo protótipo seguiu uma metodologia diferente dos

outros animais, sendo o procedimento realizado em vinte regiões com intervalos diferentes, e a aplicação de tratamento segregada em 90, 60, 30, 14, 7, 3 dias e 30 minutos antes da eutanásia. O tempo de exposição ao frio de cada local foi de 15 minutos.

Preciado et al. (2008) executaram sua pesquisa em células adiposas *in vitro*, com objetivo de verificar os mecanismos de regulação de necrose e apoptose celular após os adipócitos serem submetidos ao resfriamento. As células foram resfriadas em diversas temperaturas que variavam de -2° a 28°C, apresentando necrose nas temperaturas de -2°, 0° e 2°C e apoptose a partir de 7°C (PRECIADO *et al*; 2008).

O protótipo original da criolipólise para aplicação em humanos foi desenvolvido com um aplicador ou manopla em forma de “copo”, que utiliza na parte interna um vácuo leve a moderado para sugar uma parte da pele e de gordura para dentro do dispositivo, formando uma “prega” no interior da manopla. Na sua parte interna continha um dispositivo formado por duas placas de arrefecimento em posições paralelas. Estes painéis de resfriamento executavam a “extração de calor” daquela região que havia sido inserida dentro do copo e o objetivo era submeter a região a baixas temperatura, consequentemente alcançar a redução da camada de gordura (BORGES, 2014).

Estudos clínicos em humanos começaram em 2009, com análises da segurança do método por meio de avaliação dos níveis séricos de lipídeos e a função hepática. Foram avaliados 40 participantes, 32 mulheres e 8 homens, o tempo de resfriamento foi de 30 minutos aplicado na região dos flancos bilateralmente. O dispositivo aplicador Zeltiq era em forma de copo e continha no seu interior duas placas paralelas de arrefecimento, a manopla compunha-se de um vácuo para sugar a prega cutânea, colocando todo o tecido adiposo para o resfriamento. Todos os participantes realizaram jejum de 12 horas antes da coleta dos exames laboratoriais para os dados de pré e pós procedimento. As análises de lipidograma foram colesterol, triglicerídeos, VLDL, LDL e HDL, e as análises de função hepática foram AST, ALT, fosfatase alcalina, bilirrubina total e albumina. Após o procedimento, a avaliações dos níveis séricos dos marcadores seguiu em modo seriado, um dia após a aplicação, uma semana, quatro, oito e doze semanas. O resultado após 12 semanas de acompanhamento dos participantes, analisando lipidograma e marcadores hepáticos, não revelaram alterações estatisticamente significantes para níveis séricos de lipídeos e função hepática (KLEIN *et al*;2009).

Todavia, a injúria no local da aplicação causada pelo congelamento da gordura poderia gerar alterações sistêmicas no organismo, uma vez que o procedimento modifica o equilíbrio térmico do tecido e consequentemente ativaria os mecanismos de termorregulação (BARCELAR; 2005).

Com a diminuição da temperatura corporal, o tecido responde com um aumento da produção de calor pelo aumento na sua taxa metabólica e consequentemente consumirá suas reservas energéticas armazenadas nos adipócitos para manter sua termorregulação (GRIVICICH, REGNER, ROCHA; 2007). Durante o período de resfriamento, o aumento do metabolismo energético das mitocôndrias eleva a geração de radicais livres, potencializando o risco de lesões adicionais pela ativação de enzimas caspases proteolíticas da cascata de apoptose nos adipócitos (SALAHUDEEN *et al*, 2003). O estresse oxidativo causado no tecido adiposo isquêmico pela reperfusão pode elevar a peroxidação lipídica e redução dos níveis de glutathione, resultando também em apoptose celular (ZELICKSON *et al*, 2009).

A formação do “gelo lipídico” após a aplicação da técnica da criolipólise contribui para a ativação da cascata de apoptose das células de gordura. Durante a aplicação o tecido passa por várias perturbações intracelulares, sofreria isquemia tecidual, provocando distúrbios na osmorregulação da célula, alterações na atividade de *Na-K-ATPase* (bomba de sódio e potássio), trifosfato de adenosina (ATP) e acidose láctica intracelular (GORDON *et al* ;2014).

O resfriamento intenso aplicado promove o congelamento dos triacilgliceróis armazenado dentro dos adipócitos. Nesse processo, as células adiposas sofrem deformidade a sua estrutura original e adota um formato conhecido como estrutura fractal, nome do latim *fractus* que significa fração ou quebrado (JEWELL, SOLISH, DESILETS, 2011).

Todavia, os fractais possuem duas características importantes: a primeira é que os triacilgliceróis depois de modificados para fractais e sua alteração é irreversível; e a segunda é que após os triacilgliceróis assumirem o formato fractal, o organismo não os reconhece mais, passando a representar como corpo estranho dentro dos adipócitos e consequentemente serão fagocitados por células fagocíticas (AVRAM *et al.*, 2009).

Os métodos analisados até o momento demostram que a técnica da criolipólise dentro de um período médio de 3 meses resulta na redução da camada

adiposa, sobretudo devido a ação dos macrófagos na fagocitose de células danificadas e partes residuais de células que sofreram apoptose (PRECIADO, ALLISSON;2008).

Desde sua introdução no mercado, mais de 650.000 atendimentos com a técnica foram realizados em todo o mundo, entretanto a falta de padronização da aplicação da criolipólise ainda traz incertezas sobre todos seus possíveis efeitos fisiológicos sistêmicos (JALIAN *et al.*, 2014).

1.2 Justificativa

A fundamentação científica está baseada na utilização do equipamento, os locais de realizações do procedimento, diferentes temperaturas e tempos de exposição ao frio, além da preservação dos tecidos adjacentes ao tecido adiposo, a reperusão sanguínea do local, a comprovação da redução da gordura subcutânea e os parâmetros biológicos para avaliação dos efeitos sistêmicos em relação a função hepática e o lipidograma dos pacientes após procedimento. Todavia, os dados existentes ainda são escassos para garantir a segurança do paciente à aplicação da técnica.

Vários pesquisadores observaram uma resposta inflamatória progressiva a injúria causada pelo resfriamento do tecido adiposo e a migração de células fagocitárias para o local. Entretanto, não há evidências concretas para fundamentar a segurança em relação às repercussões da criolipólise sobre a resposta inflamatória durante a redução da camada adiposa.

Portanto, para considerar o procedimento como método seguro, é relevante avaliar outros fatores importantes no âmbito sistêmico, tais como hemograma, fatores de coagulação e inflamatórios com a finalidade de caracteriza a potencial resposta imune fundamentais à confirmação da segurança do método.

A pesquisa propõe determinar os marcadores bioquímicos envolvidos no processo inflamatório, alterações hematológicas, além da medição corporal do percentual de gordura. Os dados obtidos irão contribuir para atestar a segurança e eficácia da criolipólise, fortalecendo a segurança do profissional da saúde estética e a sociedade têm sobre os resultados da técnica e suas possíveis alterações sistêmicas.

1.3 Pergunta Norteadora e Hipótese

A técnica da Criolipólise é capaz de induzir uma resposta sistêmica, por alterações hematológicas e inflamatórias, juntamente com a redução no percentual de gordura corporal? As possíveis alterações sistêmicas serão determinadas por análises laboratoriais de marcadores inflamatórios e pela análise de bioimpedância (BIA) como garantia da maior segurança ao procedimento.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Analisar sistemicamente possíveis alterações hematológicas e inflamatórias, bem como o percentual de gordura corporal após a aplicação da técnica da criolipólise.

2.2 Específicos

Avaliar possíveis alterações quantitativas nos níveis séricos de células fagocíticas na série branca, após a criolipólise;

Mensurar através do hemograma possíveis alterações nos marcadores de resposta inflamatória; como: volume plaquetário médio (VPM); razão neutrófilo-linfócito (NLR); razão plaqueta-linfócito (PLR) e razão linfócito-monócito (LMR) e proteína C Reativa (PCR)

Identificar o quadro inflamatório agudo, desde o início até o término da paniculite lobular através da quantificação da proteína C Reativa (PCR);

Verificar se há redução de percentual de massa de gordura corporal após o procedimento, através da análise da BIA.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia experimental inclui a seleção dos participantes de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, bem como sua ciência de acordo com os termos descritos no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - anexo A).

O projeto submetido via plataforma brasil, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Tuiuti do Paraná; CAAE: 17004919.3.0000.8040 / Número do Parecer: 3.523.458 (anexo G).

A pesquisa foi financiada com recursos próprios e parcerias com a empresa DERMASUL, representante das máquinas *Adoxy Medical* em Curitiba, e que forneceu gratuitamente a máquina da criolipólise *Asgard VC10* e os manípulos utilizados na pesquisa, a empresa *ICE PROTECTION* fornecedora das membranas anticongelantes; e a CLÍNICA DR. ESTÉTICA que disponibilizou a infraestrutura clínica para aplicação da técnica e sua equipe de profissionais.

3.1 Critérios de inclusão/exclusão

Os participantes selecionados foram indivíduos saudáveis e com depósito de tecido adiposo no abdômen superior a 2,0 mm, avaliado pelo Adipômetro Lafayette.

Pacientes diabéticos, gestantes, lactantes, hepatopatia, imunossuprimidos, anoréxicos, uso contínuo de anti-inflamatórios, portador de hepatite C, síndrome de Sjogren, vasculite, artrite reumatoide, lipoaspirados, atletas ou praticantes de atividade física, acompanhamento nutricional, portador de doenças autoimunes e/ou qualquer patologia que altere as funções fisiológicas analisadas na pesquisa foram excluídos da seleção.

3.2 Amostragem

A amostragem total foi de 20 participantes, divididos em grupo A e grupo B, cada grupo respectivamente com 10 participantes, composto por 5 homens e 5 mulheres cada grupo. A faixa etária foi definida entre 25 e 45 anos. A identidade dos participantes foi preservada, para manter o sigilo dos dados laboratoriais, cada participante foi codificado com uma identificação própria, por exemplo: A1M1.1 - grupo A, paciente 1, sexo masculino e 1.1 referente a coleta 1 do tempo 1

(representado no anexo E); o mesmo código foi utilizado, tanto para o material biológico coletado, como para a análise de medição corporal. O local definido para realização da técnica da criolipólise foi o abdômen inferior e superior. A temperatura definida dos grupos, respectivamente fora de -5°C (cinco graus Celsius negativos) para o grupo A e -10°C (dez graus Celsius negativos) para grupo B com aplicação de 60 minutos. A separação dos participantes nos grupos e a submissão de temperaturas diferentes foi aleatória. Todos os critérios de inclusão e exclusão dos participantes foram seguidos rigorosamente.

3.3 Método de determinação

As amostras coletadas para a pesquisa foram divididas em amostras biológicas para determinação dos marcadores hematológicos e inflamatórios, e a análise de medição corporal. Cada amostra seguiu um cronograma específico, tanto para a coleta, como para a análises e interpretação de dados (Quadro 2 e 3).

As amostras de sangue foram utilizadas para análises bioquímica de marcadores inflamatórios e hematológicos. A análise de medição corporal foi aferida por um equipamento de BIA para determinação o percentual de massa de gordura corporal.

3.4 Padronização da coleta

A padronização no momento da coleta é de extrema importância para evitar alterações nos marcadores analisados, por isso todas as coletas foram realizadas pelo próprio pesquisador, biomédico e habilitado pelo seu conselho de classe para a realização das análises.

A coleta das amostras de sangue seguiu os padrões das diretrizes internacionais *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML).

Os critérios de tempo de garroteamento na coleta não foi superior a 1 minuto; a sequência de tubos coletados; inversão dos tubos após a coleta; tempo de retração do coágulo na amostra bioquímica de 30 minutos; tempo de centrifugação da amostra bioquímica por 10 minutos; descarte de amostra hemolisadas ou fibrina,

se houver; confecção das lâminas hematológicas com o sangue coletado em EDTA; e análise em aparelho de automação para as amostras coletas (Quadro 1).

Quadro 1 – Sequência dos tubos na coleta do espécime diagnóstico sanguíneo

SEQUÊNCIA	DESCRIPTIVO
1º	Frasco de hemocultura
2º	Tubos com Citrato de Sódio
3º	Tubos com ativador de coágulo
4º	Tubos com gel separador
5º	Tubos com Heparina
6º	Tubos de EDTA
7º	Tubos Fluoreto de Sódio

3.5 Coleta das amostras e análise laboratorial

Seguindo as recomendações da SBPC/ML para coleta de sangue venoso, as amostras foram utilizadas para determinação de marcadores inflamatórios. O material foi coletado um tubo de plástico a vácuo de gel separador com a tampa cor amarela utilizado nas rotinas laboratoriais de bioquímica. Os marcadores investigados foram: Volume Plaquetário Médio (VPM); Razão neutrófilo-linfócito (NLR); Razão plaqueta-linfócito (PLR); Razão linfócito-monócito (LMR) e o Índice de Inflamação Imunológica (SII). O marcador de interesse a ser analisado e quantificado foi a PCR de fase aguda no processo inflamatório.

As amostras hematológicas foram coletadas em tubo de plástico a vácuo com presença de EDTA K2 ou K3 na parede do tubo com tampa cor roxa, e ação anticoagulante ideal para preservar a morfologia das células hematológicas. Os marcadores inflamatórios e a população de células sanguíneas vermelha e branca foram os parâmetros escolhidos para os resultados.

O quadro 2 apresenta o cronograma experimental com as etapas da coleta determinadas por “tempos” – Tempo zero a Tempo 4, demonstrado em dias/semanas.

Quadro 2 – Cronograma das coletas da amostra biológicas

ETAPAS DA COLETA	OBJETIVO
TEMPO ZERO	Quantificação dos marcadores bioquímicos e hematológicos antes da aplicação da técnica
TEMPO 1	Quantificação dos marcadores bioquímicos e hematológicos 2 dias após aplicação da técnica da análise bioquímica e hematológica.
TEMPO 2	Quantificação dos marcadores bioquímicos e hematológicos 14 dias após aplicação da técnica da análise bioquímica e hematológica.
TEMPO 3	Quantificação dos marcadores bioquímicos e hematológicos 30 dias após aplicação da técnica da análise bioquímica e hematológica.
TEMPO 4	Quantificação dos marcadores bioquímicos e hematológicos 60 dias após aplicação da técnica da análise bioquímica e hematológica.

O Laboratório de Análises Clínicas das Nações (LANAC) disponibilizou a estrutura para a coleta e análise dos dados biológicos para a pesquisa, conforme a declaração de utilização da infraestrutura laboratorial está presente no Anexo B. Cada participante compareceu ao laboratório na unidade Batel, situada na Rua Vicente Machado, nº 1063, na cidade de Curitiba para as coletas de amostras de sangue de acordo com a possibilidade de cada participante, porém obedecendo as datas definidas no cronograma. A coleta levou aproximadamente 15 minutos sem a necessidade de jejum prévio. Todos deveriam obedecer aos critérios citados no TCLE no período da pesquisa. Parte das amostras foram processadas por um equipamento de automação e parte utilizadas para confecção de lâminas hematológicas com coloração panóptica, para conferência manual do pesquisador responsável. Após a realização das análises, o material permaneceu armazenado por 10 dias sob refrigeração na própria unidade, ficando disponível para o participante que quisesse retirar o seu material. O material não solicitado durante este período foi encaminhado para descarte. Todo o processo de análise das amostras biológicas não gerou nenhum ônus aos participantes.

3.6 Amostra de medição corporal

A medida da gordura corporal foi realizada pelo método BIA, com a padronização adotada pelas diretrizes da Associação Médica Brasileira (AMB) e Conselho Federal de Medicina (CFM) de 2009. Todos os critérios de inclusão e exclusão citados anteriormente foram seguidos rigorosamente. A validação das diretrizes preconizadas da AMB e do CFM serviu para minimizar possíveis erros de mensuração e gerar dados precisos. O marcador de interesse analisado e quantificado durante a análise da medida corporal foi a composição de massa gorda de cada participante pelo equipamento *In Body*.

3.7 Análise da medida corporal

A coleta da medida corporal seguiu um cronograma distinto ilustrado no quadro 3 com as etapas de coleta determinadas por tempos de zero (linha de base) a Tempo 4, demonstrado em dias/semanas para facilitar a compreensão dos participantes.

Quadro 3 – Cronograma das coletas da amostra de medição corporal através da BIA.

ETAPAS DA COLETA	OBJETIVO
TEMPO ZERO	Determinação do valor de base do percentual de massa gordura corporal antes da aplicação da técnica.
TEMPO 1	Determinação do valor de base do percentual de massa gordura corporal 30 dias após aplicação da técnica.
TEMPO 2	Determinação do valor de base do percentual de massa gordura corporal 60 dias após aplicação da técnica.
TEMPO 3	Determinação do valor de base do percentual de massa gordura corporal 90 dias após aplicação da técnica.
TEMPO 4	Determinação do valor de base do percentual de massa gordura corporal 120 dias após aplicação da técnica.

A análise da BIA pelo equipamento *In Body*, seguiu os seguintes procedimentos pelos participantes no momento da análise de medição corporal: aferição da altura e peso no momento do exame; estar em pé em posição

anatômica, descalço e com os membros inferiores afastados, ficando os pés distantes um do outro em cerca de 30 cm; permanecer em decúbito dorsal em repouso por pelo menos 10 minutos antes do exame; livre de objetos de metal ao corpo como anéis e brincos; respeito as condições de posição dos eletrodos; suspensão do uso de medicamentos diuréticos no mínimo 24 horas antes da realização do teste; evitar consumo de alimentos e bebidas até 4 horas antes de se realizar o teste; paciente em repouso; retirar medicamentos que causem retenção hídrica, se possível.

3.8 Aplicação da técnica de criolipólise

A aplicação da técnica da criolipólise foi realizada no abdômen superior (acima do umbigo) e abdômen inferior (abaixo do umbigo) simultaneamente e fora realizada uma única aplicação. A infraestrutura utilizada para a aplicação da técnica foi na Clínica Dr. Estética Ltda, situada na Avenida Sete de Setembro, 4698, sala 1305 – Batel, Curitiba/Pr, em horário definido de acordo com a possibilidade de cada grupo e do participante. Todavia, o procedimento só foi realizado após a primeira coleta da amostra biológica e de medição corporal, sendo o tempo zero ou linha de base. A declaração de utilização da infraestrutura clínica está presente no Anexo C.

A empresa DERMASUL forneceu a máquina utilizada para realização do procedimento da criolipólise da marca *Adoxy Medical* o modelo *Asgard VC10* com dois tipos de manípulos, o modelo 360° e o modelo convencional chamado pela empresa de manopla “blindada”.

A proteção da pele é essencial antes de aplicar a técnica com a exposição a baixas temperaturas. Por isso foi utilizado uma manta protetora de tamanho grande para criolipólise e uma membrana anticongelamento da empresa *ICEPROTECTION*.

Todas as etapas do procedimento respeitaram os protocolos de tecnologia do equipamento e seu ciclo de utilização. Antes do início das atividades foram feitas reuniões com os proprietários da empresa DERMASUL e representantes nacionais da máquina modelo *Asgard VC10* da *Adoxy Medical*.

Os manípulos utilizados foram o manípulo 360° e o convencional blindado. Aleatoriamente cada grupo utilizou uma manopla e temperatura diferentes. O grupo A utilizou a *Asgard VC10* com manípulos 360° e sua temperatura em -5°C e o grupo B com os manípulos blindados, em -10 °C, ambos os grupos foram submetidos a 60

minutos de aplicação. Foi criado um roteiro padrão para a aplicabilidade do procedimento, para evitar quaisquer alterações nos dados coletados, o quadro 4 abaixo, ilustra o passo-a-passo do roteiro.

Quadro 4 – Roteiro de análise para padronização da criolipólise

ETAPA	PROCEDIMENTO
1	Montagem do equipamento uma hora antes do início das atividades.
2	Climatizar a sala vazia 30 minutos antes do início da aplicação em 17°C.
3	Configuração da máquina para os grupos.
4	Permitido a permanência na sala de aplicação apenas 2 participantes e o pesquisador.
5	Proibido abrir a porta da sala de aplicação durante o procedimento.
6	Assepsia do local da aplicação com álcool 70 °.
7	Proteção da pele dos participantes com a membrana anticongelamento.
8	Definir a posição que o participante ficará durante a aplicação (pernas flexionadas ou estendidas).
9	Aplicação dos manípulos nas áreas
10	“PLAY” –máquina em operação por 60 minutos
11	Após 5 minutos do início da operação da máquina diminuir o vácuo para 10%.
12	Após 60 minutos retirar os manípulos da área aplicada.
13	Retirar e descartar a membrana anticongelamento utilizada.
14	Realizar a reperfusão da área por 10 minutos.
15	Liberação dos participantes
16	Climatizar a sala vazia novamente por 15 minutos
17	Iniciar novo ciclo de participantes

Todo o procedimento foi acompanhado pela médica Adriana Cristina da Silva - CRM: 39733, em caso de alguma intercorrência. Os participantes foram gratuitamente assistidos e amparados conforme declaração de atendimento médico (Anexo D).

3.9 Análise estatísticas

As variáveis quantitativas contínuas foram expressas como média $\pm$ desvio padrão. Os dados foram testados quanto à distribuição gaussiana (i.e., normalidade) pelo teste de Shapiro-Wilk. Os grupos que apresentaram desvio da normalidade foram transformados em escala logarítmica. A esfericidade dos dados foi corrigida pela correção de Geisser-Greenhouse. As comparações entre as médias da porcentagem de massa de gordura corporal e dos parâmetros bioquímicos e hematológicos entre e dentre os grupos foram realizadas através da análise variância (ANOVA) para medidas repetidas seguida de teste post hoc para múltiplas comparações de Holm-Sidak. Os dados expressos como medianas e intervalo interquartil. Neste caso, realizou-se Teste de Friedman seguido pelo pós-teste de Dunn para comparações múltiplas. Todos os testes foram bicaudais, com um valor de $p < 0,05$ considerado estatisticamente significativo. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software GraphPad Prism 8.0 para Windows (GraphPad Software, Inc., La Jolla, Califórnia, EUA).

4 RESULTADOS

Os resultados do estudo foram organizados pela distribuição dos participantes em 2 grupos experimentais de acordo com a temperatura de exposição a -5°C ou -10°C, e ainda a subdivisão por gênero, de acordo com os protocolos descritos detalhadamente no Quadro 1; 2 ; 3 e 4.

4.1 Parâmetros hematológicos

A determinação dos parâmetros hematológicos demonstrou que, após a intervenção do procedimento, não houve diferenças significativas nos parâmetros hematológicos entre os grupos submetidos às diferentes temperaturas, bem como os valores intragrupos por sexo. (Tabela 1 e 2).

Tabela 1 – Análise de parâmetros hematológicos antes e após intervenção com criolipólise à -5° C.

CRIOLIPÓLISE A -5°C					
Parâmetro	Baseline	2 dias	14 dias	30dias	60 dias
HT (%)	41,2 ± 3,2	40,9 (3,3)	41,4 (3,6)	42,4 (3,3)	42,2 (3,5)
HB (g/dL)	14,7 (1,4)	14,4 (1,5)	14,3 (1,4)	14,9 (1,3)	14,8 (1,5)
VCM (fL)	86,5 (3,8)	86,6 (2,9)	87,0 (3,8)	89,6 (3,7)	89,4 (4,0)
HCM (pg)	30,8 (1,4)	30,5 (,09)	30,1 (1,2)	31,7 (1,4)	31,4 (1,3)
CHCM (%)	35,6 (0,9)	35,3 (0,8)	34,6 (0,6)	35,3 (0,8)	35,1 (1,1)
HE (milhões/ μ L)	4,7 (0,4)	4,6 (0,4)	4,7 (0,4)	4,7 (0,4)	4,7 (0,5)
RDW (%)	10,9 (0,5)	10,9 (0,4)	11,2 (0,2)	11,0 (0,3)	11,0 (0,3)
LINF (mm ³)	3145 (1378)	2759 (745,7)	2978 (1083)	3156 (837,1)	2575 (843,0)

MONO (mm³)	550,3 (153,9)	615,1 (170,8)	489,3 (176,4)	333,3 (238,3)	597,3 (164,7)
SEG (mm³)	4614 (1422)	4380 (1941)	4095 (1499)	4619 (1130)	4742 (1421)
BAST (mm³)	6,7 (21,1)	25,4 (55,0)	149,2 (136,1)	80,3 (84,3)	312,9 (359,7)
PLAQ (mm³)	27250 (44733)	279930 (62278)	274288 (56847)	276920 (48913)	261620 (58986)
LEU (mm³)	8806 (2381)	7782 (2157)	7967 (2157)	8365 (1969)	8350 (1732)
EOSI (mm³)	147 (71,2/311,3)	128 (79,7/189,5)	115 (0/200,5)	218 (0/431)	128 (66,7/292,3)

Dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste de pós-teste de Dunn para comparações múltiplas. Todas as comparações entre-grupos e intra-grupos apresentaram $p > 0,05$.

Legenda: HT= Hematócrito; HB=Hemoglobina; VCM= Volume Corpuscular Média; HCM= Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM= Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; HE= Hemácias; RDW= *Red Cell Distribution Width*; LINF= Linfócitos; MONO=Monócitos; SEG= Segmentados; BAST= Bastonetes; PLAQ=Plaquetas; LEU=Leucócitos; EOSI=Eosinófilos.

Tabela 2 – Análise de parâmetros hematológicos antes e após intervenção com criolipólise à -10°C.

CRIOLIPÓLISE A -10°C					
Parâmetro	Baseline	2 dias	14 dias	30 dias	60 dias
HT (%)	41,8 (3,3)	41,7 (4,0)	43,1 (4,3)	43,6 (4,7)	43,0 (4,2)
HB (g/dL)	14,5 (1,4)	14,2 (1,7)	14,7 (1,7)	15,0 (1,8)	14,9 (1,9)
VCM (fL)	84,3 (4,6)	83,3 (4,2)	84,9 (4,1)	86,3 (4,5)	86,7 (5,3)
HCM (pg)	29,3 (2,1)	28,4 (2,3)	29,1 (2,2)	29,7 (2,2)	30,0 (2,8)
CHCM (%)	34,8 (0,9)	34,0 (1,1)	34,2 (1,1)	34,3 (0,9)	34,5 (1,4)
HE (milhões/μL)	4,9 (0,3)	5,0 (0,3)	5,0 (0,4)	5,0 (0,4)	4,9 (0,3)

RDW (%)	11,7 (0,9)	11,9 (0,9)	11,8 (0,7)	11,6 (0,7)	11,4 (0,5)
LINF (mm³)	2850 (445,7)	2657 (826,3)	2735 (689,3)	2893 (572,1)	2757 (788,0)
MONO (mm³)	682,2 (163,4)	602,7 (170,3)	401,3 (244,5)	565,0 (239,2)	596,7 (171,9)
SEG (mm³)	5626 (1931)	5184 (1697)	5464 (1984)	5756 (1560)	4812 (726,2)
BAST (mm³)	00000	32,9 (63,0)	273,5 (259,0)	18,2 (38,3)	166,2(103,8)
PLAQ (mm³)	265080 (52307)	265840 (59038)	267730 (56270)	264750 (50093)	256910 (59208)
LEU (mm³)	9455 (2270)	8553 (2588)	8996 (2118)	9471 (2041)	8475 (1252)
EOSI (mm³)	216 (118,5/320,5)	203 (124,8/254,5)	105 (0/173,5)	182 (111,5/248,8)	153 (0/227,5)

Dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste Holm-Sidak para comparações múltiplas. Todas as comparações entre-grupos e intra-grupos por sexo apresentaram $p>0,05$.

Legenda: HT= Hematócrito; HB=Hemoglobina; VCM= Volume Corpuscular Média; HCM= Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM= Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; HE= Hemácias; RDW= *Red Cell Distribution Width*; LINF= Linfócitos; MONO=Monócitos; SEG= Segmentados; BAST= Bastonetes; PLAQ=Plaquetas; LEU=Leucócitos; EOSI=Eosinófilos.

A figura 2 demonstra os dados de análise hematológica intragrupos por sexo com diferentes elementos sanguíneos da série vermelha em temperaturas diferentes. Na figura 2A o grupo masculino submetido a -5°C apresentou queda nos níveis séricos de hematócrito após 2 dias do procedimento comparado a *baseline*. Entretanto percebe-se uma tendencia ascendente após 14 dias em ambas as temperaturas e em mulheres após 30 dias a -5° e a 14 dias a -10°C, respectivamente. Já, os níveis séricos de hemácias apresentam variações mínimas em ambos os sexos indiferente da temperatura, com queda mínima nos valores de hemoglobina após 14 dias em homens. Todos os valores obtidos mantiveram-se dentro dos valores de referência da PNCQ (Anexo F).

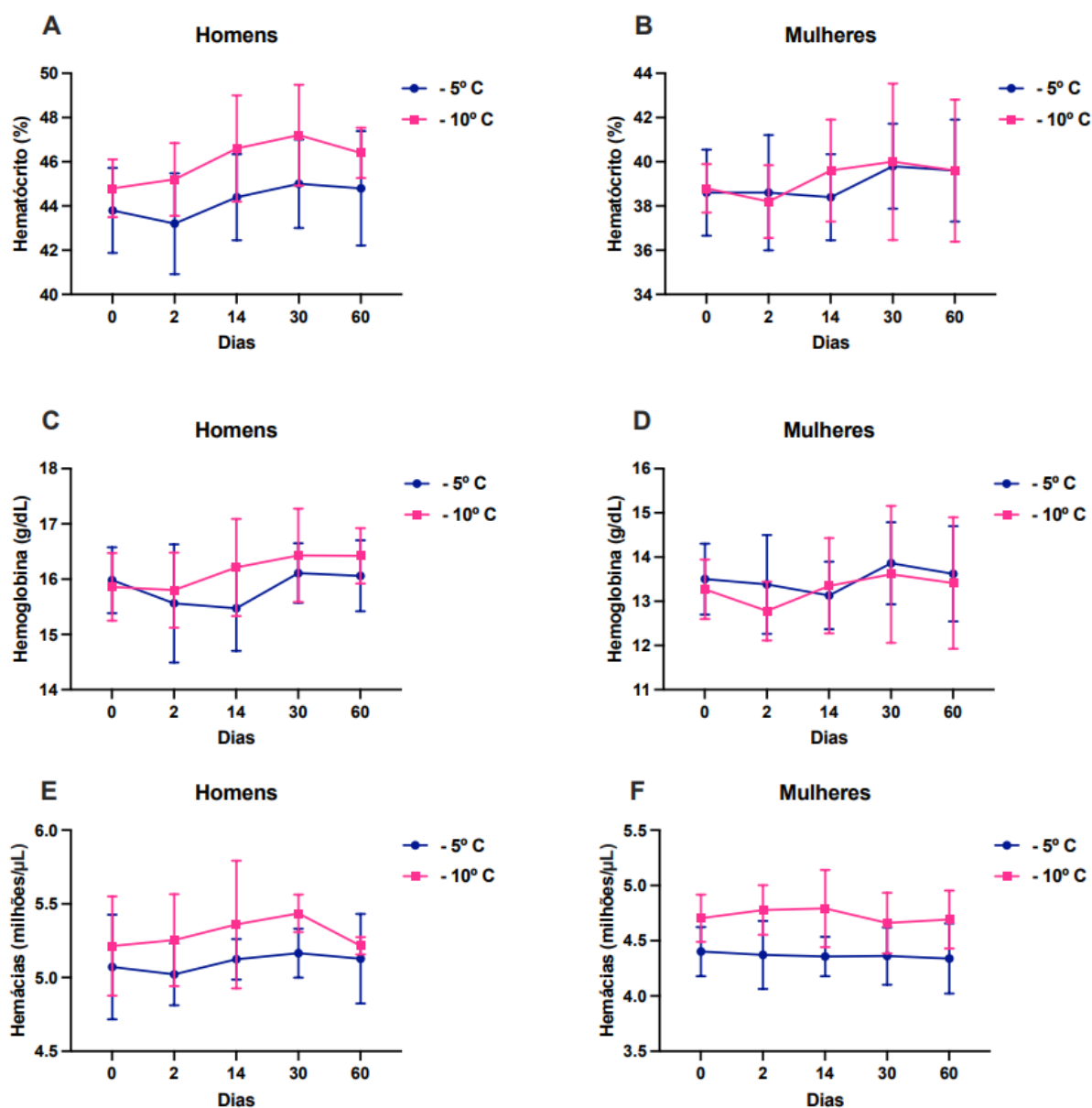


Figura 2. Análise de parâmetros hematológicos após aplicação da criolipólise às temperaturas de -5° C e -10°C. Dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak para comparações múltiplas. Todas as comparações entre grupos e intragrupos por sexo apresentaram $p > 0,05$.

A figura 3 demonstra os dados de análise hematológica de diferentes células sanguíneas da série branca envolvidas na resposta imunológica, descrita por sexo e em diferentes temperaturas. Leucócitos e Plaquetas se mantiveram estáveis ao longo do tempo de monitoramento (Figuras 3A, 3B, 3G e 3H). Na figura 3E mostra um aumento nos níveis séricos de bastonetes em homens submetidos a -5°C, sendo que o grupo feminino apresentou flutuação entre os dias 14 e 60 após o

procedimento (Figura 3F). Os resultados não apresentaram estatisticamente diferenças significativas, mantendo-os dentro dos valores de referência da PNCQ (Anexo F).

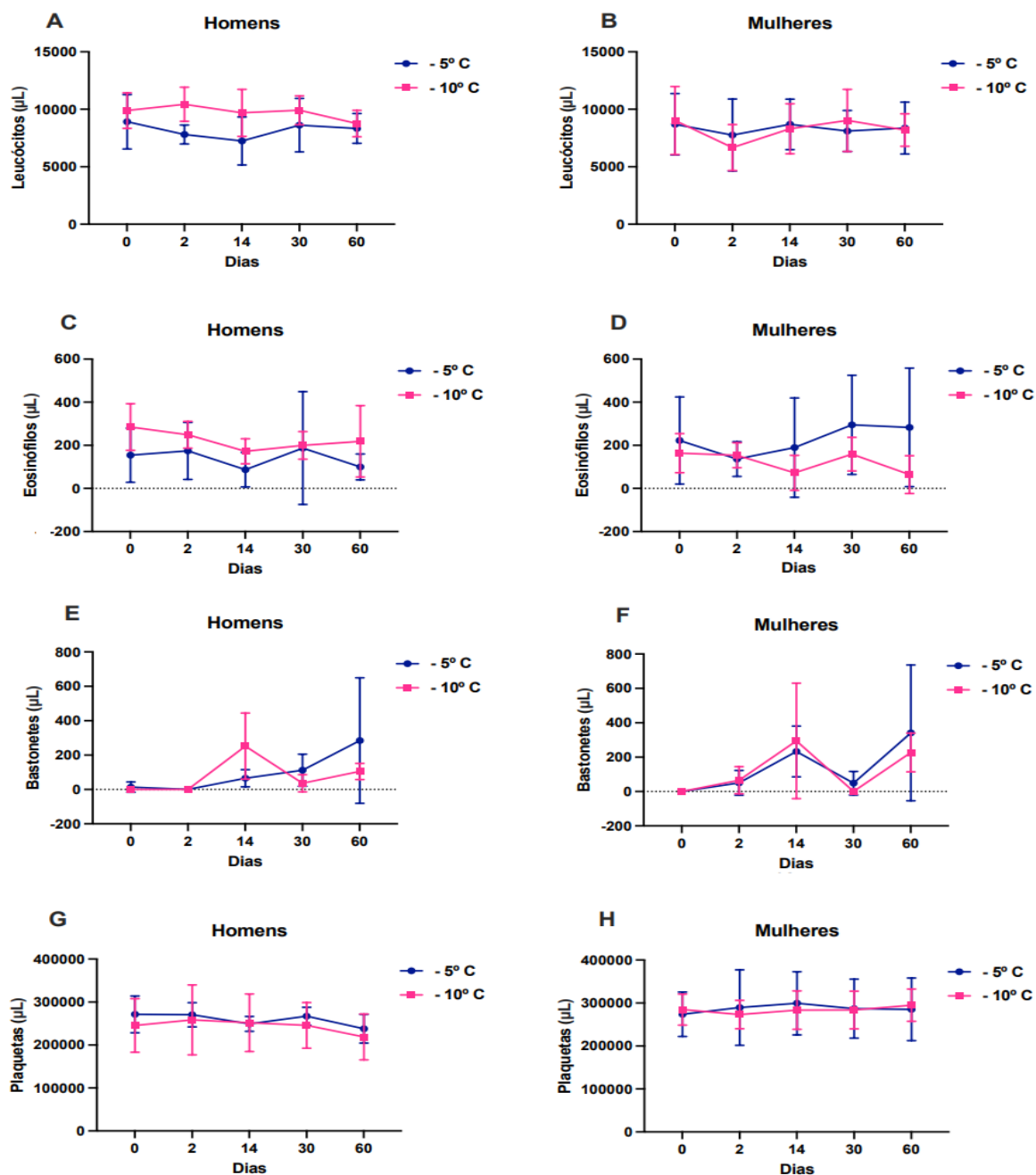


Figura 3. Análise de parâmetros hematológicos de glóbulos brancos após a aplicação da criolipólise às temperaturas de -5°C e à -10°C. Dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak para comparações múltiplas. Todas as comparações entre grupos por sexo -5°C e -10°C apresentaram $p > 0,05$.

A figura 4 representa dados de análise hematológica intragrupos com diferentes componentes da resposta imune e sua determinação por sexo e temperatura. A Figura 4A apresenta os níveis séricos de monócitos nos homens, sendo que os indivíduos submetidos a -5°C apresentaram uma queda discreta após 30 dias do procedimento comparado a linha de base. Já os indivíduos submetidos a -10°C sofreram um declínio acentuado após 14 dias do procedimento comparado a linha de base. Na figura 4B, o grupo feminino submetido a -5°C sofreu um declínio acentuado após 30 dias do procedimento, sem alterações significativas a -10°C . Os níveis séricos dos linfócitos, tanto em homens e mulheres apresentaram alterações discretas, mantendo os níveis quase estáveis indiferente da temperatura (Figura 4E e 4F). Os resultados não apresentaram estatisticamente diferenças significativas, mantendo-os dentro dos valores de referência da PNCQ (Anexo F).

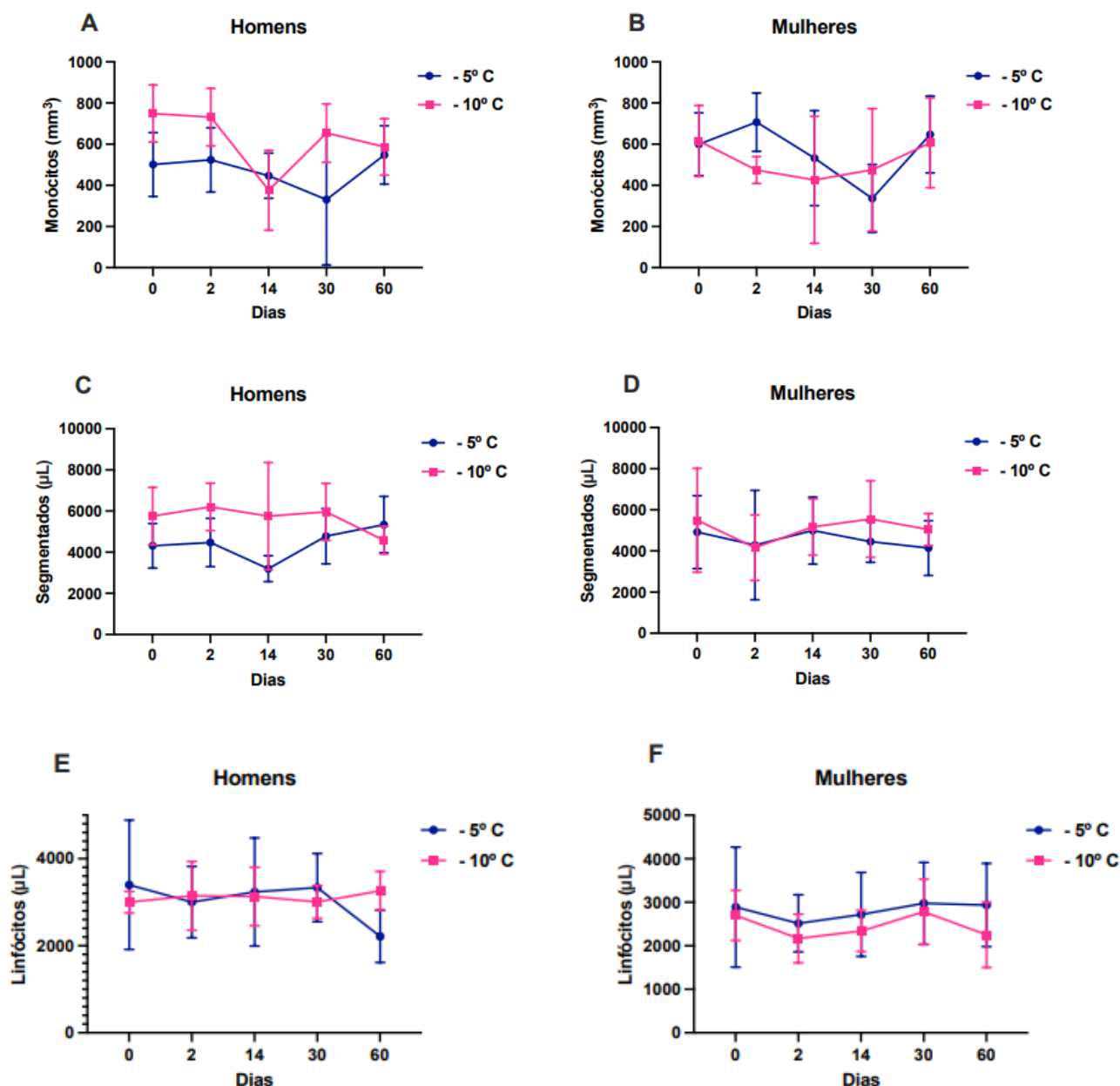


Figura 4. Análise de parâmetros hematológicos da resposta imunológica celular após intervenção com criolipólise às temperaturas de -5° C. e à -10°C. Dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. ANOVA seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak para comparações múltiplas. Todas as comparações entre grupos por sexo -5°C e -10°C apresentaram $p > 0,05$.

4.2 Parâmetro de medida corporal por bioimpedância

A tabela 3 mostra os valores da porcentagem de gordura corporal com intervenção à -10°C e -5°C analisadas por BIA. O grupo submetido a -5°C apresentou redução da porcentagem de gordura corporal de 2,6% de redução média 30 dias após a intervenção quando comparado ao tempo zero ($33,4 \pm 7,7$ vs $34,3 \pm 7,7$); além de 7,3% e 8,2% de redução média após 90 e 120 dias respectivamente ($31,5 \pm 8,2$; $31,8 \pm 8,2$; vs $34,3 \pm 7,7$). O grupo submetido a -10°C, apresentou redução da porcentagem de gordura corporal de 4,4% de redução média 60 dias após a intervenção quando comparado ao tempo zero ($32,9 \pm 6,0$ vs $34,4 \pm 6,2$); além de 5,2% de redução média em 90 dias comparado ao tempo zero ($32,6 \pm 6,2$ vs $34,4 \pm 6,2$).

Tabela 3 – Análise da porcentagem de gordura corporal antes e após intervenção com criolipólise à -5 °C e à -10 °C.

CRIOLIPÓLISE À -5°C						CRIOLIPÓLISE À -10°C				
Dias	0	30	60	90	120	0	30	60	90	120
Gordura corporal	34,3 (7,7)	33,4 (7,7)*	32,2 (8,2)	31,8 (8,2)* ¹	31,5 (8,2)* ¹	34,4 (6,2)	33,6 (6,0)	32,9 (6,0)**	32,6 (6,0)** ²	32,6 (6,2)** ²

Dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão da porcentagem de gordura corporal. ANOVA seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak para comparações múltiplas. * $p < 0,05$ quando comparado com o Baseline. ** $p < 0,01$ quando comparado com Baseline. ¹ $p < 0,01$ quando comparado com 60 dias. ² $p < 0,01$ quando comparado com 30 dias.

A tabelas 4 mostram os valores da porcentagem de gordura corporal por sexo com intervenção à -10°C e -5°C. A comparação demonstrou que o grupo masculino apresentou diferenças após 120 dias da intervenção à temperatura de -5°C em relação ao valor basal inicial (28 – 24,45/29,85 vs 30 – 26,20/33,30). O mesmo efeito não foi observado no grupo feminino (tabela 5).

Tabela 4 - Análise da porcentagem de gordura corporal estratificada por sexo antes e após intervenção com criolipólise à -5 °C.

CRIOLIPÓLISE A -5° C										
Homens						Mulheres				
Dias	0	30	60	90	120	0	30	60	90	120
%	30 (26,2/ 33,30)	30 (22/ 31,95)	28 (25/ 30,50)	28 (24,6/2 9,95)	28 (24,5/ 29,9)*	43 (29,8/ 45,3)	43 (28,9/ 44,3)	42 (26,3/ 43,9)	42 (25,9/ 43,5)	42 (25,4/ 43,1)

Dados são expressos como medianas e intervalo interquartil. Teste de Friedman seguido pelo pós-teste de Dunn para comparações múltiplas. * $p < 0,05$ quando comparado com *Baseline*.

Tabela 5 - Análise da porcentagem de gordura corporal estratificada por sexo antes e após intervenção com criolipólise à -10°C.

CRIOLIPÓLISE À -10° C										
Homens						Mulheres				
Dias	0	30	60	90	120	0	30	60	90	120
%	28 (26,75/ 31,55)	27 (26,35/ 31,25)	27 (26/ 29,95)	26 (25,60/ 29,85)	26 (25,20/ 30)	38 (38/ 42,10)	37 (36,60/ 41,55)	37 (35,60/ 40,95)	37 (35,30/ 40,65)	37 (35,20/ 40,80)

Dados são expressos como medianas e intervalo interquartil. Neste caso, realizou-se Teste de Friedman seguido pelo pós-teste de Dunn para comparações múltiplas. *Todas as comparações entre grupos e intragrupos apresentaram $p > 0,05$.

4.3 Parâmetros inflamatórios e bioquímico

Para avaliar o risco de doenças cardiovasculares, análises adicionais de marcadores inflamatórios foram realizadas após a intervenção do procedimento para comparações entre grupos e intragrupos por sexo. Não houve diferenças estatisticamente significativas nos marcadores inflamatórios em VPM, NLR, PLR, SII e LMR, bem como nos níveis séricos de PCR. PLR e LMR tiveram um pequeno

aumento após 2 e 30 dias da aplicação da técnica, respectivamente a -5°C e PCR um pico após 60 dias a -10°C (Tabela 6 e 7). A médias das determinações da PCR não ultrapassaram o valor de referência estabelecido pelo Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ).

Tabela 6 – Parâmetros inflamatórios e bioquímico antes e após intervenção com criolipólise à -5° C.

CRIOLIPÓLISE A -5° C					
Marcador	Baseline	2 dias	14 dias	30 dias	60 dias
VPM (fL)	7,2 (0,9)	7,1 (0,8)	6,8 (0,7)	6,9 (0,6)	7,4 91,3)
NLR (n/μL)	1,6 (0,7)	1,6 (0,7)	1,5 (0,6)	1,5 (0,2)	2,1 (1,2)
PLR (n/μL)	99,5 (35,7)	104,4 (18,1)	102,2(35,5)	92,1 (22,6)	109,2 (35,0)
LMR (n/μL)	5,9 (2,4)	4,8 (1,9)	7,1 (3,8)	13,9 (9,1)	4,4 (1,4)
PCR (mg/L) ¹	1,9 (0,65/3,55)	1,5 (1,02/5,35)	1,5 (0,87/3,67)	2,1 (0,92/4,20)	1,3 (0,92/6,27)

Dados são expressos como média ± desvio padrão. ANOVA seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak para comparações múltiplas. ¹ Dados são expressos como medianas e intervalo interquartil. Neste caso, realizou-se Teste de Friedman seguido pelo pós-teste de Dunn para comparações múltiplas.

*Todas as comparações entre-grupos e intra-grupos apresentaram $p>0,05$.

Legenda: VPM = volume plaquetário médio; NLR=Razão neutrófilo-linfócito; PLR=Razão plaqueta-linfócito; LMR=Razão linfócito-monócito; PCR= Proteína C Reativa

Tabela 7 – Parâmetros inflamatórios e bioquímico antes e após intervenção com criolipólise à -10° C.

CRIOLIPÓLISE À -10° C					
Marcador	Baseline	2 dias	14 dias	30 dias	60 dias
VPM (fL)	8,0 (2,0)	8,3 (1,5)	7,6 (1,7)	7,4 (1,5)	7,9 (1,2)
NLR (n/μL)	1,9 (0,6)	1,9 (0,4)	2,1 (1,0)	2,0 (0,5)	1,9 (0,8)
PLR (n/μL)	94,8 (22,8)	107,9 (36,3)	105,4 (39,4)	95,4 (28,5)	107,6 (62,7)
LMR (n/μL)	4,3 (1,0)	4,4 (1,1)	9,6 (8,7)	8,5 (11,5)	5,0 (2,3)
PCR (mg/L) ¹	1,6 (0,92/5,72)	2,9 (1,00/11,05)	2,9 (1,32/6,77)	1,7 (0,77/6,27)	4,5 (0,50/9,90)

Dados são expressos como média ± desvio padrão. ANOVA seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak para comparações múltiplas. ¹ Dados são expressos como medianas e intervalo interquartil. Neste caso, realizou-se Teste de Friedman seguido pelo pós-teste de Dunn para comparações múltiplas.

*Todas as comparações entre grupos e intragrupos apresentaram $p > 0,05$.

Legenda: VPM = volume plaquetário médio; NLR=Razão neutrófilo-linfócito; PLR=Razão plaqueta-linfócito; LMR=Razão linfócito-monócito; PCR= Proteína C Reativa

A figura 5 apresenta os dados dos parâmetros inflamatórios intragrupos por sexo em temperaturas diferentes. Na figura 5G, o LMR do grupo masculino apresentou um pico 30 dias após o procedimento a -5°C quando comparado ao tempo zero e 14 dias nos indivíduos submetidos a -10°C. Na figura 5H, o grupo feminino apresentou um pico de LMR 30 dias após o procedimento em ambas as temperaturas. Todavia, os valores de LMR voltaram aos níveis basais após 60 dias.

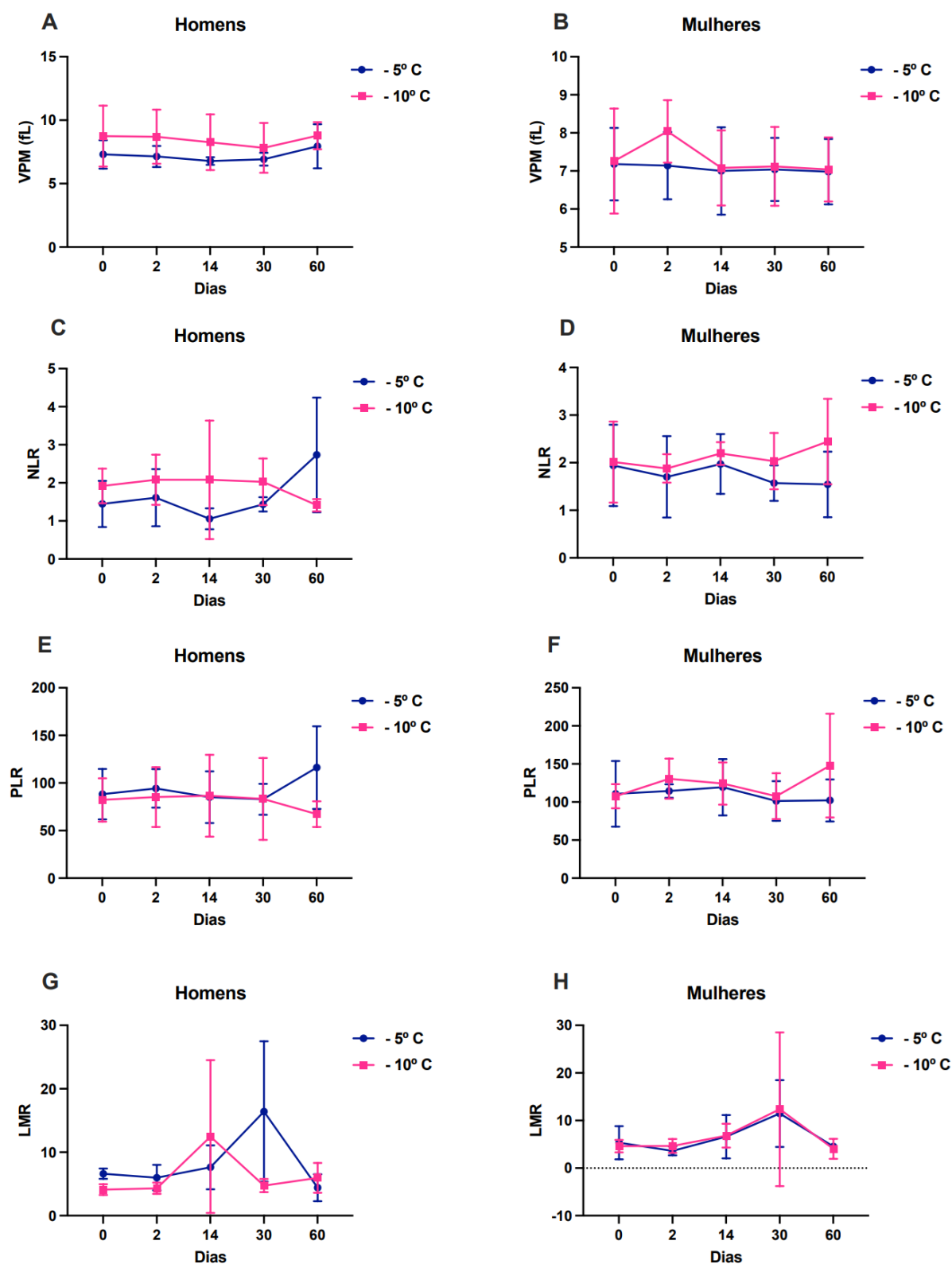


Figura 5. Determinação de marcadores inflamatórios após a intervenção com criolipólise a -5°C e -10°C por sexo. Dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. ANOVA seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak para comparações múltiplas. Todas as comparações apresentaram $p > 0,05$.

A figura 6 apresenta os dados adicionais de marcadores inflamatórios intragrupos com os marcadores inflamatórios SII e PCR, sua determinação por sexo e temperaturas diferentes. Os níveis de SII apresentou o pico em homens após 60 dias a -5°C (Figura 6A). Na figura 6C e 6D, os valores de PCR intragrupos por sexo permaneceram estáveis nos 30 dias, com pequenas alterações nos 60 dias comparado ao tempo zero. Entretanto, os dados não apresentaram estatisticamente diferenças significativas.

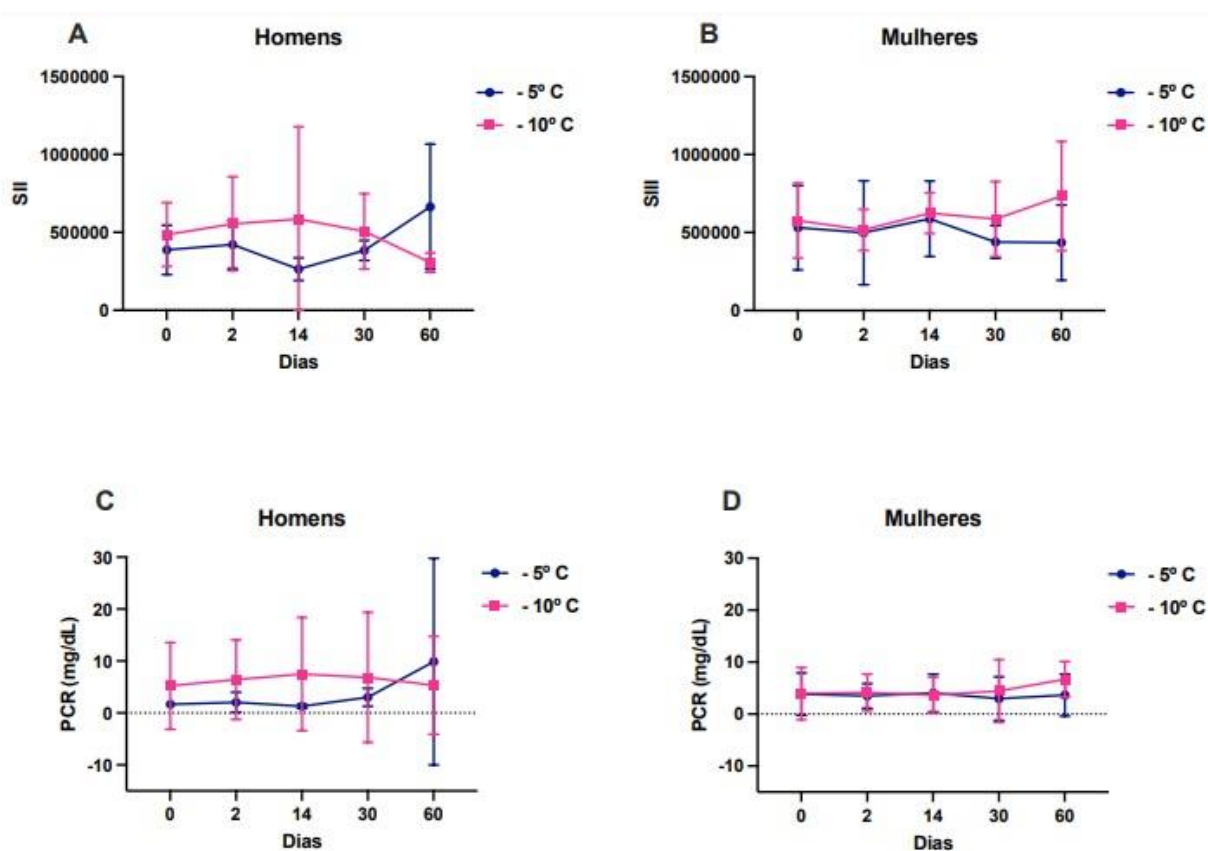


Figura 6. Determinação de marcadores inflamatórios após a intervenção com criolipólise de -5°C e -10°C . Dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. ANOVA seguida pelo pós-teste de Holm-Sidak para comparações múltiplas. Dados são expressos como medianas e intervalo interquartil (C e D). Teste de Friedman seguido pelo pós-teste de Dunn para comparações múltiplas. Todas as comparações entre grupos e intragrupos apresentaram $p > 0,05$.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo analisou diferentes parâmetros hematológicos e inflamatórios, além de medida corporal por BIA por 12 semanas após o procedimento da criolipólise. Até o momento, não há descrito na literatura ensaios clínicos semelhantes realizados para avaliar os efeitos sistêmicos da criolipólise sobre parâmetros bioquímicos e redução de medidas corporal, comparando diferentes temperaturas e perfil de resposta discriminadas por sexo. Não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros hematológicos e marcadores inflamatórios.

A medida corporal da porcentagem de gordura corporal por BIA demonstrou resultados estatisticamente significativos em comparações entre grupos e sobretudo em homens quando comparados as diferenças por sexo.

Estudos anteriores em animais avaliaram o lipidograma em coletas seriadas, sem alterações nos níveis séricos após três meses de observação (MANSTEIN *et al.*, 2008; ZELICKSON *et al.*, 2009). Em humanos, os ensaios clínicos verificaram os níveis séricos de lipídeos e a função hepática, sendo que também não foram reveladas alterações significantes em níveis sistêmicos (KLEIN *et al.*;2009).

A comparação dos resultados da criolipólise por sexo não revelou alterações estatisticamente significativas nos marcadores inflamatórios (VPM; NLR; PLR e LMR), embora a determinação do LMR tenha um pico quando comparado a linha de base em 30 dias após o procedimento dos indivíduos homens submetidos a -5°C e em 14 dias após o procedimento dos indivíduos submetidos a -10°C. No grupo feminino, o pico ocorreu após 30 dias tanto nas submetidas de -5°C e -10°C. Todavia, ambos grupos apresentaram retorno de LMR aos níveis basais após 60 dias. Os resultados de Manstein *et al.* (2008) e Zelickson *et al.* (2009) também demonstraram a atividade inflamatória em seus estudos, com aparente pico do processo inflamatório após três dias, sendo que de sete à quatorze dias a inflamação seguiu de forma ascendente para seu pico de paniculite lobular, de quatorze a trinta dias as células que migraram para o tecido para fagocitar os adipócitos em processo de apoptose, com declínio do processo inflamatório após 30 dias (MANSTEIN *et al.*, 2008; ZELICKSON *et al.*, 2009).

A dosagem da PCR é considerada um marcador de fase aguda do processo inflamatório, e usadas como parâmetro bioquímico por apresentar alta estabilidade e

precisão (GABAY, KUSHNER; 1999). A sua meia-vida plasmática é de até 19 horas, podendo levar alguns dias para retornar aos seus níveis normais, como demonstrado por dosagens seriadas (HO *et al*, 2009; MITAKA *et al.*,2005). Os valores séricos da PCR não apresentaram alterações sistêmicas estatisticamente significativas após o procedimento da criolipólise, permanecendo dentro do limite do valor de referência normal.

Desde o surgimento do método considerado não invasivo e eficaz na redução da camada adiposa, a tecnologia criolipólise fora analisada por diversos pesquisadores. Segundo Coleman *et al* (2009), a redução do tecido adiposo após a técnica da criolipólise é gradativa e pode levar até seis meses após o tratamento, com redução de até 25,5% no período total. Dierickx *et al* (2013) demonstraram que a espessura do tecido adiposo reduz em 23% após 3 meses de tratamento.

A BIA mede o efeito da passagem da corrente elétrica e o respectivo efeito causado sobre as células corporais. O método é bastante preciso e permite mensurar vários parâmetros de composição corporal, como a massa de gordura corporal determinada em nossos estudos (AMB, CFM; 2009).

A determinação da medida corporal por BIA em diferentes temperaturas demonstrou resultados estatisticamente significativos. Corroborando com estes resultados por Sasaki *et al* (2014), obtidos em um estudo com 112 participantes submetidos a variações de temperaturas utilizaram a BIA para mensurar o percentual de gordura, a média de redução após 6 meses do procedimento realizado no abdômen e os flancos foi de 25% e 27%, respectivamente.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica da criolipólise é um dos métodos mais utilizados para redução de gordura localizada. As evidências científicas têm demonstrado sua eficácia na redução de gordura subcutânea, e sua aplicabilidade em vários locais em diferentes temperaturas e tempos de exposição.

O procedimento ainda carece de investigação em relação aos possíveis efeitos fisiológicos sistêmicos, sobretudo o impacto sobre os parâmetros hematológicos e marcadores inflamatórios, além da redução do percentual de massa de gordura corporal. Até o momento, os resultados existentes são insuficientes para garantir a segurança do paciente e os potenciais efeitos sobre a função cardiovascular.

Neste estudo, o objetivo geral foi avaliar sistemicamente a porcentagem de redução de massa de gordura corporal e as possíveis alterações hematológicas e inflamatórias após a aplicação da criolipólise. Todos os elementos da composição sanguínea não apresentaram alteração nos valores em relação aos níveis séricos iniciais. A medida da gordura corporal por BIA foi capaz de identificar redução no percentual de massa de gordura corporal entre grupos, sobretudo em homens quando os resultados foram discriminados por sexo.

A metodologia do estudo foi detalhadamente elaborada para diminuir possíveis erros dos dados coletados e todos os parâmetros foram planejados seguindo normas e padrões de qualidade. A criolipólise cientificamente pode ser considerada um método eficaz para redução de gordura localizada, sendo que o uso de marcadores bioquímicos pode reforçar a segurança dos pacientes quanto à possíveis alterações sistêmicas.

REFERÊNCIAS

- AGNE, J.E. **Criolipólise e outras tecnologias no manejo do tecido adiposo**. São Paulo: Andreoli, 2016.
- AVRAM M.M, HARRY R.S. Cryolipolysis for subcutaneous fat layer reduction. **Lasers Surg Med.** 2009;41(10):703-8
- BACELAR, V; BACELAR, A; MONTAGNA, P; PINHEIRO, C. Importância da crioterapia na lipólise. **Fisioterapia brasil**, v. 6, n. 2, p. 151-156. 2005.
- BOEY, G.E, WASILENCHUK, J.L. Enhanced clinical outcome with manual massage following cryolipolysis treatment: A 4-month study of safety and efficacy. **Lasers in Surgery and Medicine.** 2014; 46(1): 20–26.
- BORGES FS, SCORZA FA. Fundamentos de criolipólise . **Fisioterapia Ser** . vol. 9 - nº 4 .219-224, 2014.
- BORGES, F.S. **Dermato-funcional: modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas**. 2ª ed. São Paulo: Phorte, 2010.
- BRIGHTMAN L, GERONEMUS R. Can second treatment enhance clinical results in cryolipolysis? **Cosmetic Derm.** 24(2):85–88, 2011.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. NCCLS – H3-A6, **Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipunctures**; Approved Standard, 6th ed.
- COBAN Y.K, KURUTAS E.B, CIRALIK H. Ischemia-reperfusion injury of adipofascial tissue: an experimental study evaluating early histologic and biochemical alterations in rats. **Mediators Inflamm.**(5):304-308, 2005.
- COLEMAN S.R, SACHDEVA K, EGBERT B.M, PRECIADO P., ALLISON J. Clinical Efficacy of Noninvasive Cryolipolysis and Its Effects on Peripheral Nerves. **Aesth Plast Surg.**33(4):482-488,2009.
- DIERICKX C.C, MAZER J.M , AREIA M, S KOENIG, ARIGON V. Safety, tolerance, and patient satisfaction with noninvasive cryolipolysis. **Dermatologic Surgery.** 2013, 39(8):1209-1216.
- FERRARO GA. Synergistic effects of cryolipolysis and shock waves for noninvasive body contouring. **Aesthetic Plast Surg.** 2012; 36(3).
- GABAY, C; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **New England journal of medicine**, v. 340, n. 6, p. 448-454, 1999.

GARIBYAN L, SIPPRELL WH, JALIAN HR, SAKAMOTO FH, AVRAM M, ANDERSON RR. Three-Dimensional Volumetric Quantification of Fat Loss Following Cryolipolysis. **Lasers in Surgery and Medicine**. 2014; 46(2):75-80.

GORDON H. SASAKI, M.D, FACS; NATALIE ABELEV, R.N; ANA TEVEZ-ORTIZ, R.N. Noninvasive Selective Cryolipolysis and Reperfusion Recovery for Localized Natural Fat Reduction and Contouring. **Aesthetic Surgery Journal**. Vol. 34(3) 420–431, 2014.

GRAAFF, K. **Anatomia humana**. 6. ed. Barueri: Manole, 2003. 840 p.

GRIVICICH, I; REGNER, A; ROCHA, A. Morte Celular por Apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v. 53, n. 3, p. 335-343. 2007.

HO, K. M.; LIPMAN, J. An update on C-reactive protein for intensivists. **Anaesthesia and intensive care**, v. 37, n. 2, p. 234-241, 2009.

JALIAN H.R, AVRAM M.M, GARIBYAN L, MIHM M.C, ANDERSON R.R. Paradoxical adipose hyperplasia after cryolipolysis. **JAMA Dermatol**. 150(3):317-319, 2014.

JALIAN H.R, AVRAM M.M. Cryolipolysis: A Historical Perspective and Current Clinical Practice Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery. **Frontline Medical Communications**. 1085-5629, 2013.

JEWELL, MARK L.; SOLISH, NOWELL J.; DESILETS, CHARLES S. Noninvasive Body Sculpting Technologies with an Emphasis on High-Intensity Focused Ultrasound. **Aesth Plast Surg**. 35:901–912, 2011.

KLEIN K.B, ZELICKSON B, RIOPELLE J.G, OKAMOTO E, BACHELOR E.P, HARRY R.S, PRECIADO J.A. Non-Invasive Cryolipolysis for Subcutaneous Fat Reduction Does Not Affect Serum Lipid Levels or Liver Function Tests . **Lasers in Surgery and Medicine**; 41(10):785-790.13, 2009.

KRUEGER N, M.A.I SV, Luebberding S, Sadick NS. Cryolipolysis for noninvasive body contouring: clinical efficacy and patient satisfaction. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**. 2014; 7: 201-205.

KUMAR,V; ABBAS, A. K; FAUSTO, N. ROBBINS & COTRAN: **Patologia -Bases Patológicas das Doenças**. 7ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 3 - 48, 2004.

MAAT M.P.M, KLUFT C. Determinants of C-reactive protein concentration in blood. **Ital Heart J**, 2001; 2: 189-95.

MANSTEIN D, LAUBACH H, WATANABE K, FARINELLI W, ZURAKOWSKI D, ANDERSON RR. Selective cryolipolysis: A novel method of non-invasive fat removal. **Lasers Surg Med**. 40(9): 595-604, 2008.

MAYORAL F, KAMINER M, KILMER S, et al. Effect of multiple cryolipolysis treatments on the abdomen. **Lasers in Surgery and Medicine**. 2012; 44(S24):15.

MEYER, P; ANDRADE, I; SOUSA, L; FERNANDES, M. O efeito da crioterapia na lipólise abdominal em mulheres jovens. **Reabilitar**. v. 5, n. 20, p. 17-21. 2003

MITAKA, C. Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. **Clinica chimica acta**, v. 351, n. 1-2, p. 17-29, 2005.

NELSON A.A, WASSERMAN D, AVRAM M.M. Cryolipolysis for reduction of excess adipose tissue. **Semin Cutan Med Surg**. 28(4): 244-9, 2009.

NIKOLAC N, ŠUPAK-SMOLČIĆ V, ŠIMUNDIĆ A-M, ĆELAP I. Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: national recommendations for venous blood sampling. **Biochemia Medica**. 2013;23(3):242-254.

PEKKI A, SAUNI R, VAALASTI A, TOIVIO P, HUOTARI-ORAVA R, HASAN T. Cold Panniculitis in Finnish Horse Riders. **Acta Derm Venereol** 2011, 91: 463–490

PRECIADO J.A, ALLISON J.W. The effect of cold exposure on adipocytes: Examining a novel method for the noninvasive removal of fat. **Cryobiology**. 57: 315–340, 2008.

SALAHUDEEN AK, HUANG H, JOSHI M, et al. Involvement of the mitochondrial pathway in cold storage and rewarming-associated apoptosis of human renal proximal tubular cells. **Am J Transplant**.3:273-280, 2003.

SASAKI GH, ABELEV N, TEVEZ-ORTIZ A. Noninvasive Selective Cryolipolysis and Reperfusion Recovery for Localized Natural Fat Reduction and Contouring. **Aesthetic Surgery Journal**. 2014; 34(3):420-431

SHEK SY, CHAN NPY, CHAN HH. Non-invasive cryolipolysis for body contouring in Chinese - A first commercial experience. **Lasers in Surgery and Medicine**. 2012; 44(2): 125–130, Feb

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML) **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso** – 2. ed. Barueri, SP: Minha Editora, 2010

SPALDING KL, ARNER E, WESTERMARK PO, BERNARD S, BUCHHOLZ BA, BERGMANN O, BLOMQVIST L, HOFFSTEDT J, NASLUND E, BRITTON T, CONCHA H, HASSAN M, RYDEN M, FRISEN J, ARNER P. Dynamics of fat cell turnover in humans. **Nature**; 453(7196): 783–787, 2008.

STEVENS W.G, PIETRZAK L.K, SPRING M.A. Broad Overview of a Clinical and

Commercial Experience With CoolSculpting. **Aesthetic Surgery Journal** August. 2013; vol. 33 (6), p.835-846

TEMPLETON, A.J. et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 106, n. 6, 2014.

ZELICKSON B, EGBERT B.M, PRECIADO J, ALLISON J, SPRINGER K, RHOADES R.W, MANSTEIN D. Cryolipolysis for noninvasive fat cell destruction: initial results from a pig model. **Dermatol Surg**. 35: 1462-1470, 2009.

ANEXOS

ANEXO A: TCLE



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, Bruno Gonçalves Ferreira (aluno de pós graduação do mestrado de biociência) da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, estou convidando você, a participar de um estudo intitulado “OS EFEITOS APÓS A APLICAÇÃO DA CRIOLIPÓLISE NAS ALTERAÇÕES DA PROTEÍNA C REATIVA, MASSA GORDA ATRAVÉS DA BIOIMPEDÂNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS, FISIOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS”.

- a) O objetivo desta pesquisa é descobrir se após a aplicação da criolipólise na região do abdômen superior e inferior no intervalo de 02 e 120 dias, ocorrem alterações em proteína C reativa, células hematológicas e composição da massa gorda.
- b) Caso você participe da pesquisa, a realização da técnica da criolipólise será no abdômen superior e inferior, a coleta de amostra sanguínea seguirá as etapas do cronograma, tais como: coleta de sangue antes do procedimento, após dois dias do procedimento e subsequente 14, 30 e 60 dias. A coleta de dados referente à composição corporal será a medição pelo aparelho de bioimpedância da massa gorda do participante antes do procedimento, 30 dias após o procedimento e subsequente 60, 90 e 120 dias.
- c) Para tanto você deverá comparecer no Laboratório de Análises Clínicas das Nações – LANAC na unidade Batel, situada a Rua Vicente Machado, nº 1063, para as coletas de amostras biológicas (amostras de sangue), o horário será definido de acordo com a possibilidade de cada participante, o que levará aproximadamente 15 minutos. Para a aplicação da técnica da criolipólise no abdômen superior e inferior; e para análise de composição corporal com o equipamento de bioimpedância, o local de aplicação será a Clínica Dr. Estética Ltda, situada na Avenida Sete de Setembro, 4698 sala 1305 – Batel, Curitiba/PR, o que levará aproximadamente 1(uma) hora para uso da técnica e para a medição da bioimpedância aproximadamente 15 minutos. A data será definida com cada grupo separadamente.
- d) Para a realização da coleta sanguínea é possível que você experimente um desconforto na coleta e um hematoma no local da introdução da agulha, entretanto caso aconteça o hematoma referente à coleta, o mesmo desaparecerá em poucos dias. É possível também que durante a realização da técnica da criolipólise, devido o vácuo da manopla do equipamento e ao congelamento da gordura abdominal você experimente algum desconforto, hematomas, eritema (vermelhidão) no local, perda da sensibilidade da pele por alguns dias por causa do congelamento e o local poderá ficar dolorido ao toque por algumas semanas.

Rubricas:

Participante da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE _____

e) Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser: hematoma no local da aplicação, edema local (inchaço), eritema (pele avermelhada), perda da sensibilidade da pele e dor, que desaparecem com alguns dias ou semanas.

f) O benefício esperado com essa pesquisa é uma possível redução de medidas com a diminuição da espessura da gordura na região do abdômen superior e inferior. O procedimento da criolipólise não é invasivo e é muito utilizado no âmbito estético. Entretanto, a eficiência do resultado do método pode ser questionada por caráter intrínseco metabólico de cada paciente. A definição dos grupos será aleatória e a submissão de temperaturas diferentes do Grupo A para o B, não prejudicará os participantes no benefício de redução de medidas. Pois, Manstein (2008) e Preciado (2008) que utilizaram diferentes temperaturas nos seus grupos amostrais, todos obtiveram resultados frente à redução de células adiposas. Nem sempre você será diretamente beneficiado com o resultado da pesquisa, mas poderá contribuir para o avanço científico.

g) O pesquisador Bruno Gonçalves Ferreira responsável por este estudo poderá ser localizado na Clínica Dr.Estética Ltda , situada na Avenida Sete de Setembro, 4698 sala 1305, Curitiba/PR . Contato: (41) 3018-5822 /30155821 / 98836-8855 ou bemestarbruno@yahoo.com.br , no horário de atendimento das 14:00 às 19:30 de segunda a sexta-feira para esclarecer eventuais dúvidas que você possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo. Caso, o participante tenha alguma dúvida de caráter médico poderá entrar em contato diretamente com o atendimento médico, a Dra. Adriana Cristina da Silva no horário de atendimento das 13:00 às 20h00 de segunda a sexta-feira pelo contato (41) 99189-5477, a mesma é responsável pela assistência médica prestada e que não terá ônus ao participante da pesquisa.

h) A sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado.

i) As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas, como o orientador Dr. Cezar Rangel Pestana, a co-orientadora Profª Dra. Elenice Stroparo e a médica Dra. Adriana Cristina da Silva. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a **sua identidade seja preservada e mantida sua confidencialidade.**

Rubricas: Participante da Pesquisa e /ou responsável legal _____ Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE _____

j) O material obtido da amostra biológica da pesquisa (amostras sanguíneas) será coletada pelo Laboratório de Análises Clínicas das Nações – LANAC na unidade Batel, situada a Rua Vicente Machado, nº 1063, os participantes terão suas identidades preservadas e o sistema apenas vai gerar um código para definir as amostras. As coletas do material biológico segue o cronograma de etapas definida pela pesquisa (antes do procedimento da criolipólise, após dois dias e subsequente 14, 30 e 60 dias), as amostras serão processada por um equipamento de automação e após a realização das análises, o material permanecerá armazenado por 10 dias sob-refrigeração na própria unidade, ficando disponível, neste período, para retirada do material biológico pelo participante, caso este deseje, todavia o material que não for solicitado durante este período será encaminhado para descarte e destruição da amostra como lixo hospitalar. As amostras biológicas serão utilizadas unicamente para essa pesquisa.

k) As despesas necessárias para a realização da pesquisa, como exames e o equipamento da criolipólise não são de sua responsabilidade e você não receberá qualquer valor em dinheiro pela sua participação.

l) Você terá a garantia de que problemas como: hematoma no local da aplicação, edema local (inchaço), eritema (pele avermelhada), perda da sensibilidade da pele e dor, decorrentes do estudo o participante será encaminhado para a empresa parceira – Clínica Dr. Estética, situada na Avenida Sete de Setembro, 4698, Batel – Curitiba. Todo o acompanhamento será realizado com profissionais especializados para os cuidados, biomédicos, esteticistas e caso necessário um atendimento de caráter médico com a Dra. Adriana Cristina da Silva. A paciente poderá entrar em contato direto com ela pelo telefone (41) 99189-5477, sem ônus ao participante.

m) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código, ou serão apresentados apenas dados gerais de todos participantes da pesquisa.

n) Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, você pode contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Tuiuti do Paraná, pelo telefone (041) 3331-7668 / e-mail: comitedeetica@utp.br. Rua: Sidnei A. Rangel Santos, 245, Sala 04 - Bloco PROPPE. Horário de atendimento das 13:30 às 17:30.

Rubricas:

Participante da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE _____

Eu, _____ li esse Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem qualquer prejuízo para mim. Eu entendi que pacientes diabéticos, lactantes, hepatopatia, imunossuprimidos, anoréticos, portador de hepatite C, síndrome de Sjogren, vasculite, artrite reumatoide, lipoaspirados, portador de doenças autoimunes e/ou qualquer patologias que altere as funções fisiológicas podem alterar os marcadores que serão analisados na pesquisa. Eu entendi que durante a pesquisa não posso engravidar, praticar atividade física, lipoaspiração cirúrgica, acompanhamento nutricional, uso de anti-inflamatório sem aviso prévio ao pesquisador. Fui informado que serei atendido sem custos para mim se eu apresentar algum dos problemas relacionados no item anteriormente citados.

Eu receberei uma via assinada e datada deste documento.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Curitiba, ____ de _____ de 20 ____.

[Assinatura do Participante de Pesquisa ou Responsável Legal]

[Nome e Assinatura do Pesquisador]

ANEXO B: Declaração de Infraestrutura I



Universidade Tuiuti do Paraná

Credenciada por Decreto Presidencial de 07 de julho de 1997 - D.O.U nº 128, de 08 de julho de 1997, Seção 1, Página 14295.

Declaração de Infra-Estrutura e Autorização Para o Uso da Mesma

Ao Comitê de Ética em Pesquisa –CEP

Universidade Tuiuti do Paraná – UTP

Declaro, conforme a Resolução CNS 466/2012 a fim de viabilizar a execução da pesquisa intitulada, “OS EFEITOS APÓS A APLICAÇÃO DA CRIOLIPÓLISE NAS ALTERAÇÕES DA PROTEINA C REATIVA, MASSA GORDA ATRAVÉS DA BIOIMPEDÂNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS, FISIOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS”, sob a responsabilidade do(s) pesquisador (es) BRUNO GONCALVES FERREIRA, que o material biológico da pesquisa (amostras sanguíneas) será coletada pelo Laboratório de Análises Clínicas das Nações – LANAC na unidade Batel, situada a Rua Vicente Machado, nº 1063, os participantes terão suas identidades preservadas e o sistema apenas vai gerar um código para definir as amostras. As coletas do material biológico segue o cronograma de etapas definida pela pesquisa (antes do procedimento da criolipólise, após dois dias e subsequente 14, 30 e 60 dias), as amostras serão processada por um equipamento de automação e após a realização das análises, o material permanecerá armazenado por 10 dias sob-refrigeração na própria unidade, ficando disponível, neste período, para retirada do material biológico pelo participante, caso este deseje, todavia o material que não for solicitado durante este período será encaminhado para descarte e destruição da amostra. Todo o processo de análise da amostra biológica não gera nenhum ônus ao participante. O laboratório conta com toda a infra-estrutura necessária para a realização e que o(s) pesquisador(es) acima citado(s) está(ão) autorizado(s) a utilizá-la, tão logo o projeto seja aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Tuiuti do Paraná.

utp.edu.br | 41 3331-7700

Campus Prof. Sydnei Lima Santos | Reitoria: Rua Sydnei A. Rangel Santos, 245 • Santa Inácia • 82010-330 • Curitiba - Paraná

Campus Bacacheri: Rua Cicero Jaime Bley, s/n Hangar 38 • Bacacheri • 82515-180 • Curitiba - Paraná

Campus Schaffer: Rua Padre Ludovico Branny, 249 • Jardim Schaffer • 82100-280 • Curitiba - Paraná

Campus Mossunguê: Rua José Nicco, 179 • Mossunguê • 81200-300 • Curitiba - Paraná



Universidade Tuiuti do Paraná

Credenciada por Decreto Presidencial de 07 de julho de 1997 - D.O.U nº 128, de 08 de julho de 1997. Seção 1, Página 14295.

De acordo e ciente,

Curitiba, 09 de Agosto de 2020.

LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS DAS NAÇÕES

CNPJ: 82.658.840/0001-00

Lutz Ernesto Fedalto
Farmacêutico Coordenado Técnico
CPF: 06413247908

utp.edu.br | 41 3331-7700

Campus Prof. Sydney Lima Santos | Reitoria: Rua Sydney A. Rangel Santos, 245 • Santo Inácio • 82010-330 • Curitiba - Paraná
Campus Bacacheri: Rua Cícero Jaime Bley, s/n Hangar 38 • Bacacheri • 82515-180 • Curitiba - Paraná
Campus Schaffer: Rua Padre Ludovico Bronny, 249 • Jardim Schaffer • 82100-280 • Curitiba - Paraná
Campus Mossunguê: Rua José Nicco, 179 • Mossunguê • 81200-300 • Curitiba - Paraná

ANEXO C: Declaração de Infraestrutura II

**Declaração de Infra-Estrutura e Autorização Para o Uso da Mesma**

Ao Comitê de Ética em Pesquisa –CEP

Universidade Tuiuti do Paraná – UTP

Declaro, conforme a Resolução CNS 466/2012 a fim de viabilizar a execução da pesquisa intitulada, **“OS EFEITOS APÓS A APLICAÇÃO DA CRIOLIPÓLISE NAS ALTERAÇÕES DA PROTEÍNA C REATIVA, MASSA GORDA ATRAVÉS DA BIOIMPEDÂNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS, FISIOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS”**, sob a responsabilidade do(s) pesquisador(es) **BRUNO GONÇALVES FERREIRA**, que a área de **CLÍNICA DR.ESTÉTICA LTDA**, conta com toda a infra-estrutura necessária para a realização e que o(s) pesquisador(es) acima citado(s) está(ão) autorizado(s) a utilizá-la, tão logo o projeto seja aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Tuiuti do Paraná.

De acordo e ciente,

Curitiba, 08 de julho de 2019.

Rosa Maria H. G. Cavalcante
Clínica Dr. Estética
CNPJ: 13.507.317/0001-60

Clínica Dr.Estética Ltda CNPJ: 13.507.317/0001-60

Bruno Gonçalves
Dr. Bruno Gonçalves
Biomédico Estético
CRBM: 2393

Bruno Gonçalves Ferreira – CPF: 052869399-96 (Responsável pela área)

utp.edu.br | 41 3331-7700

Campus Prof. Sydney Lima Santos | Reitoria: Rua Sydney A. Rangel Santos, 245 • Santo Inácio • 82010-450 • Curitiba - Paraná
Campus Bacacheri: Rua Cicero Jaime Bery s/n Hangar 88 • Bacacheri • 82625-180 • Curitiba - Paraná

ANEXO D: Declaração de atendimento médico



Universidade Tuiuti do Paraná

Estabelecida por Decreto Presidencial de nº 07 de julho de 1997 - D.O.U nº 128 de 08 de julho de 1997 - Seção 1, Página 12145

Declaração de Atendimento Médico

Ao Comitê de Ética em Pesquisa –CEP

Universidade Tuiuti do Paraná – UTP

Declaro, conforme a Resolução CNS 466/2012 a fim de viabilizar a execução da pesquisa intitulada, “OS EFEITOS APÓS A APLICAÇÃO DA CRIOLIPÓLISE NAS ALTERAÇÕES DA PROTEÍNA C REATIVA, MASSA GORDA ATRAVÉS DA BIOIMPEDÂNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS, FISIOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS”, sob a responsabilidade do(s) pesquisador(es) BRUNO GONÇALVES FERREIRA, que a área da CLÍNICA DR. ESTÉTICA LTDA, será utilizada pela neurologista Dra Adriana Cristina da Silva – CRM: 39733, caso ocorra algum dano a(o) participante será encaminhado para um tratamento médico de forma gratuita, a mesma se responsabiliza pela assistência médica a ser prestada e que não terá ÔNUS ao participante.

De acordo e ciente,

Curitiba, 08 de agosto de 2019.

Adriana Cristina da Silva
NEUROLOGISTA
CRM - PR 39.733

Adriana Cristina da Silva - CRM: 39733 (Responsável pelo atendimento médico)

utp.edu.br | 41 3331-7700

Campus Prof. Sydnei Lima Santos | Reitoria: Rua Sydnei A. Ranger Santos, 249 • Santo Inácio • 82010-530 • Curitiba - Paraná
Campus Bacachert: Rua Cleusa Juvie Bley, s/n Hangar 18 • Bacachert • 82515-180 • Curitiba - Paraná
Campus Schaffner: Rua Padre Ludovico Branny, 249 • Jardim Schaffner • 82100-780 • Curitiba - Paraná
Campus Mossunguê: Rua José Nereu, 329 • Mossunguê • 81200-100 • Curitiba - Paraná

ANEXO E: RESULTADO AUTOMATIZADO

LANAC
Laboratório de Análises Clínicas

Dr. Marcos Vinícius Kozłowski CRP 4849/RT
Dra. Elisele Sabedotti Pereira CRP 2526
Dra. Talita Sabedotti Pereira CRP 21286
Registro CRP EM-015418/0

Paciente/Patient : A1M1.1 203-65260-256
Dr. (a)/Doctor : PRUDENTIAL
Data/Date : 04/09/2019 - 21:43 Nasc./Birth :
Origem : HSP Vita Batel - Ala 200 Idade/Age :
Convênio/Convenant : PESQUISAS MÉDICAS PARTICULADa de Emissão : 06/11/2019 - 14:56
Quarto/Room : Documento :

HEMOGRAMA

Material : Sangue total com EDTA Coleta: 04/09/2019 Liberação: 05/09/2019 - 07:33
Método : Automatizado

ERITROGRAMA

Hematócrito.....:	42,98 %		Valor de referência:
Hemoglobina.....:	15,40 g/dL		41,00 a 53,00 %
Hemácias.....:	5,11 milhões/uL		13,00 a 16,00 g/dL
V.C.M.....:	84,10 fL		4,50 a 5,90 milhões/uL
H.C.M.....:	30,14 pg		80,00 a 100,00 fL
C.H.C.M.....:	35,84 %		26,00 a 34,00 pg
R.D.W.....:	11,26 %		31,00 a 37,00 %
			11,50 a 14,50 %

LEUCOGRAMA

Leucócitos.....:		6.390 /mm3	Valor de referência:
Neutrófilos.....:	1 %	64 /mm3	4.000 a 10.000 /mm³
Basófilos.....:	1 %	64 /mm3	0 a 600 /mm³
Linfócitos Típicos...:	38 %	2.428 /mm3	0 a 200 /mm³
Monócitos.....:	8 %	511 /mm3	1.000 a 5.000/mm³
Neutrófilos.....:	52 %	3.323 /mm3	80 a 1.200/mm³
Segmentados.....:	52 %	3.323 /mm3	1.800 a 10.000/mm³

Plaquetas.....: 254.400 /mm3 140.000 a 400.000/mm³
V.C.P.M.....: 6,9 fL 7,5 a 11,2 fL

Exame liberado eletronicamente por : Dra. Francila Gouveia de Aguiar - CREM/6 - 470

PCR - PROTEÍNA C REATIVA 1,600 mg/L

Material : Soro Coleta: 04/09/2019 Liberação: 04/09/2019 - 23:19
Método : Turbidimetria
Valor de Referência: Inferior a 5,0 mg/L

ANEXO F: VALORES DE REFERENCIA DA PNCQ



Programa Nacional de Controle de Qualidade
Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

Provedor de ensaios de Proficiência
para Laboratórios Clínicos,
Bancos de Sangue, Organizações
de Diagnóstico in vitro e Alimentos

VALORES DE REFERÊNCIA HEMATOLÓGICOS PARA ADULTOS E CRIANÇAS

Fonte: Dacie and Lewis – Practical Haematology. 12th Edition, 2017

Valores hematológicos de referência em adultos			
		Homens	Mulheres
Hemácias	$\times 10^{12}/L$	$5,00 \pm 0,5$	$4,3 \pm 0,5$
Hemoglobina	g/dL	$15,0 \pm 2,0$	$13,5 \pm 1,5$
Hematócrito	(%)	45 ± 5	41 ± 5
Leucócitos	$\times 10^9/L$	$7,0 \pm 3,0$	
VGM	fL	92 ± 9	
HGM	Pg	$29,5 \pm 2,5$	
CHGM	g/dL	$33 \pm 1,5$	
RDW	CV (%)	$12,8 \pm 1,2$	
	SD (fL)	$42,5 \pm 3,5$	
Plaquetas	$\times 10^9/L$	150 - 400	

R. Vicente Licínio, nº 193 | Tijuca - Rio de Janeiro - RJ | CEP: 20270-340 | Tel/Fax: 55 (0XX21) 2569-6867 | www.pncq.org.br



Empresa certificada pela ABNT
em conformidade com a
ABNT NBR ISO 9001:2008
sob o número 23.808/94





Programa Nacional de Controle de Qualidade
Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

Provedor de ensaios de Proficiência
para Laboratórios Clínicos,
Bancos de Sangue, Organizações
de Diagnóstico *in vitro* e Alimentos

Valores hematológicos de referência – série branca							
Idade	Leucócitos/ μ L	Neutrófilos/ μ L	Linfócitos/ μ L	Monócitos/ μ L	Eosinófilos/ μ L	Basófilos/ μ L	Plaquetas/ μ L
Nascimento	18.000 10.000 – 26.000	4.000 – 14.000	1.000 – 8.000	500 – 2.000	100 – 1.000	20 – 100	150 – 450
3 dias	15.000 7.000 – 22.000	1.000 – 5.000	1.000 – 8.000	500 – 1.000	100 – 2.000	20 – 100	210 – 500
1 mês	12.000 5.000 – 19.000	1.000 – 6.000	1.000 – 16.000	300 – 1.000	200 – 1.000	20 – 100	210 – 650
2 meses	10.000 5.000 – 15.000	1.000 – 5.000	4.000 – 10.000	400 – 1.200	100 – 1.000	20 – 100	210 – 650
3 - 6 meses	12.000 6.000 – 18.000	1.000 – 6.000	4.000 – 12.000	200 – 1.200	100 – 1.000	20 – 100	200 – 550
1 ano	11.000 6.000 – 16.000	1.000 – 7.000	3.500 – 11.000	200 – 1.000	100 – 1.000	20 – 100	200 – 550
2 - 6 anos	10.000 5.000 – 15.000	1.500 – 8.000	6.000 – 9.000	200 – 1.000	100 – 1.000	20 – 100	200 – 450
6 - 12 anos	9.000 5.000 – 13.000	2.000 – 8.000	1.000 – 5.000	200 – 1.000	100 – 1.000	20 – 100	180 – 400
Adultos	7.000 4.000 – 10.000	1.000 – 7.000	1.000 – 3.000	200 – 1.000	20 – 500	20 – 100	150 – 400

Valores hematológicos de referência – série vermelha						
Idade	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	Hemácias ($\times 10^6/\mu$ L)	VGM (fL)	HGM (pg)	CHGM (g/dL)
Nascimento	18,0 $\pm$ 4,0	60 $\pm$ 15	6,0 $\pm$ 1,0	110 $\pm$ 10	34 $\pm$ 3	33 $\pm$ 3
3 dias	18,0 $\pm$ 3,0	56 $\pm$ 11	5,3 $\pm$ 1,3	105 $\pm$ 13	34 $\pm$ 3	33 $\pm$ 4
1 mês	14,0 $\pm$ 2,5	43 $\pm$ 10	4,2 $\pm$ 1,2	104 $\pm$ 12	33 $\pm$ 3	33 $\pm$ 4
2 meses	11,2 $\pm$ 1,8	35 $\pm$ 7	3,7 $\pm$ 0,6	95 $\pm$ 8	30 $\pm$ 3	32 $\pm$ 5
3 - 6 meses	12,6 $\pm$ 1,5	35 $\pm$ 5	4,7 $\pm$ 0,6	76 $\pm$ 8	27 $\pm$ 3	33 $\pm$ 3
1 ano	12,6 $\pm$ 1,5	34 $\pm$ 4	4,5 $\pm$ 0,6	78 $\pm$ 6	27 $\pm$ 2	34 $\pm$ 2
2 - 6 anos	12,6 $\pm$ 1,5	37 $\pm$ 3	4,5 $\pm$ 0,6	81 $\pm$ 6	27 $\pm$ 3	34 $\pm$ 3
6 - 12 anos	12,5 $\pm$ 1,5	40 $\pm$ 5	4,5 $\pm$ 0,6	86 $\pm$ 9	29 $\pm$ 4	34 $\pm$ 3

Atualizado em 26/06/20.

R. Vicente Licínio, nº 193 | Tijuca - Rio de Janeiro - RJ | CEP: 20270-340 | Tel/Fax: 55 (0XX21) 2569-6867 | www.pncq.org.br



Empresa certificada pela ABNT
em conformidade com a
ABNT NBR ISO 9001:2008
sob o número 23.008/04



ANEXO G: PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA (CEP)

UNIVERSIDADE TUIUTI DO
PARANÁ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: OS EFEITOS APÓS A APLICAÇÃO DA CRIOLIPÓLISE NAS ALTERAÇÕES DA PROTEÍNA C REATIVA, MASSA GORDA ATRAVÉS DA BIOIMPEDÂNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS, FISIOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS.

Pesquisador: BRUNO GONCALVES FERREIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 17004919.3.0000.8040

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA INTEGRAÇÃO LATINO-AMERICANA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.523.458

Apresentação do Projeto:

A criolipólise é um método cuja finalidade é o resfriamento do tecido adiposo para redução de medidas por apoptose celular. É uma técnica estética não invasiva, a temperatura de resfriamento pode variar de -5°C a -15°C com duração de 60 minutos, causando uma paniculite fria no local aplicado, fazendo com que a célula adiposa sofra lesões irreversíveis e ative o ciclo apoptótico. Vários autores descrevem o processo após a criolipólise, desde a fase da aplicação, processo inflamatório, até a apoptose celular. As análises clínicas são fragmentadas e com várias lacunas no processo que ocorre no organismo, os aspectos físico-clínicos do paciente não foram analisados no processo durante a aplicação e pós e, as alterações no local podem ser por sintomas e sinais, tais como: o rubor, o calor, o tumor, dor, edema, hematomas, petéquias, pistache e prurido.

Sabendo que a criolipólise causa um processo inflamatório no tecido adiposo, denominado por alguns autores como Paniculite Lobular e chega ao seu pico em 14 dias e sua diminuição até 30 dias. O processo de apoptose seria após o primeiro mês de aplicação por lesões irreversíveis causadas pelo resfriamento do tecido. Nenhum artigo até o momento fez análise para mensurar o nível de Paniculite Lobular, o processo pode ser medido pela Proteína C Reativa (PCR), mesmo sendo inespecífica pode quantificar um processo inflamatório no organismo. A Análise de Bioimpedância (BIA) é uma ferramenta para medir variantes da composição corporal, para avaliar a diminuição da Massa Gorda (MG) em kilos (kg) e porcentagem (%) após o procedimento da

Endereço: Rua Sidnei A. Rangel Santos, 245 - Bloco Proppa, sala 04 - Tâmboré
Bairro: SANTO INACIO **CEP:** 82.010-330
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3334-7668 **Fax:** (41)3334-7668 **E-mail:** comitedeetica@utp.br

UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ



Continuação do Parecer: 3.123.456

criolipólise, a Análise de Bioimpedância BIA será essencial para caracterizar a redução de medidas do tecido adiposo.

Assim, o objetivo fundamental da pesquisa é esclarecer algumas dúvidas frequentes sobre como o organismo reage frente à aplicação do método e garantir a realização de um procedimento estético eficaz e seguro. A pesquisa será realizada em dois grupos (Grupo A e B) com coleta de duas amostras, contendo três seguimentos de análise e cada um com etapas específicas. As amostras serão: biológicas (análise bioquímica e hematológica) e composição corporal (análise de bioimpedância). O grupo A será exposto a -5°C e o grupo B -10°C por 60 minutos.

Segue as seguintes etapas para coleta da amostra biológica: Tempo Zero (antes da aplicação da criolipólise); Tempo 1 (dois dias após o procedimento); Tempo 2 (14 dias / duas semanas após aplicação); Tempo 3 (30 dias / 4 semanas após a aplicação); Tempo 4 (60 dias / 8 semanas a após a aplicação). Cada etapa será coletada um tubo de sangue específico para a cada análise. As etapas para coleta da amostra de composição corporal serão: Tempo Zero (antes da aplicação da criolipólise); Tempo 1 (30 dias / 4 semanas após a aplicação); Tempo 2 (60 dias / 8 semanas após aplicação); Tempo 3 (90 dias / 12 semanas após a aplicação) e Tempo 4 (120 dias / 18 semanas a após a aplicação). Método de bioimpedância (BIA) não invasivo para avaliar o percentual de gordura / massa gorda dos participantes.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Preencher as lacunas presentes sobre as práticas da técnica da criolipólise em humanos.
- Descobrir quais são os efeitos colaterais sistêmicos a aplicação da criolipólise, pouco se sabe como ela age realmente no organismo. Mensurar o quadro inflamatório no tecido lesionado, desde o início até o término da paniculite lobular através da Proteína C Reativa (PCR).
- Constatar se o procedimento realmente altera funções fisiológicas no corpo humano. Sabendo que após a lesão irreversível, o organismo recrutará células mononucleares para fagocitar o tecido lesionado, pretende-se analisar quais células aumentarão sistemicamente a quantificar através da Análise de Bioimpedância (BIA).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS:

Toda coleta de dados envolvendo seres humanos acarreta em algum tipo de risco, seja ele físico,

Endereço: Rua Sidnei A. Rangel Santos, 245 - Bloco Propex, sala 04 - Telmao
Cidade: SANTO INACIO **CEP:** 83.610-330
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3331-7668 **Fax:** (41)3331-7668 **E-mail:** comiteetica@utp.br

UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ



Continuação do Parecer: 3.523.458

psíquico, moral, intelectual, social e/ou caráter religioso. É possível que apresente algum desconforto, principalmente relacionado ao congelamento da gordura abdominal e algum hematoma da coleta de sangue

BENEFÍCIOS:

O procedimento da criolipólise não é invasivo e é muito utilizado no âmbito estético para redução de medidas. Entretanto, a eficiência do método pode ser questionada por caráter intrínseco de cada paciente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo a ser desenvolvido como parte da formação de Mestrado de um aluno da UNIVERSIDADE FEDERAL DA INTEGRAÇÃO LATINO-AMERICANA, cuja análise ética foi enviada ao CEP da UTP pela CONEP.

Os pesquisadores são três: BRUNO GONÇALVES FERREIRA, Biomédico, Mestrando da Universidade Federal da Integração Latino-Americana; CEZAR RANGEL PESTANA, Farmacêutico, Profº. PhD da Universidade Federal da Integração Latino-Americana e FELENICE STROPARO -farmacêutica, Profº. Drª da Universidade Tuiuti do Paraná.

A amostragem será de 20 participantes, divididos em grupo A - 10 participantes (05 homens e 05 mulheres) e grupo B - 10 participantes (05 homens e 05 mulheres). A faixa etária entre 25 a 45 anos. O local definido para realização da técnica da criolipólise será o abdômen inferior e superior.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os Termos de apresentação obrigatória estão de acordo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

1.No documento intitulado "PROJETO":

11. Na Página 6 de 12, item 3 METODOLOGIA PROPOSTA, lê-se: "A seleção dos participantes obedecerá aos critérios de inclusão e exclusão (itens 3.3 e 3.4), e os mesmos só poderão realizar a

Endereço: Rua Sínei A. Rangel Santos, 245 - Bloco Propex, sala 04 - Tênis			
Bairro: SANTO INACIO		CEP: 82.010-330	
UF: PR	Município: CURITIBA		
Telefone: (41)3331-7668	Fax: (41)3331-7668	E-mail: comitedetica@utp.br	

UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ



Continuação do Protocolo: 3.023.458

técnica, após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Solicita-se adequações, pois o que se objetiva é tornar o participante da pesquisa **ESCLARECIDO PARA QUE DE O CONSENTIMENTO** em participar na pesquisa. Como se demonstra na Resolução 466/12, a assinatura do termo é o último passo para formalizar o consentimento.

PENDENCIA ATENDIDA

1.2. Na mesma página e no mesmo item, lê-se "O local definido para realização da técnica da criopólise será o abdômen inferior e superior. A temperatura definida dos grupos, respectivamente será -5°C para o grupo A e -10°C para grupo B por 60 minutos. Solicita-se a revisão do trecho e que se inclua como serão conduzidos os participantes do grupo que não obtiverem o mesmo benefício ao final da pesquisa em relação ao outro grupo, pois cabe ao pesquisador oferecer e garantir benefício igualmente a todos. **PROCEDER A MESMA CORREÇÃO NO TCLE.**

PENDENCIA ATENDIDA

1.3. Na mesma página e no mesmo item, lê-se "As amostras coletadas para a pesquisa serão biológicas e composição corporal, obedecendo a suas etapas respectivamente. A amostra biológica será a coleta de dois tubos de sangue do participante a cada etapa, um tubo específico para bioquímica e outro para hematologia." De acordo com a RESOLUÇÃO CNS N° 441/2011, Art. 1.1.1 - Biobanco: coleção organizada de material biológico humano e informações associadas, coletado e armazenado para fins de pesquisa, conforme regulamento ou normas técnicas, éticas e operacionais pré-definidas, sob responsabilidade e gerenciamento institucional, sem fins comerciais;

E de acordo com a Resolução 466/12 o projeto deve trazer, de forma clara e completa, as informações relacionadas à coleta, ao armazenamento, à utilização e ao destino final do material biológico. Bem como deve informar que o consentimento para a guarda e utilização do material biológico pode ser retirado a qualquer momento pelo participante da pesquisa. **PROCEDER A MESMA CORREÇÃO NO TCLE.**

PENDENCIA ATENDIDA

Endereço: Rua Sidnei A. Rangel Santos, 345 - Bloco Propex, sala 04 - Tênis
Bairro: SANTO INACIO **CEP:** 82.010-330
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3331-7668 **Fax:** (41)3331-7668 **E-mail:** comitedeetica@utp.br

UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ



Continuação do Parecer: 3.033.458

1.4. Na página 9, Item 3.5 RISCOS lê-se "Toda coleta de dados envolvendo seres humanos acarreta em algum tipo de risco, seja ele físico, psíquico, moral, intelectual, social e/ ou caráter religioso." Solicita-se trocar a palavra "COLETA" pela palavra "PESQUISA" para seguir a Resolução 466/12.

PENDENCIA ATENDIDA

1.5. Ainda no item RISCOS lê-se "Se isso acontecer de fato, o participante será encaminhado para um tratamento médico de forma gratuita, pela neurologista Dra Adriana Cristina da Silva –CRM:39733. E caso ocorra danos físicos o participante será encaminhado para a empresa parceira – Clínica Dr. Estética, situada na Avenida Sete de Setembro, 4698, Batel – Curitiba. Todo o acompanhamento será realizado com profissionais especializados para os cuidados, biomédicos e esteticistas." Solicita-se que seja incluída uma declaração da médica indicada acima, se responsabilizando pela assistência a ser prestada e que não terá ÔNUS ao participante. PROCEDER A MESMA CORREÇÃO NO TCLE.

PENDENCIA ATENDIDA

2 No documento "TERMO DE CONSENTIMENTO:

2.1. No item risco lê-se "Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo." No trecho destacado, não estão indicados os possíveis riscos relacionados à pesquisa. Solicita-se adequações, informando os riscos apresentados claramente da Técnica de criolipólise.

PENDENCIA ATENDIDA

2.2. Na página 1 de 2, lê-se "É assegurada a assistência medicamentosa se necessário durante toda a pesquisa mantida pelo estado, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação." Solicita-se adequações para que seja incluído o nome e telefone da médica que está mencionada no projeto, para que o participante da pesquisa se sinta livre para entrar em contato, em caso de desconforto.

Endereço: Rua Sidnei A. Rangel Santos, 245 - Bloco Proppa, sala 04 - Tênis
Bairro: SANTO INACIO CEP: 82.010-330
UF: PR Município: CURITIBA
Telefone: (41)3331-7668 Fax: (41)3331-7668 E-mail: comitedetica@uiop.br

UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ



Continuação do Protocolo: 3.023.458

PENDENCIA ATENDIDA

2.3. O TCLE deve trazer, de forma explícita, os meios de contato com o CEP (ao menos, endereço e telefone), assim como os horários de atendimento ao público. Também é necessário explicar em linguagem simples o que representa um CEP.

PENDENCIA ATENDIDA

2.4. O TCLE deve assegurar de forma clara e afirmativa que o participante de pesquisa receberá uma via (e não cópia) do documento, assinada pelo participante de pesquisa (ou seu representante legal) e pelo pesquisador, e rubricada em todas as páginas por ambos.

PENDENCIA ATENDIDA

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1357578.pdf	13/08/2019 15:00:10		Aceito
Outros	Declaracao_atendimento_medico.pdf	13/08/2019 14:59:14	BRUNO GONCALVES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_infraestrutura_laboratorio.pdf	13/08/2019 14:58:15	BRUNO GONCALVES FERREIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	13/08/2019 14:57:28	BRUNO GONCALVES FERREIRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Detalhado_revisado.doc	13/08/2019 14:55:55	BRUNO GONCALVES FERREIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_de_instituicao_e_infraestrutura.pdf	08/07/2019 16:08:23	BRUNO GONCALVES FERREIRA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	03/07/2019	BRUNO	Aceito

Endereço: Rua Sínei A. Rangel Santos, 245 - Bloco Proppa, sala 04 - Têneso

Bairro: SANTO INACIO

CEP: 82.010-330

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3331-7668

Fax: (41)3331-7668

E-mail: comitedeetica@utp.br

UNIVERSIDADE TUIUTI DO
PARANÁ



Continuação do Parecer: 3.523.458

Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	10:41:36	FERREIRA	Aceito
----------------	--------------------	----------	----------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 21 de Agosto de 2019

Assinado por:
Maria Cristina Antunes
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Sínei A. Rangel Santos, 245 - Bloco Propex, sala 04 - Térreo
Bairro: SANTO INACIO **CEP:** 82.010-330
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3331-7668 **Fax:** (41)3331-7668 **E-mail:** comitedeetica@utp.br