



UNICRUZ – UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA

UNIUIV – UNIVERSIDADE REGIONAL DO NOROESTE DO
ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
EM ATENÇÃO INTEGRAL À SAÚDE

Greissi Tatieli Franke Tremêa

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO *ROSMARINUS*
OFFICINALIS EM MULHERES SUBMETIDAS À
RADIOFREQUÊNCIA**

Projeto de Dissertação

Cruz Alta - Ijuí – RS, 2020

Greissi Tatieli FrankeTremêa

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO *ROSMARINUS OFFICINALIS*
EM MULHERES SUBMETIDAS À RADIOFREQUÊNCIA**

Projeto de dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde, da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ, RS), em associação ampla à Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI, RS), como requisito parcial para a aprovação no Exame de Qualificação.

Orientador (a): Prof. Dra. Christiane de Fátima Colet

Ijuí-Cruz Alta – RS, dezembro, 2020

UNICRUZ – UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA
UNIJUÍ – UNIVERSIDADE REGIONAL DO NOROESTE DO
ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
EM ATENÇÃO INTEGRAL À SAÚDE

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO *ROSMARINUS OFFICINALIS*
EM PACIENTES SUBMETIDOS À RADIOFREQUÊNCIA**

Elaborado por

Greissi Tatieli Franke Tremêa

Como requisito parcial para aprovação no exame de
qualificação do Projeto de Dissertação do Mestrado
em Atenção Integral à Saúde.

Banca Examinadora:

Prof. Dra. Christiane de Fátima Colet
UNIJUÍ

Prof. Dra. Eniva Miladi Fernandes Stumm
UNIJUÍ

Prof. Dra. Izabel Almeida Alves
UFBA

Ijuí-Cruz Alta, 15 de dezembro de 2020

RESUMO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO *ROSMARINUS OFFICINALIS* EM MULHERES SUBMETIDAS À RADIOFREQUÊNCIA

Autor: Greissi Tatieli Franke Tremêa
Orientador: Prof. Dra. Christiane de Fátima Colet

Introdução: A gordura abdominal é um fator de riscos à saúde associada com: aumento da pressão arterial, e do diabetes, além de elevar o risco de doenças cardiovasculares (DCV). Para a minimização desta gordura, diversos tratamentos com finalidades estéticas têm sido propostos, dentre eles, o equipamento de Radiofrequência, que promove a formação de um campo eletromagnético de alta frequência, que atua aquecendo seletivamente o tecido adiposo, elevando o metabolismo local e promovendo lipólise das células adiposas. Considerando o mecanismo de ação previsto pelo uso da radiofrequência, prevê-se o desenvolvimento de efeito inflamatório no organismo, e este pode estar relacionado com a ocorrência de estresse oxidativo, que por sua vez é associado com a aumento de prevalência de comorbidades, a longo prazo. A planta *Rosmarinus officinalis* (Rosemary), conhecida popularmente como Alecrim apresenta diversas funções farmacológicas, atribuídas pelo uso popular, como: hipoglicêmico, antiaterogênico, anti-hipertensivo, hipocolesterolêmico, antioxidante, antiinflamatório, hepatoprotetor, antidepressivo, antiproliferativo e antibacteriano. Considerando os efeitos descritos para esta planta, em especial sua ação antioxidante, prevê-se que a mesma possa exercer um efeito potencial para controlar e minimizar os danos inflamatórios, ocasionados pelo uso da radiofrequência, sendo este o diferencial deste estudo. **Objetivos:** Verificar o potencial efeito antioxidante do *Rosmarinus officinalis* na diminuição do dano inflamatório ocasionado por uso de radiofrequência em tratamento estético. **Métodos:** trata-se de um estudo de pesquisa experimental, longitudinal, analítico, prospectivo, do tipo ensaio clínico randomizado duplo cego, que incluirá trinta e duas mulheres com gordura localizada abdominal. No grupo controle (n=8): serão realizadas as sessões estéticas para redução da gordura localizada abdominal e inseridas na dieta cápsulas de placebo. O grupo intervenção (n=24): receberá o tratamento para redução da gordura localizada com radiofrequência e será subdividido em: Grupo A, B e C, todos com 8 integrantes e estes receberão 100mg/dia, 500mg/dia e 1000mg/dia de *Rosmarinus officinalis*, respectivamente. O estudo será realizado de dezembro de 2020 a julho de 2021, tendo início após a aprovação no CEP.

Palavras-chave: *Rosmarinus officinalis*, Terapia por Radiofrequência, Estresse Oxidativo, Antioxidantes, Gordura Abdominal

ABSTRACT

EVALUATION OF THE *ROSMARINUS OFFICINALIS* ANTIOXIDANT POTENTIAL IN WOMEN SUBJECT TO RADIOFREQUENCY

Author: Greissi Tatieli Franke Tremêa
Advisor: Prof. Dr. Christiane de Fátima Colet

Introduction: Abdominal fat is a health risk factor associated with: increased blood pressure, and diabetes, in addition to increasing the risk of cardiovascular diseases (CVD). To minimize this fat, several treatments with aesthetic purposes have been proposed, among them, the radiofrequency equipment, which promotes the formation of a high frequency electromagnetic field, which acts by selectively heating the adipose tissue, increasing the local metabolism and promoting lipolysis adipose cells. Considering the mechanism of action predicted by the use of radiofrequency, the development of an inflammatory effect in the body is expected, and this may be related to the occurrence of oxidative stress, which is associated TROCAwith an increase in the prevalence of comorbidities in the long term. The plant *Rosmarinus officinalis* (Rosemary), popularly known as Rosemary has several pharmacological functions, attributed by popular use, such as: hypoglycemic, anti-atherogenic, anti-hypertensive, hypocholesterolemic, antioxidant, anti-inflammatory, hepatoprotective, antidepressant, antiproliferative and antibacterial. Considering the effects described for this plant, especially its antioxidant action, it is expected that it may have a potential effect to control and minimize inflammatory damage, caused by the use of radiofrequency, which is the differential of this study. **Goals:** To verify the potential antioxidant effect of *Rosmarinus officinalis* in decreasing the inflammatory damage caused by the use of radiofrequency in aesthetic treatment. **Methods:** this is an experimental, longitudinal, analytical, prospective study, of the randomized double blind clinical trial type, which will include thirty-two women with localized abdominal fat. In the control group (n = 8): aesthetic sessions will be carried out to reduce localized abdominal fat and placebo capsules will be inserted in the diet. The intervention group (n = 24): it will receive a treatment to reduce localized fat with radio frequency and will be subdivided into: Group A, B and C, all with 8 members and they will receive 100mg / day, 500mg / day and 1000mg / day of *Rosmarinus officinalis*, respectively. This study will be carried out from December 2020 to July 2021, starting after approval by the CEP.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*, Radiofrequency Therapy, Oxidative Stress, Antioxidants, Abdominal Fat.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1. Estudos com Radiofrequência estética avaliando tamanho de amostra, equipamento utilizado, número de sessões e resultados encontrados	17
Quadro 2. Principais Biomarcadores do Estresse Oxidativo.....	21
Quadro 3. Estudos <i>in vivo</i> de <i>Rosmarinus officinalis</i> , avaliando os resultados e dados relativos à metodologia do estudo.....	28
Quadro 4. Estudos <i>in vitro</i> de <i>Rosmarinus officinalis</i> , avaliando os resultados e dados relativos à metodologia do estudo.....	34
Figura 1. Fluxograma de alocação dos pacientes na pesquisa e intervenções realizadas.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

8-OHdG - 8-hidroxi-desoxiguanosina
AGE - Produto Final de Glicação Avançada
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAT - Catalase
CONSORT - Consolidated Standards of Reporting Trials
COX-2 - Gene Pró-inflamatório Ciclooxigenase-2
D1 - Dia 1
D30 - Dia 30
DCV - Doenças Cardiovasculares
DNA - Ácido Desoxirribonucleico
DP - Desvio Padrão
ERNs - Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs - Espécies Reativas de Oxigênio
Gama-GT - Gamaglutamiltranspeptidase
GC - Grupo Controle
GI - Grupo Intervenção
GPx - Glutathione Peroxidase
GR - Glutathione Redutase
GSH - Glutathione
GSH-Px - Glutathione Peroxidase
GSH-Rd – Glutathione Redutase
GSSG - Glutathione Oxidada
GST - Glutathione-S-transferase
GTE - Extrato de *Camellia sinensis*
HDL - Lipoproteína de Alta Densidade
HNE - Hidroxinonenal

hsCRP - Biomarcador de Inflamação Sistêmica
IL-1 β - Biomarcador de Inflamação
IMC - Índice de Massa Corporal
LDL - Lipoproteína de Baixa Densidade
MB (CK-MB) – Fração de Creatinoquinase
MDA - Malondialdeído
MG - Miligramas
NO - Óxido Nítrico
ODS - Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
OMS - Organização Mundial da Saúde
ONU – Organização das Nações Unidas
PCR - Proteína C Reativa de Alta Sensibilidade
pH - Potencial Hidrogeniônico,
PNPIC - Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PUFAs - Ácidos Graxos Poliinsaturados
RNA - Ácido Ribonucleico
RO - *Rosmarinus officinalis*
SOD - Superóxido Dismutase
SPSS - Statistical Package for the Social Sciences
STE - Extrato de *Hibiscus sabdariffa*
SUS - Sistema Único de Saúde
TAC - Capacidade Antioxidante Total
TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TC - Concentração Total de Colesterol
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG - Triglicerídeos
TGO/AST - Transaminase Glutâmico-oxalacética
TGP/ALT - Transaminase Glutâmico Pirúvica
TR - Tiorredoxina Redutase.
UNILAB – Laboratório de Análises Clínicas da UNIJUI
UVA – Ultravioleta B
UVB – Ultravioleta A

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo Geral	14
2.2	Objetivos Específicos	14
3.	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1.	Gordura Localizada Abdominal e Radiofrequência	15
3.2.	Estresse Oxidativo	19
3.2.1.	Biomarcadores do Estresse Oxidativo	21
3.3.	Antioxidantes	25
3.4.	<i>Rosmarinus officinalis</i>	26
3.5.	Importância da Fitoterapia	35
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1.	Métodos	39
4.1.1.	Desenho do estudo	39
4.2.	Participantes	40
4.2.1.	Critérios de Inclusão	40
4.2.2.	Critérios de Exclusão	40
4.3.	Coletas de Dados e Intervenções	40
4.4.	Intervenções	41
4.5.	Desfechos	42
4.5.1.	Primários	42
4.5.2.	Secundários	42
4.6.	Coleta de Dados	43
4.6.1.	Mensurações	43
4.6.2.	Análise Bioquímica	45

4.7.	Tamanho da Amostra	46
4.7.1.	Randomização	46
4.7.1.1.	Sequência geração	46
4.7.1.2.	Implementação	46
4.7.1.3.	Cegamento	47
4.8.	Métodos Estatísticos	47
4.8.1.	Análise estatística	47
5.	ASPECTOS ÉTICOS	48
5.1.	Riscos	48
5.2.	Benefícios	49
6.	CRONOGRAMA	50
7.	ORÇAMENTO	51
	APÊNDICE A: ANAMNESE - QUESTIONÁRIO	61
	APÊNDICE B: INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS	62
	ANEXO A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	67

1. INTRODUÇÃO

Os tratamentos estéticos para a redução de adiposidades localizadas estão em evidência em função de suas características não invasivas e pelos efeitos colaterais diminuídos, quando comparados a procedimentos cirúrgicos (CHOI et al., 2018). Para minimizar a gordura localizada abdominal, diversos tratamentos estéticos estão no mercado (FRIEDMANN, 2015). O tratamento deste problema, além da questão estética, tem impacto na saúde, uma vez que a adiposidade representa um fator de risco para doenças cardiovasculares, conforme o Ministério da Saúde (BRASIL, 2017).

Entre os recursos não invasivos utilizados na estética para o tratamento de adiposidades e disfunções do colágeno, destaca-se a radiofrequência. Conforme Vale et al. (2020) este tratamento faz uso de um equipamento com energia promotora de campo eletromagnético de alta frequência, que atua aquecendo seletivamente o tecido adiposo, elevando o metabolismo local e consequentemente promovendo lipólise das células adiposas. O efeito térmico exercido pela radiofrequência é explicado por estudo que descreve que células adiposas ficam expostas a temperaturas em torno de 44°C, na qual ocorrem lesões apoptóticas, que são eliminadas por mecanismos fagocitários (PRINS et al., 1994). Estudos encontrados demonstram que a aplicação da radiofrequência tem eficácia no tratamento de adiposidades localizadas, alguns explicitados no texto abaixo.

Vale et al. 2020 associou a aplicação da radiofrequência, em gordura abdominal, com exercício aeróbico, constatando diminuição na circunferência da cintura. Otto (2016) apresentou resultados significativos na redução de gordura abdominal com uma sessão de radiofrequência. Tanaka (2015) realizou estudo da aplicação da radiofrequência monopolar em diferentes regiões do corpo, obtendo redução significativa na gordura localizada. Ademais, estudos com associação entre diferentes aparelhos estéticos, incluindo a

radiofrequência, também demonstram resultados positivos na redução da gordura localizada, cujos protocolos foram aplicados em diferentes partes do corpo (BRIGHTMAN et al., 2009; WINTER, 2009; ADATTO; ADATTO-NEILSON; MORREN, 2014; CHANG et al, 2016; HANDS-FRE, 2016; SHEK et al 2016; ARABPOUR-DAHOUE et al., 2019).

Para tanto, De Carvalho et al. (2011) relata que o aumento da temperatura gerou sinais de inflamação em modelos animais, como um mecanismo de resposta ao equipamento de radiofrequência, demonstrando que tal procedimento estimula processos inflamatórios no organismo (INÁCIO; BERNARDI; ROMANO, 2017; GÜLDEN et al., 2009; HANTASH et al., 2009; DE CARVALHO et al., 2011), o que pode ser um fator desencadeante de estresse oxidativo (REUTER et al., 2010).

No estresse oxidativo, a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) superam a produção de antioxidantes, e as células inflamatórias produzem substâncias mediadoras atuantes no recrutamento de outras células inflamatórias para o local danificado e consequentemente, ocorre a produção de espécies ainda mais reativas. Todo o processo entre inflamação e estresse oxidativo gera um ciclo vicioso, podendo levar a danos em células epiteliais (REUTER et al., 2010). Nesse sentido, o estresse oxidativo, influenciado por processos inflamatórios, está relacionado com a inflamações crônicas, e com doenças crônicas degenerativas como: Esclerose Lateral Amiotrófica, Alzheimer, Parkinson, Esclerose Múltipla, e pode acelerar os sinais do envelhecimento celular (ASL; GOUDARZI; SHOGHI, 2020).

Para minimização de danos inflamatórios ocasionados por fatores endógenos e exógenos, como a radiofrequência, a suplementação com antioxidantes exógenos pode ser uma alternativa. Estes quando provenientes de produtos naturais têm sido amplamente utilizados para diminuir os danos nos tecidos, induzidos por radicais livres. Em específico, os polifenóis são antioxidantes estudados para a proteção contra o estresse oxidativo relacionado ao excesso de Espécies Reativas de Oxigênio (ASL; GOUDARZI; SHOGHI, 2020).

Conforme Colica et al. (2018), *Rosmarinus officinalis* (Rosemary), conhecida popularmente como Alecrim, possui potencial antioxidante, e será o objeto de estudo. Esta planta apresenta diversas funções farmacológicas atribuídas pelo uso popular, entre as quais: hipoglicêmico, antiaterogênico, anti-hipertensivo, hipocolesterolêmico, antioxidante, antiinflamatório, hepatoprotetor, antidepressivo, antiproliferativo e antibacteriano. Além destes usos cita-se: tratamento para a síndrome de abstinência à morfina, feridas diabéticas e distúrbios cognitivos (FARKHONDEH, SAMARGHANDIAN, POURBAGHER-SHAHRI,

2019). Entre os constituintes antioxidantes mais eficazes do *Rosmarinus officinalis*, foram identificados os difenóis diterpenos cíclicos, o ácido carnosólico e o carnosol (NIETO, ROS, CASTILLO, 2018). O *Rosmarinus officinalis* apresenta na sua composição de polifenóis, entre os quais destacam-se: ácido carnósico, carnosol e ácido rosmarínico. A estes atribuem-se efeitos farmacológicos: antioxidantes, anti-inflamatório, antivirais e antibacterianos (FARKHONDEH, SAMARGHANDIAN, POURBAGHER-SHAHRI, 2019). Segundo Olivares-Vicente et al. (2018) a atividade dos polifenóis está associada principalmente com a eliminação de espécies reativas do oxigênio.

Nesse sentido, a pesquisa pretende analisar os efeitos do *Rosmarinus officinalis*, e verificar se sua suplementação pode minimizar os efeitos inflamatórios locais resultantes dos procedimentos estéticos, e se, apresenta influência nos resultados estéticos para redução de adiposidades localizadas.

Reforçando o apresentado, De Carvalho et al. (2011) relacionou o mecanismo de ação previsto pelo uso de radiofrequência, com o desenvolvimento de efeito inflamatório no organismo, e este com a ocorrência de estresse oxidativo (REUTER et al, 2010), que por sua vez é associado com a aumento de prevalência de comorbidades, a longo prazo (ASL; GOUDARZI; SHOGHI, 2020). Não foram encontrados estudos avaliando o estresse celular desencadeado por procedimentos estéticos, bem como sobre uso desta planta para combater tal estresse celular. Estima-se que o uso de plantas medicinais com função antioxidante, como o *Rosmarinus officinalis*, possam minimizar os efeitos inflamatórios, sem reduzir os resultados estéticos, e considerando a falta de estudos sobre o tema, e sobre o efeito protetor da referida planta, destaca-se a importância desta pesquisa. O presente trabalho é um projeto de inovação tecnológica e que está alinhado a política de plantas medicinais e fitoterápicos brasileiras.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo é verificar o potencial efeito antioxidante do *Rosmarinus officinalis* na diminuição do dano inflamatório ocasionado por uso de radiofrequência em tratamento estético.

2.2 Objetivos Específicos

Verificar os efeitos da utilização do *Rosmarinus officinalis* sobre perfil lipídico e glicídico de voluntários que fizeram uso deste fitoterápico.

Verificar os efeitos da utilização do *Rosmarinus officinalis* sobre o estresse oxidativo/celular de voluntários que fizeram uso deste fitoterápico.

Avaliar se a suplementação de *Rosmarinus officinalis* durante tratamento estético para redução de gordura abdominal interfere nos resultados de redução de adiposidades.

Empregar Ensaio Cometa Alcalino e Ensaio de Micronúcleo, para verificar os danos decorrentes do estresse oxidativo sobre a fita de DNA.

Verificar os danos decorrentes do estresse oxidativo sobre a fita de DNA ocasionado por uso de radiofrequência em tratamento estético.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Gordura Localizada Abdominal e Radiofrequência

Procedimentos estéticos para melhora do contorno corporal têm apresentado procura global crescente. A busca por satisfação na aparência física, bem como melhoria na qualidade de vida, são fatores que aumentam a busca por: acompanhamento nutricional adequado, realização de exercícios físicos e, complementarmente, de procedimentos estéticos para redução de adiposidades. Mesmo diante das técnicas de cirurgias plásticas modernas, que já apresentam redução de riscos e complicações, os pacientes buscam cada vez mais métodos não invasivos para seus tratamentos, procedimentos estes com taxas menores de morbidade e tempo de recuperação diminuído (OTTO, 2016).

Um dos principais focos dos procedimentos estéticos é o tratamento de gordura abdominal, que, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), pode estar relacionado com diversos riscos à saúde como: aumento da pressão arterial, diabetes, dentre outros fatores que podem elevar o risco de doenças cardiovasculares (DCV). Nesse sentido, a circunferência da cintura é uma medida considerada para avaliar a gordura visceral do indivíduo, sendo que, valor igual ou superior a 94 cm em homens e 80 cm em mulheres indica risco elevado das de DCV (BRASIL, 2017).

Entre os procedimentos não invasivos para tratar gordura abdominal destaca-se a radiofrequência, um tratamento alternativo na redução da gordura abdominal, com ação sobre adiposidades e disfunções do colágeno. Conforme Mulholland, Paul, Chalfoun (2011), seu uso faz-se por meio de um equipamento de energia promotora de campo eletromagnético de

alta frequência, que atua aquecendo seletivamente o tecido adiposo, elevando o metabolismo local e consequentemente promovendo lipólise das células adiposas. Kwon et al (2017) afirma que adipócitos aquecidos em temperaturas de 42°C a 45°C, apresentam desnaturação da membrana e liberação de lipídios, promovendo a apoptose das células. A radiofrequência concentra a energia principalmente no tecido adiposo subcutâneo, sendo essa seletividade alcançada através da impedância específica deste tecido, no qual os circundantes, como derme, epiderme e músculos apresentam menor impedância, garantindo que não sejam afetados (HENGARTNER, 2000). Esse efeito térmico sobre os adipócitos é bastante conhecido e foi relatado por Prins et al. (1994), que demonstrou que adipócitos *in vitro*, sofrem lesão por apoptose, quando expostos a calor de 44°C, sendo então eliminadas por mecanismos fagocitários.

Na radiofrequência, com o aquecimento do tecido adiposo, acima exposto, eleva-se o metabolismo local das células. Através de um fenômeno bioquímico reversível, promovido pelo aumento da temperatura, ocorre nos adipócitos a liberação e degradação de triglicerídeos, culminando com a geração de glicerol e ácidos graxos não esterificados, que podem ser utilizados para produção de energia. Essa liberação do conteúdo lipídico leva à hipotrofia dos adipócitos, ou seja, à diminuição de seu volume e consequentemente, redução de gordura localizada (MULHOLLAND; PAUL; CHALFOUN, 2011).

Em estudo que associou a aplicação da radiofrequência, em gordura abdominal, com exercício aeróbico, verificou-se uma diminuição na circunferência da cintura, bem como diminuição do tecido adiposo subcutâneo. Os resultados foram verificados após 4 sessões de radiofrequência, com temperaturas atingindo na epiderme entre 40°C e 42°C, com intervalos entre 24 e 72 horas entre as sessões, combinando-as com exercício aeróbico moderado. Os autores apontam resultados significativos, e esta associação demonstrou benefícios na promoção de saúde, uma vez que a gordura abdominal representa riscos para doenças cardiovasculares (VALE et al. 2020).

Otto (2016) apresentou resultados significativos na redução de gordura abdominal com uma sessão de radiofrequência, com redução estatística e clinicamente significativa na circunferência abdominal. Outro efeito atribuído a radiofrequência foi promover a desnaturação do colágeno, com imediata contração das fibras e ativação de fibroblastos, como resposta ao agente térmico agressor. Esse processo culmina com a neocolagênese, provocando um remodelamento tecidual (AGNE, 2009). Ainda, o estudo de Alexiades-Armenakas, Dover e Arndt (2008), demonstrou melhora na aparência da celulite das pernas, através da aplicação

de Radiofrequência unipolar com temperaturas de 40°C a 43°C. No estudo, foram incluídos 10 pacientes e realizadas de 3 a 6 sessões, com intervalos de 15 dias entre as sessões. Em 2015, Tanaka realizou estudo da aplicação da radiofrequência monopolar em diferentes regiões do corpo, com 20 voluntários que realizaram 2 sessões, com intervalos de 6 semanas entre elas e temperaturas de 44°C a 46°C e constatou-se redução volumétrica significativa na gordura localizada dos indivíduos.

Em função das alterações térmicas promovidas pela radiofrequência, já apresentadas, ocorre um estresse inflamatório que promove a liberação de substâncias pró inflamatórias, estando associada com a promoção da indução de citocinas pró-inflamatórias e interleucina-1 β (IL-1 β), segundo Hantash et al. (2009).

De Carvalho et al. (2011) em estudo com modelos animais, verificou que nas primeiras 24 horas após a aplicação da radiofrequência, ocorre migração de neutrófilos ao local da aplicação e espessamento da epiderme em decorrência da atividade mitótica das células basais. Em 24 ou 48 horas após a aplicação, ocorre migração de células epiteliais ao longo das margens da derme. Nesse sentido, conclui-se que o aquecimento adicional danifica as proteínas, iniciando uma reação inflamatória em consequência da liberação de substâncias que promovem a vasodilatação, como a histamina e bradicina.

Verifica-se assim, que a aplicação da radiofrequência pode estar associada a processos inflamatórios no organismo (GÜLDEN et al., 2009; HANTASH et al., 2009; DE CARVALHO et al., 2011), sendo geradas assim, espécies reativas de oxigênio, o que pode estar culminando com um ambiente de estresse oxidativo (REUTER et al, 2010; BARREIROS; DAVID, J M; DAVID, J P, 2006).

Parte dos estudos encontrados realizaram associações de radiofrequência com outros equipamentos estéticos, que estão apresentados no Quadro 1:

Quadro 1. Estudos com Radiofrequência estética avaliando tamanho de amostra, equipamento utilizado, número de sessões e resultados encontrados.

Autor Ano	Amostra	Equipamentos Temperatura	Número de Sessões Intervalo entre as sessões Região	Resultados
BRIGHTMAN et al. 2009	29	Combinação de Infravermelho,	4 a 5 sessões a cada 15 dias	Houve redução cumulativa na circunferência

		Vácuo Sucção e Radiofrequência 40°C a 42°C	Abdômen e Braços	com o passar das sessões
WINTER, 2009	20	Combinação de Infravermelho, Vácuo Sucção e Radiofrequência 42°C	5 sessões semanais Coxas e abdômen	Demonstrou redução de circunferência e frouxidão da pele.
ADATTO; ADATTO-NEILSON; MORREN 2014	35	Combinação de Infravermelho, Vácuo Sucção e Radiofrequência 37°C a 44°C	6 sessões semanais Abdômen flancos, nádegas ou coxas/	Redução de circunferência, redução na camada de gordura analisada por ultrassonografia
CHANG et al. 2016	25	Ultrassom Focalizado e Radiofrequência	3 sessões com intervalos de 15 dias Abdômen	A técnica apresentou resultados de diminuição de adiposidades que se manteve por pelo menos um ano.
HANDS-FRE 2016	34	Radiofrequência multipolar sem contato	4 sessões semanais Abdômen	Redução na espessura da gordura
SHEK et al 2016	20	Radiofrequência e Ultrassom Focalizado	3 sessões a cada 15 dias Abdômen	Melhora na circunferência abdominal após segundo tratamento.
ARABPOUR-D AHOUE et al. 2019	50 mulheres obesas	Radiofrequência e Ultrassom	10 sessões 2 vezes na semana, por 5 semanas	Os níveis de leptina e concentração de LDL reduziram após a terapia.

Os estudos incluem associações entre técnicas para a redução da gordura localizada, sendo na maior parte das vezes com: ultrassom, radiofrequência, infravermelho e vácuo sucção. As amostras foram de 10 a 50 voluntários e o tempo de tratamento variou de 4 a 6 semanas, sendo que o intervalo entre as sessões foi bastante variável em cada estudo.

3.2. Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo é caracterizado como um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e sua eliminação por mecanismos de proteção, como os antioxidantes, podendo ocasionar uma inflamação crônica no organismo (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Células inflamatórias produzem substâncias mediadoras atuantes no recrutamento de outras células, com esta mesma função, para o local danificado e consequentemente, aumenta a produção de espécies ainda mais reativas. Todo o processo entre inflamação e estresse oxidativo gera um ciclo vicioso, que pode danificar células (REUTER et al., 2010).

As espécies reativas de Oxigênio (ERO), em condições fisiológicas, são necessárias para manter o estado redox celular, desempenhando papel de sinalização celular, diferenciação, proliferação, crescimento, apoptose, regulação citoesquelética e fagocitose. No entanto, quando estes níveis forem aumentados, para além das condições fisiológicas, podem existir danos celulares importantes (FILIPPIN et al., 2008). Os radicais livres de oxigênio são agentes indutores da lipoperoxidação, que determinam a depleção de ácidos graxos insaturados da membrana celular, induzindo a perda da sua integridade e a alteração funcional de seus receptores e enzimas (BOWLES et al., 1991).

Espécies reativas de oxigênio são produzidas nas células por diversos estímulos fisiológicos e ambientais e compreendem todas as espécies químicas formadas por redução incompleta de oxigênio, gerando os oxidantes. Estas apresentam vida curta e extremamente reativas, que reagem consigo e com outras moléculas, buscando estabilidade. As espécies reativas de oxigênio, podem ter origem endógena e exógena, sendo as principais fontes endógenas: peroxissomos, NADPH oxidase, xantina oxidase, mitocôndria e citocromo P-450; e as fontes de origem exógenas: radiação- γ , cigarro e solventes orgânicos (FILIPPIN et al., 2008). Os radicais livres são importantes para manutenção de determinadas funções do organismo, como em situações de necessidade de ativação do sistema imunológico (MONCADA; HIGGS, 2001).

As injúrias provocadas por estresse oxidativo apresentam efeitos cumulativos e estão relacionadas a doenças, como a aterosclerose e o diabetes (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). Outras doenças relacionadas foram: esclerose lateral amiotrófica e doença de Alzheimer, além de distúrbios: esclerose múltipla, doença de Parkinson e o envelhecimento (ASL; GOUDARZI; SHOGHI, 2020). Ainda, inflamação crônica tem sido associada a várias etapas

da carcinogênese, incluindo transformação celular, promoção, sobrevivência, proliferação, invasão, angiogênese e metástase, conforme Reuter et al. (2010).

Tais doenças, acima descritas, estão relacionadas com uma superprodução dessas espécies reativas, que enfraquece o sistema de defesa antioxidante, o que pode resultar em comprometimento dos processos fisiológicos e danificar as membranas celulares, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. Os lipídios são um dos principais alvos da ERO, devido à presença de múltiplas ligações nos ácidos graxos poliinsaturados, estes são extremamente suscetíveis à ação dos radicais livres. Os hidroperóxidos têm efeitos prejudiciais sobre as células ao reagir com metais de transição, como cobre e ferro, e esta associação resulta em aldeídos altamente reativos, como o malondialdeído (MDA), com potencial para danificar a membrana celular (ARUOMA, 1998).

A excessiva formação endógena de radicais livres pode ser causada por: (1) ativação aumentada de fagócitos; (2) interrupção dos processos normais de transferência de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial; (3) aumento da concentração de íons metálicos de transição por escape do grupamento heme de proteínas em locais de lesão ou doenças metabólicas; e (4) níveis diminuídos das defesas antioxidantes (FILIPPIN et al., 2008). Sendo o *Rosmarinus officinalis* uma planta com potencial antioxidante, esta pode apresentar-se benéfica ao aumentar os níveis de defesa antioxidantes do organismo, diminuindo a formação de radicais livres.

Os danos mais graves ocasionados à saúde humana relacionados ao estresse celular são aqueles causados ao DNA e RNA, uma vez que, se a cadeia do DNA for quebrada, pode ser reconectada em outra posição alterando, assim, a ordem de suas bases. Tal erro gera processos de mutações e acúmulo de bases danificadas. Uma enzima que tenha seus aminoácidos alterados pode perder sua atividade ou, ainda, assumir atividade diferente. Ocorrendo na membrana celular, a oxidação de lipídios interfere no transporte ativo e passivo, através da membrana, ou ocasiona a ruptura dessa, levando à morte celular. A oxidação de lipídios no sangue agride as paredes das artérias e veias, facilitando seu acúmulo, com consequente risco de aterosclerose, podendo causar trombose, infarto ou acidente vascular cerebral (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Considerando o exposto, conclui-se que o estresse oxidativo é um causador de danos à saúde humana.

3.2.1. Biomarcadores do Estresse Oxidativo

Os biomarcadores são informativos úteis na prevenção e diagnóstico de muitas doenças em humanos. Em específico, os biomarcadores de estresse oxidativo podem fornecer uma associação entre o dano oxidativo às macromoléculas (DNA, lipídeos e proteínas) e várias doenças. Um marcador consolidado quando se refere a danos no DNA, é o produto final da oxidação da guanina por radicais hidroxil, o 8-hidroxi-desoxiguanosina (8-OHdG), sendo este um marcador de estresse oxidativo, cuja presença no organismo indica oxidação das bases do DNA (FILIPPIN et al., 2008).

Os principais biomarcadores para avaliação do estresse oxidativo incluem: proteínas carbonílicas e produtos finais de glicação avançada (AGE); 3-nitrotirosina; lipoproteína de baixa densidade oxidada; produtos de oxidação lipídica, como 4-hidroxi-nonenal e malondialdeído (MDA); F2-isoprostanos; produtos de oxidação do DNA / RNA, tais como: 8-oxoguanina; glutathione, proteínas tióis e sulfóxido de metionina; e outros (SIES; BERNDT; JONES, 2017).

Outro biomarcador de estresse oxidativo é o comprimento dos telômeros, cujo tamanho diminuído indica dano. O ensaio do cometa é um teste que visa mensurar quebras de células, sendo utilizado para detecção de dano de DNA causado por estresse oxidativo. Outra forma de avaliação é o conteúdo carbonílico de proteínas, utilizado como marcador de dano oxidativo em proteínas, sob condições de estresse oxidativo. A oxidação de proteínas tem grande importância, pois com este ocorre fragmentação das cadeias e oxidação de quase todos os tipos de aminoácidos, com produção frequente de compostos carbonílicos, particularmente a partir de prolina, arginina e lisina (FILIPPIN et al., 2008).

Os processos oxidantes levam a vários danos, como já descrito, por isso para analisar esse processo, há diversos marcadores úteis para sua identificação, entre enzimas, sistema não enzimático, análise de Espécies Reativas de Nitrogênio (ERNs), avaliação do dano de DNA, oxidação de proteínas, peroxidação de lipídeos. O Malondialdeído (MDA) é um dos principais indicadores de dano oxidativo lipídico nas membranas dos indivíduos. Ele é um componente de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e o produto final da peroxidação lipídica (NINIĆ et al., 2018). Demais dados estão descritos no Quadro 2:

Quadro 2. Principais Biomarcadores do Estresse Oxidativo.

Enzimas antioxidantes	Superóxido Dismutase (SOD)
	Catalase (CAT)
	Glutationa-peoxidase (GSH-Px)
	Glutationa-redutase (GSH-Rd)
Sistema antioxidante não enzimático	GSH: tampão redox sulfidrílico que mantém os resíduos cisteinila da hemoglobina e de outras proteínas do eritrócito, no estado reduzido
	Coenzima Q: papel central na cadeia respiratória mitocondrial
	Ácido úrico
	Vitamina E ou tocoferol: Intercepta o radical peroxila
	Vitamina C ou ascorbato
	b-caroteno: capacidade de capturar radicais e outras espécies
	Proteínas de transporte de metais de transição: catalisadores
Marcadores de peroxidação lipídica	malondialdeído (MDA)
	Hidroxinonenal (HNE): produto majoritário da oxidação de ácidos graxos poliinsaturados

	Isoprostano: produzidos pela oxidação do ácido araquidônico
Marcadores de oxidação de proteínas	Grupos carbonila em proteínas
Marcadores de espécies reativas de nitrogênio	Óxido nítrico (NO)
Outros marcadores de dano em macromoléculas	Teste do cometa em leucócitos

Fonte: Adaptado de (VASCONCELOS et al., 2007).

A literatura apresenta diversos estudos acerca da avaliação do efeito de diferentes extratos de plantas nos biomarcadores relacionados ao estresse oxidativo (JAVID et al 2018; SRIVASTAVA et al. 2016; HADI et al. 2017; USHARANI; MERUGU; NUTALAPATI 2019; PANAHI et al., 2016)

O estudo de JAVID et al. (2018) investigou os efeitos da administração oral de pó extrato seco de *Melissa officinalis* em biomarcadores de estresse oxidativo, inflamação e perfil lipídico em pacientes com Angina Estável Crônica. Com uma amostra de 80 voluntários, metade destes recebeu 3g por dia desta planta, por 8 semanas. A análise entre os grupos mostrou que a concentração média de MDA e Proteína C Reativa de alta sensibilidade (hs-CRP) foi significativamente menor no grupo intervenção, comparado com o grupo de controle, que recebeu cápsulas de placebo, após a intervenção. Ainda, as concentrações médias de Triglicerídeos (TG), concentração total de colesterol (TC), lipoproteína de baixa intensidade (LDL-c) foram significativamente menores no grupo de intervenção.

Srivastava et al. (2016) realizou estudo em pacientes com osteoartrite do joelho, com objetivo de avaliar a eficácia do extrato de *Curcuma longa*, incluindo 78 pacientes, cujo grupo tratamento utilizou este extrato associado com Diclofenaco, duas vezes por dia, controlado

por placebo e Diclofenaco, seguindo a mesma posologia por 4 meses. Houve maior redução nos níveis de biomarcadores de inflamação (IL-1 β), espécies reativas de oxigênio, e MDA no grupo intervenção, quando comparados com os valores basais.

Em estudo com o objetivo de avaliar os efeitos da *Camellia sinensis* (chá verde) e de *Hibiscus sabdariffa* L (chá azedo) sobre o estresse oxidativo e danos musculares em atletas de futebol, Hadi et al. (2017) incluiu 54 jogadores divididos aleatoriamente em três grupos para receber: 1) 450 mg/d de extrato de chá verde (GTE) (n = 18); 2) 450 mg/d de extrato de *Hibiscus sabdariffa* (STE) (n = 18); 3) 450 mg/ de maltodextrina no grupo controle (n = 18). Após seis semanas de intervenção, os atletas que receberam suplementos de GTE e STE, em comparação com o placebo, tiveram um nível de MDA significativamente reduzido. Além disso, a suplementação de STE resultou em um aumento significativo no nível de capacidade antioxidante total (TAC) em comparação com os grupos GTE e placebo. Não foram encontrados resultados significativos a redução de danos musculares.

Usharani; Merugu; Nutalapati (2019) realizaram estudo para avaliar o efeito do extrato aquoso padronizado de frutos de *Phyllanthus emblica* 250 e 500 mg sobre o estresse oxidativo, inflamação sistêmica e perfil lipídico em indivíduos com Síndrome Metabólica com disfunção endotelial. O estudo demonstrou que o extrato melhorou significativamente as variáveis em análise, em ambas as dosagens testadas, mas especialmente em 500 mg, com redução importante em biomarcadores de estresse oxidativo: óxido nítrico (NO), glutathiona (GSH) e malondialdeído (MDA) e biomarcador de inflamação sistêmica (hsCRP).

Panahi et al. (2016) realizou estudo com objetivo investigar a eficácia da suplementação com *Heracleum persicum* na modulação de biomarcadores sistêmicos de estresse oxidativo em indivíduos submetidos à angiografia coronária, com inclusão de 27 indivíduos, sendo estes alocados aleatoriamente no grupo intervenção (n=15): com ingestão diária de 300mg de extrato hidroalcoólico de *Heracleum persicum*; e grupo controle (n=12), em uso de placebo por um período de seis meses. O estudo demonstrou a eficácia do extrato como antioxidante em indivíduos com Doença Arterial Coronariana, e houve redução das concentrações de MDA sérico e elevação de glutathiona reduzida (GSH) e TAC, bem como atividades de Glutathiona peroxidase (GPx) e catalase (CAT), em comparação com o grupo controle.

Não foram encontrados estudos que avaliem o estresse oxidativo por procedimentos estéticos. Acerca de biomarcadores, um estudo teve como objetivo avaliar a combinação de radiofrequência e ultrassom sobre os índices antropométricos, equilíbrio antioxidante

pró-oxidante (PAB) e proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR). Os resultados demonstram que houve diminuição de peso e circunferência abdominal no grupo que recebeu a intervenção, contudo não houve alteração significativa de atividade no PAB e PCR (MOHAMMADZADEH et al., 2016).

3.3. Antioxidantes

O dano oxidativo ocorre se uma determinada condição induz um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, no qual os oxidantes são favorecidos, uma interrupção da sinalização redox é produzida e pode ocorrer um dano molecular (QUIÑONEZ-FLORES et al., 2016).

Considerando os danos relacionados com o estresse oxidativo, e seu potencial de causar morbidade, já descrito na seção anterior, estudos buscam substâncias capazes de minimizar tais danos, e para tal fim destacam-se os antioxidantes, que são moléculas endógenas ou exógenas, capazes de retardar os danos do estresse oxidativo, por meio da diminuição de radicais livres e eliminação de EROs. O uso de produtos antioxidantes justifica-se uma vez que o estresse oxidativo, induzido por ERO, em alguns casos, não consegue ser eliminado apenas por antioxidantes endógenos (ASL; GOUDARZI; SHOGHI, 2020).

Denomina-se como antioxidante qualquer substância ou composto capaz de eliminar os radicais livres ou inibir o processo de oxidação na célula, conforme Quiñonez-flores et al. (2016). O corpo possui defesa antioxidante para proteção celular contra danos oxidativos, e enzimas envolvidas na neutralização ou eliminação destas espécies reativas são: Superóxido dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GSH-Px) e Catalase (Cat), Glutathione reductase (GR), Glutathione-S-transferase (GST), Tioredoxina reductase (TR) e heme oxigenase. Existem fontes de antioxidantes não enzimáticos, como vitaminas (A, C, E), flavonóides, carotenóides, glutathione, bem como minerais antioxidantes, como zinco, cobre, manganês, ferritina, selênio (MATEEN et al. 2016).

A superóxido dismutase é considerada como uma primeira linha de defesa contra as EROs. Catalisa a conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular. A glutathione peroxidase e a catalase são importantes enzimas antioxidantes que

regulam o metabolismo do peróxido de hidrogênio que, quando em excesso, pode causar danos DNA, RNA e lipídios. A glutathione redutase catalisa a conversão de glutathione oxidada (GSSG) em glutathione reduzida (GSH), ajudando a manter o ambiente reduzido da célula, impedindo o estresse oxidativo. A glutathione-S-transferase é uma enzima desintoxicante que catalisa a conjugação de glutathione reduzida a substâncias xenobióticas. A glutathione (L- γ -glutamyl-L-cysteinylglycine) é um dos importantes antioxidantes presentes no corpo humano que protege os componentes celulares dos danos causados por radicais livres. É convertido em sua forma oxidada, pois reduz a ligação dissulfeto formada dentro de proteínas citoplasmáticas para cisteína. A forma oxidada de glutathione pode ser reduzida por glutathione redutase, que usa o NADPH como doador de elétrons (MATEEN et al., 2016).

3.4. *Rosmarinus officinalis*

As plantas medicinais sempre foram exploradas pelas populações desde a antiguidade, e desempenhavam um papel importante no tratamento de doenças. Atualmente, parte dos medicamentos existentes são desenvolvidos a partir de compostos isolados de plantas medicinais. Desta forma, os produtos naturais têm papel importante, não apenas pela utilização de seus compostos bioativos, como também como matéria prima para síntese de medicamentos. As plantas medicinais são uma fonte renovável de compostos, fornecendo estruturas químicas novas e complexas, desencadeando um efeito terapêutico desejável e com risco reduzido de complicações iatrogênicas, quando comparado com medicamentos convencionais. Validar e usar plantas como fitofarmacêutico requer desenvolvimento de pesquisas básicas e aplicadas, a fim de definir eficácia e segurança desse recurso no mesmo nível de exigência dos produtos farmacêuticos convencionais, avaliando sua eficácia e segurança (ANDRADE et al., 2018).

Uma planta que vem sendo bastante estudada nos últimos anos é a *Rosmarinus officinalis* (Rosemary), conhecida popularmente como *Rosmarinus officinalis*. Representa um membro da família Lamiaceae e seu nome deriva da palavra latina Rosmarinus: "orvalho" (ros) e "mar" (marinus), ou "orvalho do mar" (COLICA et al., 2018). Diversas funções farmacológicas são atribuídas como uso popular para esta planta, como: hipoglicêmico, antiaterogênico, anti-hipertensivo, hipocolesterolêmico, antioxidante, anti-hipertensivo,

antiinflamatório, hepatoprotetor, antidepressivo, antiproliferativo e antibacteriano. Além destes usos cita-se: tratamento para a síndrome de abstinência de morfina, feridas diabéticas e distúrbios cognitivos (FARKHONDEH, SAMARGHANDIAN, POURBAGHER-SHAHRI, 2019). Os óleos essenciais e extratos de *Rosmarinus officinalis* obtidos de flores e folhas são usados para tratar lesões de pele leves, erupções cutâneas, dor de cabeça, dispepsia, problemas circulatórios, também como expectorante, diurético e antiespasmódico nas cólicas renais, parte destas indicações são baseados no uso popular (ANDRADE et al., 2018).

Rosmarinus officinalis (Rosemary) é uma planta aromática com aproximadamente um metro de altura, de orientação vertical. Suas flores são azuis e folhas verde-escuras. É mais frequentemente encontrada nas regiões do Mediterrâneo (FARKHONDEH, SAMARGHANDIAN, POURBAGHER-SHAHRI, 2019). Diferentes regiões geográficas são capazes de afetar a composição química das plantas e, portanto, suas atividades biológicas, uma vez que esta planta é sensível a variações climáticas (BOURHIA et al., 2019).

O extrato de *Rosmarinus officinalis*, especialmente suas folhas, tem sido um dos produtos fitoterápicos mais populares consumidos como agente aromatizante e antioxidante nas indústrias de conservação de alimentos e cosméticos (FARKHONDEH, SAMARGHANDIAN, POURBAGHER-SHAHRI, 2019). E tais extratos podem ser obtidos a partir de raízes, caules, folhas, flores, frutas, sementes e casca (DE OLIVEIRA; CAMARGO; DE OLIVEIRA, 2019).

Em relação à composição química destaca-se como de maior importância: ácido carnósico, epirosmanol, rosmanol, metilcarnosato e isorosmanol. O perfil polifenólico dessas plantas é caracterizado pela presença dos constituintes majoritários: ácido carnósico, carnosol, ácido rosmarínico e hesperidina. Entre os constituintes antioxidantes mais eficazes, foram identificados os difenóis diterpenos cíclicos, o ácido carnosólico e o carnosol (NIETO; ROS; CASTILLO, 2018).

A toxicidade dos extratos de *Rosmarinus officinalis* foi abordada por Anadon et al. (2008), no qual doses de 2.000mg/kg enriquecidos em diterpenos e contendo um menor número de flavonóides foram bem tolerados e não tiveram efeitos adversos ou mortalidade em modelos animais. Nobile et al. (2016) realizou estudo em 90 indivíduos que consumiram diariamente extratos de *Rosmarinus officinalis* e de frutos cítricos, por 3 meses, e não foram verificados efeitos adversos.

A composição e quantidade de compostos presentes nos diferentes extratos de folhas de *Rosmarinus officinalis* dependem de vários fatores, como: tipo de solo, clima, idade das

plantas e o procedimento de extração, este último o fator mais importante. O ácido rosmarínico e outros compostos presentes em menor concentração, como ácidos hidroxicinâmicos e flavonóides glicosilados, são os principais compostos identificados em extratos solúveis em água, enquanto os diterpenos de abietano, como ácido carnósico, carnosol ou rosmadial e outros compostos hidrofóbicos, como flavonas metiladas genkwanin e cirsimaritina, e a flavona hesperetina são abundantes no extrato não solúvel em água (OLIVARES-VICENTE et al., 2018)

Extratos de *Rosmarinus officinalis* podem ser classificados em três grupos principais com base em sua composição química: óleos essenciais, extratos hidrofílicos e hidrofóbicos. A atividade antioxidante dos extratos de *Rosmarinus officinalis* se deve principalmente aos diterpenos fenólicos do abietano e ao ácido fenólico rosmarínico. No entanto, esse comportamento depende da hidrofobicidade do ambiente, sendo que o extrato hidrossolúvel exibe uma alta atividade antioxidante na ausência de um sistema baseado em membrana (OLIVARES-VICENTE et al., 2018). Os efeitos já descritos na literatura associados à *Rosmarinus officinalis* podem ser vistos nos quadros 3 e 4, abaixo apresentadas.

Quadro 3. Estudos *in vivo* de *Rosmarinus officinalis*, avaliando os resultados e dados relativos à metodologia do estudo

Autor/ Ano/	Fitoterápico/ Intervenção	Resultados	Amostra/ Tempo de Acompanhamento
Estudos em Humanos			
Moss et al. 2003	Óleos essenciais puros de <i>Lavandula angustifolia</i> e <i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i> produziu uma melhoria significativa na qualidade geral da memória e fatores de memória secundária, mas também produziu uma diminuição da velocidade da memória, em comparação com os controles.	144 participantes

Gedney; Glover; Fillingim 2004	Óleo essencial de <i>Lavandula angustifolia</i> e <i>Rosmarinus officinalis</i>	A intensidade e o desconforto da dor induzida experimentalmente foram marginalmente reduzidos após o tratamento com <i>Rosmarinus officinalis</i> .	26 participantes 3 sessões
Fuchs et al. 2005	Extrato de <i>Rosmarinus officinalis</i> e <i>Calendula officinalis</i> creme tópico	Diminuíram a dermatite	20 participantes
Lukaczer et al. 2005	Extrato de <i>Humulus lupulus</i> e <i>Rosmarinus officinalis</i>	Redução significativa de 40% a 50% na pontuação para dor em indivíduos com doença reumática.	54 participantes 2 a 3 vezes ao dia por 8 semanas
Greenlee et al. 2007	<i>Curcuma longa</i> , <i>Cynara scolymus</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Schisandra chinensis</i> , <i>Silybum marinum</i> , <i>Taraxacum officinalis</i>	Não apresentaram efeitos nas medidas de estrogênio. Os andrógenos da fase folicular inicial diminuíram.	40 mulheres 4 cápsulas duas vezes ao dia por 5 ciclos menstruais
Jimbo et al. 2009	Aroma de 0,04 ml de <i>Citrus limonum</i> e 0,08 ml de óleo essencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> pela manhã; e 0,08 ml de <i>Lavandula angustifolia</i> e 0,04 ml de óleos essenciais de <i>Citrus sinensis</i> à noite	Todos os pacientes apresentaram melhora significativa na função cognitiva	28 idosos, sendo 17 com Alzheimer 28 dias
McCaffrey; Thomas; Kinzelman, 2009	Óleo essencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> e de <i>Lavandula angustifolia</i>	Menor ansiedade com o uso dos óleos em comparação com nenhum uso de aromaterapia	40 participantes
Balderas et al. 2010	0,02% de extrato de <i>Rosmarinus officinalis</i> ,	Mudança significativa no	49 participantes

	0,001% de vitamina E e 0,3% de PUFA's inseridas à dieta	metabolismo devido à dieta, em crianças diabéticas	3 vezes na semana por 12 meses
Pengelly et al. 2012	750 mg; 1500 mg; 3000 mg e 6000 mg de extrato seco de <i>Rosmarinus officinalis</i>	A dose mais baixa 750 mg teve um efeito benéfico estatisticamente significativo em comparação com o placebo no desempenho cognitivo.	27 participantes única dose
Lindheimer; Loy; O'connor 2013	Cápsulas contendo <i>Piper nigrum</i> (2,0 g) e <i>Rosmarinus officinalis</i> (1,7 g)	Não induziram melhorias consistentes de curto prazo na atenção sustentada, na motivação para realizar tarefas cognitivas ou nos sentimentos de energia mental e fadiga em adultos jovens com baixa energia.	40 participantes Única dose
Pérez-Sánchez et al. 2014	100mg extrato de <i>Citrus sinensis</i> e Extrato de <i>Rosmarinus officinalis</i>	Reduziu alguns eventos moleculares relacionados ao fotodano da pele, como geração de ERO intracelular e danos ao DNA	10 participantes 12 semanas
Panahi et al. 2015	Loção contendo óleo <i>Rosmarinus officinalis</i> , 3,7mg/ml	Verificou-se um aumento significativo na contagem de cabelo	100 participantes 6 meses
Azad; Schwiertz; Jentsch 2016	Enxaguante bucal contendo Óleo de <i>Cymbopogon flexuosus</i> (0,5%), óleo de <i>Thymus zygis</i> (0,5%), óleo de folha <i>Rosmarinus</i>	Efeito positivo nos níveis bacterianos no biofilme subgingival.	46 participantes 2 vezes ao dia por 14 dias

	<i>officinalis</i> (0,5%), emulsionante de óleo de rícino (6%)		
Mahyari et al. 2016	Enxaguante bucal de extratos hidroalcoólicos de <i>Z. officinale</i> , <i>R.</i> <i>officinalis</i> e <i>C. officinalis</i> (5%)	Foi eficaz no tratamento da gingivite e sua eficácia foi comparável à do enxaguatório bucal com clorexidina.	60 participantes 2 vezes ao dia por 2 semanas
Nobile et al. 2016	Extrato seco de <i>Rosmarinus officinalis</i> (100mg) e <i>Citrus paradisi</i> (250mg)	Diminuição das alterações cutâneas induzidas por UVB e UVA (diminuição da vermelhidão da pele e lipoperóxidos)	90 participantes
Moss et al. 2018	Água contendo Extrato de <i>Rosmarinus officinalis</i>	Melhora em efeitos cerebrovasculares observados para os níveis de hemoglobina desoxigenada durante o desempenho de tarefas cognitivas	80 participantes Única dose
Nematolahi et al. 2018	Extrato de <i>Rosmarinus</i> <i>officinalis</i> 500 mg	Aumento da memória prospectiva e retrospectiva, redução da ansiedade e depressão, melhora na qualidade do sono em estudantes universitários. Notou-se efeitos diuréticos, melhorias na pele, aumento da libido e apetite.	68 participantes Duas vezes ao dia por 1 mês

Perry et al. 2018	Combinação de extratos de <i>Salvia officinalis</i> L., <i>Rosmarinus officinalis</i> L. e <i>Melissa officinalis</i> L	A preparação oral é eficaz na memória episódica verbal em indivíduos saudáveis	44 participantes 5g/dia por 2 semanas
Valones et al. 2019	Creme dental com extrato etanólico 5% de <i>Rosmarinus officinalis</i> /	A pasta de dentes tratou eficazmente o sangramento gengival e reduziu a placa bacteriana.	101 participantes 30 dias
Gómez De Cedrón et al. 2019	Extrato supercrítico de <i>Rosmarinus officinalis</i> (11,25 mg de diterpeno fenóis) e óleo de fígado de tubarão enriquecido em alquilgliceróis bioativos (150 mg)	Positivos efeitos imuno nutricionais	60 participantes 6 semanas
Estudos em Animais			
Mugnaini et al. 2013	óleos essenciais de <i>Thymus serpyllum</i> 2%, <i>Origanum vulgare</i> 5% e <i>Rosmarinus officinalis</i> 5% em óleo de <i>Prunus dulcis</i>	Houve melhora para tratamento de micose devido a trichophyton mentagrophytes	13 ovelhas 2 vezes ao dia por 15 dias
Noori Ahmad Abadi et al. 2016	100 mg/kg 200 mg/kg e 400 mg/kg de extrato <i>Rosmarinus officinalis</i>	Resultado semelhante ao do diazepam, mostrando um efeito ansiolítico.	50 ratos
Seyedemadi et al. 2016	50 mg/kg, 75 mg/kg e 100 mg/kg/dia de <i>Rosmarinus officinalis</i>	Redução significativa os volumes de infarto cortical e subcortical	72 ratos 30 dias
Murino Rafacho et al. 2017	Extrato de <i>Rosmarinus officinalis</i> doses de 0,02 e 0,2%	Função diastólica melhorada, reduziu a hipertrofia muscular, proporcionou alterações morfológicas e	98 ratos infartados 3 meses

		funcionais no coração	
Nardoni et al. 2017	shampoo neutro com adição óleo essencial de <i>Thymus serpyllum</i> (2%), <i>Origanum vulgare</i> (5%) e <i>Rosmarinus officinalis</i> (5%)	Não houve diferença significativa os efeitos de cura micológica	14 gatos 2 semanas
Hegazy et al. 2018	<i>Rosmarinus officinalis</i> e <i>Thymus vulgaris</i>	Redução significativa do colesterol, evidenciando os efeitos dislipidêmicos da planta	32 ratos 10 dias

Os estudos em humanos demonstram que os produtos mais utilizados desta da planta foram óleos essenciais (6 estudos) e em extratos (14 estudos), sendo que o tempo de estudo variou de 1 dia, com a utilização de dose única, até o acompanhamento por 12 meses. A amostra mínima verificada no estudo foi de 20 participantes (FUCHS et al., 2005) e a maior amostra foi apresentada por Moss et al. (2003) com 144 participantes. Dos 20 estudos relatados, 7 avaliam os efeitos da *Rosmarinus officinalis* sobre a memória e funções cognitivas. Quatro estudos avaliam aspectos relacionados à pele, e 3 estudos avaliam os efeitos na odontologia. Ademais, 2 estudos avaliam efeitos sobre a dieta, relacionados à metabolismo e imunidade, 2 verificaram os efeitos sobre a dor, 1 estudo avaliou efeitos sobre os hormônios femininos e ainda, 1 estudo avaliou ação de *Rosmarinus officinalis* sobre a ansiedade. A maior parte dos estudos avalia a combinação de compostos, sendo que apenas em 7 estudos verifica-se uso isolado de *Rosmarinus officinalis*. Apenas 1 estudo não obteve nenhum resultado positivo na pesquisa (LINDHEIMER; LOY; O'CONNOR, 2013).

Nos estudos em animais (MUGNAINI et al., 2013; NOORI AHMAD ABADI et al., 2016; SEYEDEMADI et al., 2016; MURINO RAFACHO et al., 2017; NARDONI et al., 2017; HEGAZY et al., 2018), as amostras variaram de 13 a 98 animais, e o acompanhamento do estudo mínimo foi de 10 dias e máximo de 3 meses. Dos 6 estudos encontrados, 2 relatam o uso de óleo essencial de *Rosmarinus officinalis*, com doses de 5%, em ambos os estudos. Quatro estudos utilizaram extrato da planta, com doses variando de 50 mg/kg a 400 mg/kg.

Poucos efeitos colaterais foram relatados, sendo que Moss et al. (2013) evidenciou uma diminuição da velocidade da memória em indivíduos que utilizaram óleo essencial de

Rosmarinus officinalis em relação ao grupo controle. Indigestão foi relatada em estudo de Greenlee et al. (2007) com a utilização de diversos compostos fitoterápicos, incluindo-se o *Rosmarinus officinalis*. No estudo de Pengelly et al. (2012), a dose única de 6000 mg de extrato seco de *Rosmarinus officinalis* demonstrou efeitos prejudiciais no desempenho cognitivo. Já edema nos lábios e gengivoestomatite plasmocítica foram efeitos colaterais relatados por Valones et al. (2019) em estudo para avaliar o índice de sangramento e placas, após o uso de creme dental contendo *Rosmarinus officinalis* a 5%.

Considerando o exposto verifica-se variabilidade nos estudos sobre o *Rosmarinus officinalis*, quanto ao uso, tempo de utilização e metodologia empregada, demonstrando a versatilidade de uso, mas fragilidade nos ensaios clínicos para comprovação de eficácia e indicação para uso no sistema de saúde, evidenciando a importância de novas pesquisas que preencham essas lacunas.

Quadro 4. Estudos *in vitro* de *Rosmarinus officinalis*, avaliando os resultados e dados relativos à metodologia do estudo

Autor/ Ano/	Fitoterápico/ Intervenção	Resultados
Scheckel; Degner; Romagnolo 2008	Ácido Rosmarínico, extraído do <i>Rosmarinus officinalis</i>	Efeitos anticâncer por reduzir expressão de o gene pró-inflamatório ciclooxigenase-2 (COX-2) em em células HT-29 de câncer de cólon
Pérez-sánchez et al. 2014	Extrato de <i>Citrus</i> e extrato de <i>Rosmarinus officinalis</i>	O aumento da sobrevivência celular e a diminuição na geração de ERO intracelular e danos ao DNA.

Acerca dos estudos *in vitro* foram encontrados dois com diferenças importantes entre eles, sendo que um avalia um metabólito isolado e outro um produto composto com outra planta, e quanto aos resultados um estudo avaliou atividade antitumoral e outro dano ao DNA.

Apenas um estudo encontrado avalia os efeitos sobre a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), sendo o estudo de Pérez-Sánchez et al. (2014) realizado em humanos e em células cultivadas para avaliar efeitos nocivos dos raios ultravioleta nos queratinócitos. Este,

demonstrou a capacidade da combinação de extratos, incluindo *Rosmarinus officinalis*, em diminuir a geração de ERO e danos ao DNA induzidos por fototerapia.

Entre os estudos encontrados sobre essa planta, verifica-se os efeitos benéficos sua utilização devido ao fato de suas propriedades antioxidantes, tendo capacidade em contribuir para a diminuição do estresse oxidativo, condição essa, responsável pela evolução de diversas doenças (OLIVARES-VICENTE et al., 2018). Mais estudos em humanos são necessários para investigar a eficácia do extrato de *Rosmarinus officinalis* por tempo prolongado e para outras doenças, evidenciando a importância da presente pesquisa.

3.5. Importância da Fitoterapia

Diante da maior diversidade vegetal do mundo, o Brasil possui grande potencial à utilização de plantas medicinais para fins curativos e de tratamento. Com base neste potencial, em 2006, através de portaria do Ministério da Saúde GM/MS nº 971, foi criada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC) que abrange o uso e o estudo das Plantas Medicinais, através de Políticas de incentivo a pesquisas e ao uso de fitoterápicos pelo Sistema Único de Saúde. A fitoterapia, sendo uma terapêutica caracterizada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas, consiste no uso de plantas medicinais na arte de curar, e é uma forma de tratamento de origens muito antigas, relacionada aos primórdios da medicina e fundamentada no acúmulo de informações por sucessivas gerações. Ao longo dos séculos, produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diferentes doenças (BRASIL, 2015).

Ainda em 2006, através do Decreto da Presidência da República nº. 5.813, de 22 de junho, foi criada a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, tendo como objetivo estabelecer diretrizes e linhas prioritárias para o desenvolvimento de ações voltados à garantia do acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil.

Tendo como objetivo geral de garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, tem como diretrizes: 1. Regulamentar o cultivo; o manejo sustentável; a produção, a distribuição, e o uso de plantas medicinais e

fitoterápicos, considerando as experiências da sociedade civil nas suas diferentes formas de organização. 2. Promover a Formação técnico-científica e capacitação no setor de plantas medicinais e fitoterápicos. 3. Incentivar a formação e capacitação de recursos humanos para o desenvolvimento de pesquisas, tecnologias e inovação em plantas medicinais e fitoterápicos. 4. Estabelecer estratégias de comunicação para divulgação do setor plantas medicinais e fitoterápicos. 5. Fomentar pesquisa, desenvolvimento tecnológico e inovação com base na biodiversidade brasileira, abrangendo espécies vegetais nativas e exóticas adaptadas, priorizando as necessidades epidemiológicas da população. 6. Promover a interação entre o setor público e a iniciativa privada, universidades, centros de pesquisa e Organizações Não Governamentais na área de plantas medicinais e desenvolvimento de fitoterápicos. 7. Apoiar a implantação de plataformas tecnológicas piloto para o desenvolvimento integrado de cultivo de plantas medicinais e produção de fitoterápicos. 8. Incentivar a incorporação racional de novas tecnologias no processo de produção de plantas medicinais e fitoterápicos. 9. Garantir e promover a segurança, a eficácia e a qualidade no acesso a plantas medicinais e fitoterápicos. 10. Promover e reconhecer as práticas populares de uso de plantas medicinais e remédios caseiros. 11. Promover a adoção de boas práticas de cultivo e manipulação de plantas medicinais e de manipulação e produção de fitoterápicos, segundo legislação específica. 12. Promover o uso sustentável da biodiversidade e a repartição dos benefícios derivados do uso dos conhecimentos tradicionais associados e do patrimônio genético. 13. Promover a inclusão da agricultura familiar nas cadeias e nos arranjos produtivos das plantas medicinais, insumos e fitoterápicos. 14. Estimular a produção de fitoterápicos em escala industrial. 15. Estabelecer uma política intersetorial para o desenvolvimento socioeconômico na área de plantas medicinais e fitoterápicos. 16. Incrementar as exportações de fitoterápicos e insumos relacionados, priorizando aqueles de maior valor agregado. 17. Estabelecer mecanismos de incentivo para a inserção da cadeia produtiva de fitoterápicos no processo de fortalecimento da indústria farmacêutica nacional (BRASIL, 2006).

As duas políticas oportunizam a discussão sobre as vantagens da incorporação das práticas fitoterápicas nos serviços do Sistema Único de Saúde (SUS) e como esse processo deve ser realizado (BRASIL, 2006). O interesse dessa implementação representa, além da incorporação de mais uma terapêutica ao arsenal de possibilidades de tratamento à disposição dos profissionais de saúde, o resgate de uma prática milenar, representando práticas culturais e de educação em saúde, colaborando com o conhecimento científico e o conhecimento

popular em aspectos de entendimento sobre o adoecimento e as formas de tratá-lo (FIGUEREDO; GURGEL; GURGEL JUNIOR, 2014).

Como apresentado tais políticas incentivam pesquisas com fitoterápicos, justificando a importância do presente estudo. Além disso, o presente projeto também se enquadra nos ODS, no qual, recentemente, foram criados os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), como parte da Agenda 2030, um processo coordenado pela ONU que abrange o desenvolvimento econômico, a erradicação da pobreza, da miséria e da fome, a inclusão social, a sustentabilidade ambiental e a boa governança em todos os níveis, incluindo paz e segurança, sendo um Plano de Ação universal. São 17 objetivos e 169 metas de ação global para alcance até 2030, em sua maioria, abrangendo as dimensões ambiental, econômica e social do desenvolvimento sustentável, de forma integrada e inter-relacionada (BRASIL, 2020).

Saúde de qualidade é o terceiro dos 17 objetivos, tendo como expectativa do projeto assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades, e a garantia universal de acesso a medicamentos seguros e eficazes. Nesse sentido, a validação e o uso de plantas medicinais para a promoção de saúde é de suma importância, uma vez que este processo traz benefícios à população devido ao fato de os fitoterápicos apresentam risco reduzido de complicações iatrogênicas, quando comparado com medicamentos convencionais, além de representarem acesso à terapêutica facilitado e biodisponível. A ampliação das opções terapêuticas ofertadas aos usuários do Sistema Único de Saúde, com garantia de acesso a plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à fitoterapia, com segurança, eficácia e qualidade, na perspectiva da integralidade da atenção à saúde, é uma importante estratégia com vistas à melhoria da atenção à saúde da população e à inclusão social (BRASIL, 2020).

Da mesma forma, a utilização de plantas medicinais colabora com o Objetivo 12: Consumo e Produção Responsáveis, no qual se planeja o uso eficiente de recursos naturais através de estilos de vida em harmonia com o meio ambiente. A utilização de plantas medicinais colabora com a preservação das espécies, a reaproximação do ser humano da natureza e a conservação do conhecimento popular transmitido por meio dos tempos (FAVILLA & HOPPE, 2011).

Ainda, diante do décimo objetivo: Reduzir a desigualdade dentro dos países e entre eles, o desenvolvimento do setor de plantas medicinais e fitoterápicos pode se configurar como importante estratégia para o enfrentamento das desigualdades regionais existentes em

nosso país, podendo prover a necessária oportunidade de inserção socioeconômica das populações de territórios caracterizados pelo baixo dinamismo econômico e indicadores sociais precários. A estruturação de cadeias e arranjos produtivos locais voltados à exploração agrícola e comercial de plantas medicinais e fitoterápicos podem contribuir para a diminuição de discrepâncias de concentração de renda entre as regiões do país (BRASIL, 2006).

Ademais, o estudo da planta *Rosmarinus officinalis* corrobora com a Política Nacional de Medicamentos, aprovada em 1998, que em sua diretriz, “Desenvolvimento Científico e Tecnológico”, prevê a continuidade e expansão do apoio a pesquisas para o aproveitamento do potencial terapêutico da flora e fauna nacionais, enfatizando a certificação de suas propriedades medicamentosas. Tendo em vista a grande disponibilidade em substâncias oferecidas pela natureza, a fitoterapia está presente em grande parte dos medicamentos disponíveis, tanto como componente bioativo, quanto como matéria-prima para medicamentos, justificando a importância da pesquisa na área (BRASIL, 2001).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O Fluxograma do procedimento de randomização está de acordo com o Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) e pode ser visto na Figura 1.

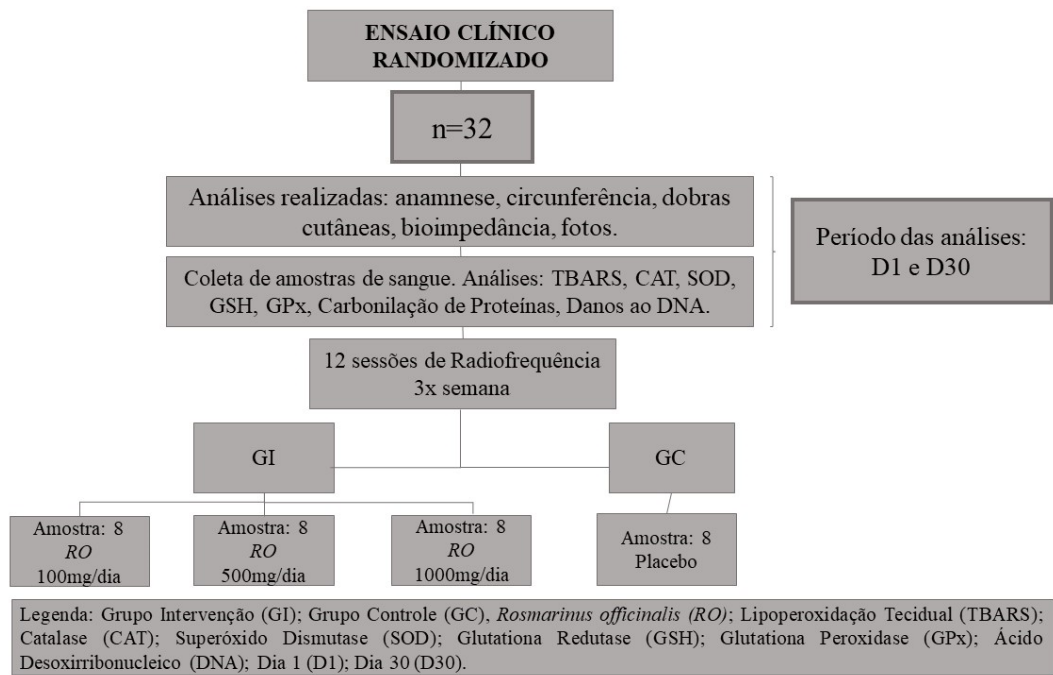


Figura 1. Fluxograma de alocação dos pacientes na pesquisa e intervenções realizadas.

4.1. Métodos

4.1.1. Desenho do estudo

Será realizada uma pesquisa experimental, longitudinal e analítica, prospectiva, do tipo ensaio clínico randomizado duplo cego. Serão utilizadas análises bioquímicas, avaliação de níveis lipídicos e proteicos, e a presença de marcadores de estresse oxidativo.

4.2. Participantes

4.2.1. Critérios de Inclusão

Serão incluídas no estudo mulheres de 18 a 50 anos, e que apresentem gordura localizada abdominal. Mulheres que não apresentem comorbidades: hipertensão, diabetes e doenças autoimunes, que não tenham realizado procedimentos estéticos não invasivos nos

últimos 30 dias, e que não estejam em dieta alimentar restritiva. O protocolo será aplicado nos meses de dezembro de 2020 a abril de 2021.

4.2.2. Critérios de Exclusão

Serão excluídas do estudo as participantes que forem pessoa natural incapaz, gestantes ou lactantes, mulheres que fazem uso de medicamentos anti-inflamatórios, medicamentos fitoterápicos e produtos emagrecedores, que tenham alergia ou intolerância ao *Rosmarinus officinalis*, assim como que apresentem sensibilidade ou alergias e contraindicações da Radiofrequência. Também serão excluídas mulheres obesas, com $IMC \geq 30$ (WHO, 1995), calculado através da fórmula Índice de Massa Corporal ($IMC = \text{Peso (kg)} / \text{Altura}^2 \text{ (m)}$) (BRASIL, 2011), mulheres que tenham realizado procedimentos estéticos invasivos nos últimos 12 meses e as que não aceitem participar da pesquisa, ou não assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

4.3. Coletas de Dados e Intervenções

O estudo será realizado em uma clínica privada multidisciplinar que apresenta entre os seus serviços, os de estética, localizada no município de Ajuricaba - RS. A clínica Studio Bella Forma, onde serão realizadas as aplicações de radiofrequência, bem como as avaliações e as coletas sanguíneas é um espaço multidisciplinar, que apresenta os serviços com profissional nutricionista, atividade física funcional e estética. Trata-se de público do sistema privado, que acessam este local em busca dos serviços supracitados. Quem realiza os atendimentos são: nutricionista, educador físico e uma esteticista. Sendo esta última que fará as avaliações antropométricas e as aplicações da Radiofrequência. A clínica possui os recursos necessários para o procedimento (fita métrica, adipômetro, balanças, radiofrequência, espátulas, maca, lençóis descartáveis e gel). A proprietária, Geisa Buchanelli, educadora física, declara que não há conflito de interesses.

As cápsulas de *Rosmarinus officinalis* que serão utilizadas no estudo serão produzidas com extrato seco adquirido em fornecedor habilitado, da empresa FLORIEN FITOATIVO, com laudo e controle de qualidade, seguindo os testes de qualidade preconizados na

Farmacopeia Brasileira, conforme RDC Nº 298, DE 12 DE AGOSTO DE 2019 (BRASIL, 2019).

A manipulação das cápsulas de fitoterápico e placebo será realizada na Farmácia Universitária da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUÍ e serão identificadas com LETRAS (A, B, C, D) para permitir o cegamento dos participantes da pesquisa.

4.4. Intervenções

As participantes do estudo serão divididas em dois grupos: controle (GC) e intervenção (GI). Ambos os grupos receberão a aplicação de 12 sessões estéticas com o equipamento de Radiofrequência Hertix KLD, 3 vezes na semana, por 4 semanas. A radiofrequência será aplicada na região abdominal, subdividida em 4 regiões de 100cm² por 10 minutos em cada região. Para a aplicação será utilizado gel neutro. Esse procedimento será realizado pela pesquisadora, Tecnóloga em Estética e Cosmética, com experiência e formação para o manuseio do equipamento de Radiofrequência. O equipamento de Radiofrequência utilizado será Hertix da marca KLD, com registro na ANVISA (10245239008). O equipamento é de propriedade da pesquisadora.

A intervenção farmacológica com uso de *Rosmarinus officinalis* ocorrerá no mesmo período da realização do tratamento estético (4 semanas).

Grupo controle: serão realizadas as sessões estéticas para redução da gordura localizada abdominal com radiofrequência e inseridas na dieta cápsulas de placebo (farinha).

Grupo intervenção: será dividido em 4 subgrupos:

- Grupo A: que receberá o tratamento para redução da gordura localizada abdominal com radiofrequência e suplementação na dieta de 100mg/dia de *Rosmarinus officinalis* em cápsulas.
- Grupo B: que receberá o tratamento para redução da gordura localizada abdominal com radiofrequência e suplementação na dieta de 500mg/dia de *Rosmarinus officinalis* em cápsulas.
- Grupo C: que receberá o tratamento para redução da gordura localizada abdominal com radiofrequência e suplementação na dieta de 1000mg/dia de *Rosmarinus officinalis* em cápsulas.

- Grupo D: que receberá apenas as cápsulas de suplementação na dieta de 1000mg/dia de *Rosmarinus officinalis*.

4.5. Desfechos

4.5.1. Primários

Atividade antioxidante *Rosmarinus officinalis*, avaliando pelas enzimas TBARS, SOD, CAT, GSH e GPx, comparando os grupos controle e intervenção.

4.5.2. Secundários

Redução de adiposidades localizadas abdominais;

Melhora na função hepática;

Efeito diurético do *Rosmarinus officinalis*.

4.6. Coleta de Dados

4.6.1. Mensurações

- Medidas antropométricas

Será elaborada uma ficha de anamnese dos participantes, na qual serão avaliados os critérios: peso, água corporal, índice de massa magra e índice de massa gorda, estas verificados com uso de uma balança de bioimpedância. Na anamnese também irá constar as informações pessoais, histórico de saúde e hábitos diários.

Serão realizadas as medidas com fita métrica, seguindo as Orientações para a Coleta e Análise de Dados Antropométricos em Serviços de Saúde (BRASIL, 2011), estando o participante em pé, ereto, abdômen relaxado, braços estendidos ao longo do corpo e as pernas paralelas, ligeiramente separadas e utilizando apenas roupas íntimas. A fita métrica deve estar

no mesmo nível em todas as partes da cintura e será pedido para que o participante inspire e expire totalmente, para anotar o valor. Para padronização das medidas do abdômen serão avaliados os pontos: 1º: logo abaixo dos seios; 2º: 5cm acima da cicatriz umbilical; 3º: sobre a cicatriz umbilical; 4º: 5cm abaixo da cicatriz umbilical; 5º: medida do quadril, que será realizada no maior perímetro do quadril.

A dobra cutânea abdominal será mensurada com o auxílio de um adipômetro, para quantificar a gordura localizada naquela região do corpo e será realizada em 3 pontos: 1º: Dobra horizontal posicionada lateralmente a 3 cm de distância da cicatriz umbilical e 1 cm abaixo do centro da cicatriz umbilical; 2º: Dobra vertical localizada lateralmente a 2 cm da cicatriz umbilical; 3º: dobra localizada lateralmente de 3 a 5 cm da cicatriz umbilical. As medidas serão realizadas no lado direito do corpo, 3 vezes em cada ponto, sendo anotada a média entre os números encontrados (MACHADO, 2008).

Para fins comparativos, as participantes serão fotografadas antes (D1) e após o término do tratamento (D30). A circunferência e as pregas cutâneas serão coletadas ao final de todas as sessões estéticas e serão registradas na ficha de acompanhamento.

A avaliação da ficha de anamnese, pregas cutâneas, circunferência e fotografias será realizada por profissional Tecnóloga em Estética e Cosmética, com a presença de uma profissional auxiliar.

- Estresse Oxidativo

Serão utilizados ensaios bioquímicos de Catalase, Superóxido dismutase, Glutathione Redutase, Glutathione peroxidase, Proteínas carboniladas e Lipoperoxidação tecidual. Os testes serão realizados no UNILAB – Laboratório de Análises Clínicas da UNIJUI. Tais análises, assim como as demais explicitadas abaixo serão realizadas com amostras coletadas no D1 e D30.

Para o preparo das amostras será utilizado sangue com heparina, sendo este precipitado com TCA 40%, na proporção de 2ml de sangue para 1 ml de TCA, homogeneizar e depois centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm e utilizar o sobrenadante. Todos serão estimados por método espectrofotométrico.

Para a atividade da **Lipoperoxidação Tecidual** (TBARS) utiliza-se 250µl da amostra e incuba-se com 50µl de água, 600µl de ácido fosfórico 1% e 600µl de TBA 0,6%, por 1 hora a 100 °C. Deixar esfriar e ler em 532nm.

Para a atividade da enzima **Catalase** (CAT) deve-se pipetar na cubeta de leitura: 1860µl de TFK e 20 µl de amostra. Após isso, adicionar 105µl de H₂O₂ e iniciar a leitura, em 240nm.

Para o **Superóxido Dismutase** (SOD) dilui-se as amostras na proporção de 1:10. Pipetar na cubeta de leitura: 1000µl de Tampão Glicina e 20 µl de amostra. Após isso adiciona-se 17µl de epinefrina e inicia-se a leitura em 480nm. Para deslocar a curva para esquerda, adiciona-se NaOH 0.1 M e para curva para direita, adiciona-se HCl 0.1 M.

Para a dosagem da enzima **Glutathione Redutase** (GSH), pipeta-se na cubeta de leitura: 750µl do Sistema (TFK 0.15 M, pH 7.0 com EDTA 1.5mM e NADPH 0.15mM), 10µl de água e 50µl da amostra. A leitura é realizada no espectrofotômetro a 340nm, com intervalos de leitura de 30 segundos, durante 2 minutos. Após isso adicionar 50µl do substrato (GSSG 20mM) na cubeta e ler novamente no mesmo comprimento de onda, com intervalos de leitura de 30 segundos, durante 2 minutos.

Para a dosagem da enzima **Glutathione Peroxidase** (GPx) deve-se pipetar na cubeta de leitura: 850µl do Sistema (NADPH, GSH, GR (500 U/ 2 ml), Azida 100mM e TFK 100mM pH 7.0), 50µl de água e 50µl da amostra. Após isso adicionar 100µl do substrato (H₂O₂ 4mM) na cubeta. Lê-se no espectrofotômetro a 340nm, com intervalos de leitura de 30 segundos, durante 2 minutos.

A **Carbonilação das Proteínas** é analisada com o preparado seguindo a diluição de plasma 1:80 em Tris/HCl 10mM, pH=7,4, prepara-se tubos com 1 ml de amostra e 200µl de DNPH, incuba-se os tubos por 1 hora no escuro à temperatura ambiente, agita-se a cada 15 minutos, após adiciona-se 500µl de tampão de desnaturação (fosfato de sódio 150 mM pH=6.8 e SDS), 1,5 ml de etanol e 1,5 ml de hexano em cada tubo. Agita-se todos os tubos por 40 segundos. Centrifuga-se por 15 min a 3000 rpm. Ressuspender em 1 ml de tampão de desnaturação. Lê-se em 370nm.

- Dano ao DNA

Serão utilizados também o Ensaio cometa e Ensaio de Micronúcleo para verificar danos ao DNA. Os testes serão realizados no UNILAB – Laboratório de Análises Clínicas da UNIJUI.

No ensaio Cometa células nucleadas são incorporadas em agarose sobre uma lâmina e lisadas por uma solução, esta solução “digere” as membranas nucleares das células permitindo a liberação do nucléolo e fragmentos de DNA. A eletroforese é realizada em pH alcalino. Os fragmentos de DNA migram no sentido da “cabeça” até sua “cauda”, refletindo a quantidade de quebras do DNA. As lâminas produzidas com a utilização da técnica serão analisadas em microscópio óptico com aumento de 40X, e para a leitura e análise dos dados gerados no ensaio, utiliza-se o software Comet Score™.

4.6.2. Análise Bioquímica

As análises bioquímicas convencionais de Creatinina, Creatinoquinase – MB (CK-MB), Gamaglutamiltranspeptidase (Gama-GT), Fosfatase alcalina, Transaminase glutâmico-oxalacética (TGO/AST), Transaminase Glutâmico Pirúvica (TGP/ALT), Colesterol total, Lipoproteína de alta densidade (HDL), Lipoproteína de baixa densidade (LDL) e de triglicerídeos serão realizadas no UNILAB – Laboratório de Análises Clínicas da UNIJUI, um laboratório de prestação de serviço e de ensino da Universidade, no D1 e D30. A coleta destas amostras seguirá os protocolos do laboratório contratado.

4.7. Tamanho da Amostra

Participarão do estudo 40 pacientes divididos em cinco grupos: A) controle (8 pacientes); B) em uso de *Rosmarinus officinalis* 100 mg/dia; C) em uso de *Rosmarinus officinalis* 500 mg/dia; D) em uso de *Rosmarinus officinalis* 1000 mg/dia; E) em uso de *Rosmarinus officinalis* 1000 mg/dia apenas.

O tamanho da amostra foi determinado conforme amostragem intencional considerando análise bifatorial.

As pacientes serão convidadas conforme banco de dados da clínica Studio Bella Forma, serão selecionadas as que atendam aos critérios de inclusão. Após será disponibilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para a voluntária, que, após ler todas as informações e atender aos critérios de inclusão e exclusão, fará a assinatura, se assim decidir.

4.7.1. Randomização

4.7.1.1. Sequência geração

Serão selecionadas 32 pacientes que atenderam os critérios de inclusão, e estes randomizados em grupo controle e A, B, C e D com 8 participantes em cada grupo supracitado. Para randomização, será utilizado o programa Microsoft Excel Software 2016, no qual serão atribuídos um número de 1 a 40 para cada paciente e a alocação realizada utilizando o comando “aleatório entre”. Para os números repetidos será gerado um novo número pelo comando. Cada participante selecionado será alocado entre os grupos, segundo uma tabela de randomização simples, gerada pelo programa supracitado. Para minimizar vieses de pesquisa os grupos serão estratificados de acordo com faixa etária e valor de prega cutânea.

4.7.1.2. Implementação

A sequência de randomização será gerada pelo autor, atendendo ao critério de que serão incluídas em cada um grupo número semelhante de pessoas com mesmas características: idade e tamanho da prega cutânea.

4.7.1.3. Cegamento

Os participantes da pesquisa serão cegos, assim como o pesquisador que irá realizar o protocolo estético. Um segundo pesquisador fará o controle dos grupos e dos tratamentos.

4.8. Métodos Estatísticos

4.8.1. Análise estatística

Todas as análises serão conduzidas utilizando o software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) versão 23.0. A normalidade dos dados será testada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados contínuos descritos através de média $\pm$ desvio padrão (DP) ou mediana (intervalo interquartil), e os dados categóricos através de frequência absoluta e relativa. Para verificar a associação entre duas ou mais variáveis qualitativas será utilizado o teste de hipótese do Qui-quadrado de Pearson e Odds ratio. Para as variáveis quantitativas será utilizado o teste de comparação de médias para amostras não paramétricas e independentes teste de Mann-Whitney e Kruskal Willes e para análise paramétrica teste t de student. Para todos os testes será considerado o nível de 5% de significância.

5. ASPECTOS ÉTICOS

Para a realização dessa investigação serão observados todos os preceitos éticos que regem pesquisas com pessoas, conforme o preconizado na Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde. O presente projeto somente será implementado após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIJUÍ.

Todos os participantes serão informados quanto aos objetivos, finalidades da pesquisa, e que a participação será voluntária, sem benefícios monetários.

Será garantida a eles, manutenção de sigilo da identidade e privacidade na coleta de dados. Após essa explanação, eles serão convidados a integrar a pesquisa. Aos que aceitarem, será oferecido o TCLE (Apêndice A) em duas vias, uma em poder de cada participante e outra da pesquisadora. Os participantes serão igualmente informados da liberdade de interromper sua participação em qualquer momento da pesquisa, sem ônus.

Os resultados serão socializados e a pesquisadora se disponibilizará a apresentá-los formalmente, conforme desejo dos participantes. Sequencialmente, os artigos científicos resultantes do estudo serão submetidos à avaliação de periódicos da área, com vistas à publicação. Também serão construídos resumos simples e expandidos, submetidos a eventos nacionais e internacionais da área.

Os dados da pesquisa permanecerão sob a guarda e responsabilidade da pesquisadora por cinco anos e após, incinerados.

5.1. Riscos

Serão realizadas coletas de sangue antes das sessões estéticas e após a finalização de todo o tratamento. Estas, serão realizadas por pesquisadores no local da pesquisa, seguindo todos os cuidados de biossegurança e as amostras encaminhados para o laboratório de análises clínicas terceirizado e para o laboratório de química que farão as devidas análises. Existem riscos relativos a punção venosa que serão informados aos participantes.

Existem riscos de efeitos colaterais relacionados com a planta como: diminuição da velocidade da memória (MOSS et al., 2013), indigestão (GREENLEE et al., 2007), efeitos prejudiciais no desempenho cognitivo (PENGELLY et al., 2012), embora os dados da

literatura apontam pouco risco. Além disso, podem ter riscos de queimadura por radiofrequência.

Serão avaliados individualmente todos os participantes da pesquisa, em ambiente adequado, com profissional habilitado para realizar a medição das circunferências, adipometria, avaliação de bioimpedância e fotos. As sessões estéticas serão realizadas individualmente, assim como os questionários serão aplicados de forma individual e em ambiente adequado.

Caso o participante tenha alguma reação, tanto aos componentes das cápsulas, quanto aos procedimentos estéticos, este será encaminhado ao médico, sendo custeado pela pesquisadora. Ainda, caso o participante apresente desconforto em algum momento da pesquisa, afetando sua saúde mental ou física, a pesquisadora o encaminhará para assistência especializada conforme sua necessidade, sendo médica, psicóloga, ou outra área da saúde necessária para seu bem-estar, sendo custeado pela pesquisadora.

5.2. Benefícios

Os benefícios do estudo relacionam-se ao conhecimento das propriedades do *Rosmarinus officinalis*, considerando que seus efeitos anti-inflamatórios podem ser utilizados para diversos fins na promoção de saúde. Através da minimização do estresse celular, ocasionados por procedimentos estéticos, o *Rosmarinus officinalis* pode ser utilizado como coadjuvante nestes tratamentos, prevenindo consequências provenientes do envelhecimento celular, que pode ser responsável por co-morbididades.

6. CRONOGRAMA

Ano	2020												2021											
Mês	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Atividades																								
Redação do projeto																								
Pesquisa Bibliográfica																								
Envio ao Comitê de Ética																								
Realização dos Protocolos Estéticos																								
Análises Bioquímicas																								
Organização do Banco de Dados																								
Análise dos Dados																								
Redação de Artigos																								

7. ORÇAMENTO

Pessoal	Unidade	Quantidade	Valor (R\$)	
			Unidade	Total
Christiane de Fátima Colet - Orientadora	Horas		-	-
Greissi Tatieli Franke Tremêa - Acadêmica	Horas		-	-
Subtotal 1				-
Material de Consumo				
Papel A4	Pacote c/ 500	1	16,9	16,90
Impressão	Unidade	75	0,15	11,25
Caneta	Unidade	1	2,5	2,50
Lápis	Unidade	1	1	1,00
Combustível	Litros	27	5	135,00
Seringa	Unidade	64	0,7	44,80
Agulha	Unidade	65	0,6	39,00
Garrote	Unidade	1	10	10,00
Luvas	Caixa c/ 100	1	45	45,00
Tubo de coleta com EDTA	Unidade	64	0,5	32,00
Reagentes para ensaios	Unidade	1	1000	1000,00

Gel condutor	Bag 5kg	1	30	30,00
Fita métrica	Unidade	1	5	5,00
Adipômetro	Unidade	1	360	360,00
Balança de Bioimpedância	Unidade	1	399	399,00
Cubetas e espátulas	Unidade	1	20,8	20,80
Extrato <i>Rosmarinus Officinalis</i>	Unidade	1	500	500,00
Lençol descartável	Unidade	1	11,9	11,90
Análises Bioquímicas	Unidade	80	81,08	6487,00
Subtotal 2				R\$ 5.864,15

TOTAL (Subtotal 1 + Subtotal 2)	R\$	5.864,15
--	------------	-----------------

Os recursos para o desenvolvimento deste projeto serão inteiramente de responsabilidade da pesquisadora.

REFERÊNCIAS

ADATTO, Maurice A.; ADATTO-NEILSON, Robyn M.; MORREN, Grietje. Reduction in adipose tissue volume using a new high-power radiofrequency technology combined with infrared light and mechanical manipulation for body contouring. **Lasers in medical science**, v. 29, n. 5, p. 1627-1631, 2014.

AGNE, Jones Eduardo. Eu sei eletroterapia. **Santa Maria: Pallotti**, 2009.

ALEXIADES-ARMENAKAS, Macrene; DOVER, Jeffrey S.; ARNDT, Kenneth A. Unipolar radiofrequency treatment to improve the appearance of cellulite. **Journal of Cosmetic and Laser Therapy**, v. 10, n. 3, p. 148-153, 2008.

ANADON, Arturo et al. Acute oral safety study of rosemary extracts in rats. **Journal of food protection**, v. 71, n. 4, p. 790-795, 2008.

ANDRADE, Joana M. et al. Rosmarinus officinalis L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. **Future science OA**, v. 4, n. 4, p. FSO283, 2018.

ARABPOUR-DAHOUE, Mahla et al. Leptin level decreases after treatment with the combination of radiofrequency and ultrasound cavitation in response to the reduction in

adiposity. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 13, n. 2, p. 1137-1140, 2019.

ARUOMA, Okezie I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. **Journal of the American oil chemists' society**, v. 75, n. 2, p. 199-212, 1998.

ASL, Jafar Fatahi; GOUDARZI, Mehdi; SHOGHI, Hamed. The radio-protective effect of rosmarinic acid against mobile phone and Wi-Fi radiation-induced oxidative stress in the brains of rats. **Pharmacological Reports**, p. 1-10, 2020.

AZAD, Mohammad Fallah; SCHWIERTZ, Andreas; JENTSCH, Holger FR. Adjunctive use of essential oils following scaling and root planing—a randomized clinical trial. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 171, 2016.

BALDERAS, Claudia et al. Metabolomic approach to the nutraceutical effect of rosemary extract plus Ω -3 PUFAs in diabetic children with capillary electrophoresis. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 53, n. 5, p. 1298-1304, 2010.

BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P.. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 29, n. 1, p. 113-123, Feb. 2006 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000100021&lng=en&nrm=iso>. access on 12 June 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000100021>.

BOURHIA, Mohammed et al. Antioxidant and antiproliferative activities of bioactive compounds contained in Rosmarinus officinalis used in the Mediterranean diet. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, 2019.

BOWLES, D. K. et al. Effects of acute, submaximal exercise on skeletal muscle vitamin E. **Free radical research communications**, v. 14, n. 2, p. 139-143, 1991.

BRASIL, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; Secretaria Especial de Articulação Social. OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL. 2020. Disponível em: <https://odsbrasil.gov.br/> Acesso em: 04/11/2020

BRASIL, Ministério da Saúde. **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 298, DE 12 DE AGOSTO DE 2019**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259143/RDC+298+2019+FB6/22467631-933d-45af-aaa1-be370bb7b7d2>. Acesso em 24/09/2020.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Só o IMC não diz como você está**. 2017. Disponível em: [http://www.saude.gov.br/component/content/article/804-imc/40508-so-o-imc-nao-diz-como-voce-esta#:~:text=A%20Organiza%C3%A7%C3%A3o%20Mundial%20da%20Sa%C3%BAde%20\(OMS\)%20estabelece%20que%20a%20medida,o%20risco%20de%20doen%C3%A7as%20cardiovasculares](http://www.saude.gov.br/component/content/article/804-imc/40508-so-o-imc-nao-diz-como-voce-esta#:~:text=A%20Organiza%C3%A7%C3%A3o%20Mundial%20da%20Sa%C3%BAde%20(OMS)%20estabelece%20que%20a%20medida,o%20risco%20de%20doen%C3%A7as%20cardiovasculares). Acesso em 21/09/2020

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Departamento de Atenção Básica**. Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS : atitude de

ampliação de acesso / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – 2. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2015. 96 p. : il.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Departamento de Atenção Básica**. Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde : Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011. 76 p. : il. – (Série G. Estatística e Informação em Saúde) Acesso em 24/07/2020
https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/orientacoes_coleta_analise_dados_antropometricos.pdf

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Departamento de Assistência Farmacêutica**. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. **Departamento de Atenção Básica**. Política nacional de medicamentos 2001/Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2001.

BRIGHTMAN, Lori et al. Improvement in arm and post-partum abdominal and flank subcutaneous fat deposits and skin laxity using a bipolar radiofrequency, infrared, vacuum and mechanical massage device. **Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery**, v. 41, n. 10, p. 791-798, 2009.

CHANG, Shyue-Luen et al. Long-term follow-up for noninvasive body contouring treatment in Asians. **Lasers in medical science**, v. 31, n. 2, p. 283-287, 2016.

CHOI, Sun Young et al. Improvement in abdominal and flank contouring by a novel adipocyte-selective non-contact radiofrequency device. **Lasers in surgery and medicine**, v. 50, n. 7, p. 738-744, 2018.

COLICA, Carmela et al. Rosmarinic acid as potential anti-inflammatory agent. **Reviews on recent clinical trials**, v. 13, n. 4, p. 240-242, 2018.

DE CARVALHO, Goretti Freire et al. Avaliação dos efeitos da radiofrequência no tecido conjuntivo. **Revista brasileira de medicina**, v. 68, p. 10-25, 2011.

DE OLIVEIRA, Jonatas Rafael; CAMARGO, Samira Esteves Afonso; DE OLIVEIRA, Luciane Dias. Rosmarinus officinalis L.(rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. **Journal of biomedical science**, v. 26, n. 1, p. 5, 2019.

FARKHONDEH, Tahereh; SAMARGHANDIAN, Saeed; POURBAGHER-SHAHRI, Ali Mohammad. Hypolipidemic effects of Rosmarinus officinalis L. **Journal of cellular physiology**, v. 234, n. 9, p. 14680-14688, 2019.

FAVILA, Miguel Antonio Correa; HOPPE, Juarez Martins. As plantas medicinais como instrumento de educação ambiental. **Revista Monografias Ambientais**, v. 3, n. 3, p. 468-475, 2011.

FIGUEREDO, Climério Avelino de; GURGEL, Idê Gomes Dantas; GURGEL JUNIOR, Garibaldi Dantas. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. *Physis: Revista de Saúde Coletiva*, v. 24, p. 381-400, 2014.

FILIPPIN, Lidiane Isabel et al. Redox influence on the inflammatory response in rheumatoid arthritis. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 48, n. 1, p. 17-24, 2008.

FILIPPIN, Lidiane Isabel et al. Redox signalling and the inflammatory response in rheumatoid arthritis. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 152, n. 3, p. 415-422, 2008.

FRIEDMANN, Daniel P. A review of the aesthetic treatment of abdominal subcutaneous adipose tissue: background, implications, and therapeutic options. **Dermatologic Surgery**, v. 41, n. 1, p. 18-34, 2015.

FUCHS, S. M. et al. Protective effects of different marigold (*Calendula officinalis* L.) and rosemary cream preparations against sodium-lauryl-sulfate-induced irritant contact dermatitis. **Skin pharmacology and physiology**, v. 18, n. 4, p. 195-200, 2005.

GEDNEY, Jeffrey J.; GLOVER, Toni L.; FILLINGIM, Roger B. Sensory and affective pain discrimination after inhalation of essential oils. **Psychosomatic Medicine**, v. 66, n. 4, p. 599-606, 2004.

GÓMEZ DE CEDRÓN, Marta et al. Tolerability and Safety of a Nutritional Supplement with Potential as Adjuvant in Colorectal Cancer Therapy: A Randomized Trial in Healthy Volunteers. **Nutrients**, v. 11, n. 9, p. 2001, 2019.

GREENLEE, Heather et al. A pilot and feasibility study on the effects of naturopathic botanical and dietary interventions on sex steroid hormone metabolism in premenopausal women. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 16, n. 8, p. 1601-1609, 2007.

GÜLDEN, Elke et al. Heat shock protein 60: Evidence for receptor-mediated induction of proinflammatory mediators during adipocyte differentiation. **FEBS letters**, v. 583, n. 17, p. 2877-2881, 2009.

HADI, Amir et al. The effect of green tea and sour tea (*Hibiscus sabdariffa* L.) supplementation on oxidative stress and muscle damage in athletes. **Journal of dietary supplements**, v. 14, n. 3, p. 346-357, 2017.

HANDS-FREE, Body-Shaping Device. A clinical evaluation of a next generation, non-invasive, selective radiofrequency, hands-free, body-shaping device. **Journal of Drugs in Dermatology**, v. 15, n. 12, p. 1557-1561, 2016.

HANTASH, Basil M. et al. Bipolar fractional radiofrequency treatment induces neoelastogenesis and neocollagenesis. **Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery**, v. 41, n. 1, p. 1-9, 2009.

HEGAZY, A. M. et al. Hypolipidemic and hepatoprotective activities of rosemary and thyme in gentamicin-treated rats. **Human & experimental toxicology**, v. 37, n. 4, p. 420-430, 2018.

HENGARTNER, Michael O. The biochemistry of apoptosis. **Nature**, v. 407, n. 6805, p. 770-776, 2000.

INÁCIO, Rodrigo Fabrizzio; BERNARDI, Daiana; ROMANO, Luis Henrique. Análise comportamental do tecido adiposo frente ao tratamento de radiofrequência: revisão bibliográfica. **Revista Saúde em Foco**, n. 9, 2017.

JAVID, Ahmad Zare et al. The effects of *Melissa officinalis* (lemon balm) in chronic stable angina on serum biomarkers of oxidative stress, inflammation and lipid profile. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 27, n. 4, p. 785, 2018.

JIMBO, Daiki et al. Effect of aromatherapy on patients with Alzheimer's disease. **Psychogeriatrics**, v. 9, n. 4, p. 173-179, 2009.

KWON, Tae-Rin et al. Assessment of equivalence of adipose tissue treatment with a noncontact field RF system delivering 200 W for 30 min and 300 W for 20 min: An in vivo porcine study. **Laser Therapy**, v. 26, n. 1, p. 39-52, 2017.

LINDHEIMER, Jacob B.; LOY, Bryan D.; O'CONNOR, Patrick J. Short-term effects of black pepper (*Piper nigrum*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* and *Rosmarinus eriocalyx*) on sustained attention and on energy and fatigue mood states in young adults with low energy. **Journal of medicinal food**, v. 16, n. 8, p. 765-771, 2013.

LUKACZER, Daniel et al. A Pilot trial evaluating meta050, a proprietary combination of reduced iso-alpha acids, rosemary extract and oleanolic acid in patients with arthritis and fibromyalgia. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 19, n. 10, p. 864-869, 2005.

MACHADO, Alexandre Fernandes. Dobras cutâneas: localização e procedimentos. **Motricidade**, v. 4, n. 2, p. 41-45, 2008.

MAHYARI, Saman et al. Evaluation of the efficacy of a polyherbal mouthwash containing *Zingiber officinale*, *Rosmarinus officinalis* and *Calendula officinalis* extracts in patients with gingivitis: A randomized double-blind placebo-controlled trial. **Complementary therapies in clinical practice**, v. 22, p. 93-98, 2016.

MATEEN, Somaiya et al. Redox signaling in rheumatoid arthritis and the preventive role of polyphenols. **Clinica Chimica Acta**, v. 463, p. 4-10, 2016.

MCCAFFREY, Ruth; THOMAS, Debra J.; KINZELMAN, Ann Orth. The effects of lavender and rosemary essential oils on test-taking anxiety among graduate nursing students. **Holistic nursing practice**, v. 23, n. 2, p. 88-93, 2009.

MOHAMMADZADEH, Mahsa et al. Effects of Radio Frequency and Ultrasound Cavitation Therapy on Serum C-reactive Protein and Pro-oxidant-Antioxidant Levels. 2016.

MONCADA, Salvador; HIGGS, Annie. Nitric oxide: role in human disease. **e LS**, 2001.

MOSS, Mark et al. Acute ingestion of rosemary water: Evidence of cognitive and cerebrovascular effects in healthy adults. **Journal of Psychopharmacology**, v. 32, n. 12, p. 1319-1329, 2018.

MOSS, Mark et al. Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. **International Journal of Neuroscience**, v. 113, n. 1, p. 15-38, 2003.

MUGNAINI, Linda et al. A herbal antifungal formulation of *Thymus serpyllum*, *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* for treating ovine dermatophytosis due to *Trichophyton mentagrophytes*. **Mycoses**, v. 56, n. 3, p. 333-337, 2013.

MULHOLLAND, R. Stephen; PAUL, Malcolm D.; CHALFOUN, Charbel. Noninvasive body contouring with radiofrequency, ultrasound, cryolipolysis, and low-level laser therapy. **Clinics in plastic surgery**, v. 38, n. 3, p. 503-520, 2011.

MURINO RAFACHO, Bruna Paola et al. Rosemary supplementation (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuates cardiac remodeling after myocardial infarction in rats. **PloS one**, v. 12, n. 5, p. e0177521, 2017.

NARDONI, Simona et al. Open-field study comparing an essential oil-based shampoo with miconazole/chlorhexidine for haircoat disinfection in cats with spontaneous microsporiosis. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 19, n. 6, p. 697-701, 2017.

NEMATOLAH, Pouya et al. Effects of *Rosmarinus officinalis* L. on memory performance, anxiety, depression, and sleep quality in university students: A randomized clinical trial. **Complementary therapies in clinical practice**, v. 30, p. 24-28, 2018.

NIETO, Gema; ROS, Gaspar; CASTILLO, Julián. Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. **Medicines**, v. 5, n. 3, p. 98, 2018.

NOBILE, Vincenzo et al. Skin photoprotective and antiageing effects of a combination of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) polyphenols. **Food & nutrition research**, v. 60, n. 1, p. 31871, 2016.

NOORI AHMAD ABADI, Mosayeb et al. Effect of hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. leaf on anxiety in mice. **Journal of evidence-based complementary & alternative medicine**, v. 21, n. 4, p. NP85-NP90, 2016.

OLIVARES-VICENTE, Marilo et al. Plant-derived polyphenols in human health: biological activity, metabolites and putative molecular targets. **Current drug metabolism**, v. 19, n. 4, p. 351-369, 2018.

OTTO, Morkel J. The safety and efficacy of thermal lipolysis of adipose tissue via ultrasound for circumference reduction: an open label, single-arm exploratory study. **Lasers in surgery and medicine**, v. 48, n. 8, p. 734-741, 2016.

PANAHI, Yunes et al. Antioxidant Activity of Heracleum persicum Fruit Extract: Evidence from a Randomized Controlled Trial. **Journal of Dietary Supplements**, v. 13, n. 5, p. 530-537, 2016.

PANAHI, Yunes et al. Rosemary oil vs minoxidil 2% for the treatment of androgenetic alopecia: a randomized comparative trial. **Skinmed**, v. 13, n. 1, p. 15, 2015.

PENGELLY, Andrew et al. Short-term study on the effects of rosemary on cognitive function in an elderly population. **Journal of medicinal food**, v. 15, n. 1, p. 10-17, 2012.

PÉREZ-SÁNCHEZ, A. et al. Protective effects of citrus and rosemary extracts on UV-induced damage in skin cell model and human volunteers. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 136, p. 12-18, 2014.

PERRY, N. S. L. et al. A randomised double-blind placebo-controlled pilot trial of a combined extract of sage, rosemary and melissa, traditional herbal medicines, on the enhancement of memory in normal healthy subjects, including influence of age. **Phytomedicine**, v. 39, p. 42-48, 2018.

PRINS, Johannes B. et al. Apoptose de adipócitos humanos in vitro. **Comunicações de pesquisa bioquímica e biofísica**, v. 201, n. 2, pág. 500-507, 1994.

QUIÑONEZ-FLORES, Celia María et al. Oxidative stress relevance in the pathogenesis of the rheumatoid arthritis: a systematic review. **BioMed research international**, v. 2016, 2016.

REUTER, Simone et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. **Free radical biology and medicine**, v. 49, n. 11, p. 1603-1616, 2010.

SCHECKEL, Kristen A.; DEGNER, Stephanie C.; ROMAGNOLO, Donato F. Rosmarinic acid antagonizes activator protein-1–dependent activation of cyclooxygenase-2 expression in human cancer and nonmalignant cell lines. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 11, p. 2098-2105, 2008.

SCHNEIDER, Cláudia Dornelles; OLIVEIRA, Alvaro Reischak de. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.

SEYEDEMADI, Parisa et al. The neuroprotective effect of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) hydro-alcoholic extract on cerebral ischemic tolerance in experimental stroke. **Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR**, v. 15, n. 4, p. 875, 2016

SHEK, Samantha YN et al. The efficacy of a combination non-thermal focused ultrasound and radiofrequency device for noninvasive body contouring in Asians. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 48, n. 2, p. 203-207, 2016.

SIES, Helmut; BERNDT, Carsten; JONES, Dean P. Oxidative stress. **Annual review of biochemistry**, v. 86, p. 715-748, 2017.

SRIVASTAVA, Shobhit et al. Curcuma longa extract reduces inflammatory and oxidative stress biomarkers in osteoarthritis of knee: a four-month, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Inflammopharmacology**, v. 24, n. 6, p. 377-388, 2016.

TANAKA, Yohei. Three-dimensional volumetric assessment of body sculpting using a uniform heating radio frequency device in Asians. **Journal of Cosmetic and Laser Therapy**, v. 17, n. 4, p. 194-199, 2015.

USHARANI, Pingali; MERUGU, Padma Latha; NUTALAPATI, Chandrasekhar. Evaluation of the effects of a standardized aqueous extract of *Phyllanthus emblica* fruits on endothelial dysfunction, oxidative stress, systemic inflammation and lipid profile in subjects with metabolic syndrome: a randomised, double blind, placebo controlled clinical study. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 19, n. 1, p. 97, 2019.

VALE, Ana Luísa et al. Effect of four sessions of aerobic exercise with abdominal radiofrequency in adipose tissue in healthy women: Randomized control trial. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 19, n. 2, p. 359-367, 2020.

VALONES, Marcela AA et al. Clinical Assessment of Rosemary-based Toothpaste (*Rosmarinus officinalis* Linn.): A Randomized Controlled Double-blind Study. **Brazilian dental journal**, v. 30, n. 2, p. 146-151, 2019.

VASCONCELOS, Sandra Mary Lima et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química nova**, 2007.

WINTER, Marc L. Post-pregnancy body contouring using a combined radiofrequency, infrared light and tissue manipulation device. **Journal of Cosmetic and Laser Therapy**, v. 11, n. 4, p. 229-235, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Physical Status**: the use and interpretation of anthropometry. Geneva, Switzerland: WHO, 1995. (WHO Technical Report Series, n. 854).

APÊNDICE A: ANAMNESE - QUESTIONÁRIO

DADOS PESSOAIS

Nome: _____ Data de Nasc. ____/____/____

Filhos: () Sim () Não - Quantos: _____

Profissão: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

E-mail: _____

Data da avaliação: ____/____/____

HISTÓRICO

Já recebeu algum tratamento estético? () Sim () Não – Há quanto

tempo: _____

Qual procedimento: _____

Pratica exercícios físicos: () Sim () Não - Quantas vezes na semana: _____

Faz acompanhamento nutricional? () Sim () Não

Faz uso de algum medicamento ou fitoterápico? () Sim () Não Qual: _____

Alergia a medicamentos / cosméticos? () Sim () Não - Qual? _____

Já fez algum procedimento cirúrgico? () Sim () Não Qual (ais)? _____ Há quanto tempo? ____

Ciclo menstrual: () Normal () Regular () Irregular

Faz uso de contraceptivo? () Sim () Não -

Qual? _____

Portador de marcapasso? () Sim () Não

Próteses: () Sim () Não

APÊNDICE B: INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

MENSURAÇÕES

Circunferências (cm)		
PONTOS	D0 antes de iniciar o tratamento	D30 após término do tratamento
abaixo do seio		
5 cm acima da cicatriz umbilical		
sobre a cicatriz umbilical		
5 cm abaixo da cicatriz umbilical		
quadril		
TOTAL		
RELAÇÃO CINTURA-QUADRIL		

PREGAS CUTÂNEAS (mm)					
DIA 0			D30		
Dobra 1	1	Média	Dobra 1	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 2	1	Média	Dobra 2	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 3	1	Média	Dobra 3	1	Média
	2			2	
	3			3	

Dobra 1: Dobra horizontal posicionada lateralmente a 3 cm de distância da cicatriz umbilical e 1 cm abaixo do centro da cicatriz umbilical

Dobra 2: Dobra vertical localizada lateralmente a 2 cm da cicatriz umbilical

Sobra 3: dobra localizada lateralmente de 3 a 5 cm da cicatriz umbilical.

COMPOSIÇÃO CORPORAL

	D0	D30
PESO (kg)		
HIDRATAÇÃO		
MASSA MAGRA		
MASSA GORDA		
ALTURA		
IMC		

RELATO DA VOLUNTÁRIA

Serão utilizados S para “sim” e N para “não” quando a voluntária for questionada.

Sessão	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Notou qualquer alteração com a utilização das cápsulas?												
Sentiu efeitos benéficos pelas cápsulas?												
Teve melhorias no sono?												
Observou alguma alteração de humor?												
Notou melhora no aspecto da pele?												
Notou diferença na gordura abdominal?												

Relatos adicionais:

FICHA DE ACOMPANHAMENTO

CIRCUNFERÊNCIA (cm)													
	Sessão												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
DATA													
PONTOS													
abaixo do seio													
5 cm acima da cicatriz umbilical													
sobre a cicatriz umbilical													
5 cm abaixo da cicatriz umbilical													

PREGAS CUTÂNEAS (mm)					
DIA 0			SESSÃO 1		
Dobra 1	1	Média	Dobra 1	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 2	1	Média	Dobra 2	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 3	1	Média	Dobra 3	1	Média
	2			2	
	3			3	

SESSÃO 2			SESSÃO 3		
Dobra 1	1	Média	Dobra 1	1	Média
	2			2	

	3			3	
Dobra 2	1	Média	Dobra 2	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 3	1	Média	Dobra 3	1	Média
	2			2	
	3			3	

SESSÃO 4			SESSÃO 5		
Dobra 1	1	Média	Dobra 1	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 2	1	Média	Dobra 2	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 3	1	Média	Dobra 3	1	Média
	2			2	
	3			3	

SESSÃO 6			SESSÃO 7		
Dobra 1	1	Média	Dobra 1	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 2	1	Média	Dobra 2	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 3	1	Média	Dobra 3	1	Média
	2			2	
	3			3	

SESSÃO 8			SESSÃO 9		
Dobra 1	1	Média	Dobra 1	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 2	1	Média	Dobra 2	1	Média
	2			2	

	3			3	
Dobra 3	1	Média	Dobra 3	1	Média
	2			2	
	3			3	

SESSÃO 10			SESSÃO 11		
Dobra 1	1	Média	Dobra 1	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 2	1	Média	Dobra 2	1	Média
	2			2	
	3			3	
Dobra 3	1	Média	Dobra 3	1	Média
	2			2	
	3			3	

SESSÃO 12		
Dobra 1	1	Média
	2	
	3	
Dobra 2	1	Média
	2	
	3	
Dobra 3	1	Média
	2	
	3	

ANEXO A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE REGIONAL DO NOROESTE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

Reconhecida pelo Portaria Ministerial nº 497 de 28/06/1983 – D.O.U. 01/07/1983
Regionalizada pelas Portarias Ministeriais nº 1626 de 10/11/1993 – D.O.U. 11/11/1993 e nº 818 de 27/05/1994 – D.O.U. 30/05/1994

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a)

Estamos desenvolvendo uma pesquisa cujo título é “AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO ROSMARINUS OFFICINALIS EM PACIENTES SUBMETIDOS À RADIOFREQUÊNCIA”.

Este é um convite para você participar desta pesquisa e cabe a você decidir se quer participar. Se estiver interessado em participar, você deve ler este termo e assinar a última via para mostrar que concorda em participar da pesquisa.

Trata-se de uma pesquisa experimental, com abordagem quantitativa e estatística que visa avaliar o perfil de estresse oxidativo de pacientes em tratamento para gordura localizada abdominal com radiofrequência, associado ao uso de cápsulas de extrato seco de alecrim, com a finalidade verificar o poder antioxidante da planta. Esta pesquisa é necessária devido a possível relação entre estresse oxidativo e a aplicação do equipamento estético de radiofrequência, sugerindo que o alecrim traria benefícios à saúde dos participantes.

Diante do exposto, o presente estudo visa analisar se essa característica está presente na população a ser estudada e tem como objetivo verificar o potencial efeito antioxidante do Rosmarinus officinalis na diminuição do dano inflamatório ocasionado por uso de radiofrequência em tratamento estético.

Essa pesquisa será feita através de uma anamnese, aplicação de 12 sessões estéticas com radiofrequência, por 3 vezes na semana, associada a ingesta de

cápsulas de extrato seco de *Rosmarinus officinalis*. Os dados serão tabulados e transcritos, sendo posteriormente analisados pelos pesquisadores. Além disso, haverá análises em amostra biológica de sangue dos pacientes através da técnica da catalase, técnica da superóxido dismutase, técnica do SH-não proteico, técnica da lipoperoxidação tecidual e exames bioquímicos como creatinina, creatinoquinase – MB (CK-MB), gamaglutamiltranspeptidase (Gama-GT), fosfatase alcalina, transaminase glutâmico-oxalacética (TGO/AST), transaminase glutâmico pirúvica (TGP/ALT), colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e de triglicerídeos, proteína C-reativa.

Como você responderá a um questionário e será feita coleta de amostra biológica, sangue, existe o risco de constrangimento, medo, desconforto e retorno de lembranças que lhe causem sofrimento psíquico. O benefício que esse estudo constitui é conhecer os benefícios celulares do uso do alecrim. Caso você apresente algum problema pelo desconforto pelo procedimento de coleta ou que alguma pergunta possa ter causado, a pesquisadora o encaminhará que você seja assistido.

Os critérios de inclusão são: ser mulher e ter entre 18 a 50 anos, e que apresentem gordura localizada abdominal e não apresentem comorbidades: hipertensão, diabetes e doenças autoimunes, que não tenham realizado procedimentos estéticos não invasivos nos últimos 30 dias, e que não estejam em dieta alimentar restritiva. Serão excluídas do estudo as participantes que forem gestantes ou lactantes, mulheres que fazem uso de medicamentos anti-inflamatórios, medicamentos fitoterápicos e produtos emagrecedores, que tenham alergia ou intolerância ao *Rosmarinus officinalis*, assim como que apresentem sensibilidade ou alergias e contra indicações da Radiofrequência. Também serão excluídas do estudo mulheres obesas, mulheres que tenham realizado procedimentos estéticos invasivos nos últimos 12 meses e as que não aceitem participar da pesquisa, ou não assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nós pesquisadores garantimos seu anonimato está assegurado e as informações obtidas serão utilizadas apenas para fins científicos vinculados a este projeto de pesquisa; podendo você ter acesso as suas informações e realizar qualquer modificação no seu conteúdo, se julgar necessário. Você tem liberdade para recusar-se a participar da pesquisa, ou desistir dela a qualquer momento sem

que haja constrangimento, podendo você solicitar que as informações sejam desconsideradas no estudo. Mesmo participando da pesquisa poderá recusar-se a responder as perguntas ou a quaisquer outros procedimentos que ocasionem constrangimento de qualquer natureza.

Está garantido que você não terá nenhum tipo de despesa financeira durante o desenvolvimento da pesquisa, como também, não será disponibilizada nenhuma compensação financeira.

Eu, Christiane de Fátima Colet, bem como Greissi Tatieli Franke Tremêa assumimos toda e qualquer responsabilidade no decorrer da investigação e garantimos que as informações somente serão utilizadas para esta pesquisa, podendo os resultados vir a ser publicados.

Se houver dúvidas quanto à sua participação poderá pedir esclarecimento a qualquer um de nós, nos endereços e telefones abaixo:

Christiane de Fátima Colet - Rua do Comércio, 3.000 – Departamento de Ciências da Vida - Bairro Universitário - Ijuí/RS – 98700-000. Fone: (55) 3332-0461. Email: christiane.colet@unijui.edu.br

Greissi Tatieli Franke Tremêa - Rua do Comércio, 3.000 – Departamento de Ciências da Vida - Bairro Universitário - Ijuí/RS – 98700-000. Fone: (55) 3332-0461. Email: greissi.tremea@unijui.edu.br

Ou ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNIJUI - Rua do Comércio, 3.000 - Prédio BETA – Sala Beta 02-12 - Caixa Postal 560 - Bairro Universitário - Ijuí/RS - 98700-000. Fone (55) 3332-0301, e-mail: cep@unijui.edu.br.

Todos os documentos ficarão sob a responsabilidade do pesquisador principal, por um período de cinco anos e após serão deletados e/ou incinerados.

O presente documento foi rubricado e assinado em duas vias de igual teor, ficando uma com o entrevistado ou responsável legal e a outra com os pesquisadores.

Eu, _____, CPF _____, ciente das informações recebidas concordo em participar da pesquisa, autorizando-os a utilizarem as informações por mim concedidas e/ou o meu prontuário.

Assinatura do entrevistado

Impressão dactiloscópica

Christiane de Fátima Colet
000.929.000-11

Greissi Tatieli Franke Tremêa
027.039.440-04

Data: local/RS, ____ / ____ / ____