



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

**EFEITOS DO *LASER* EM BAIXA INTENSIDADE EM RATOS *WISTAR* COM
HIPOTIREOIDISMO INDUZIDO PELO PROPILTIOURACIL (PTU)**

ANA CLAUDIA SOLDÁ

**Dissertação apresentada como parte dos
Requisitos para a obtenção do Grau de Mestre
Profissional na área de Lasers em
Odontologia**

Orientadora:

Profa. Dra. Martha Simões Ribeiro

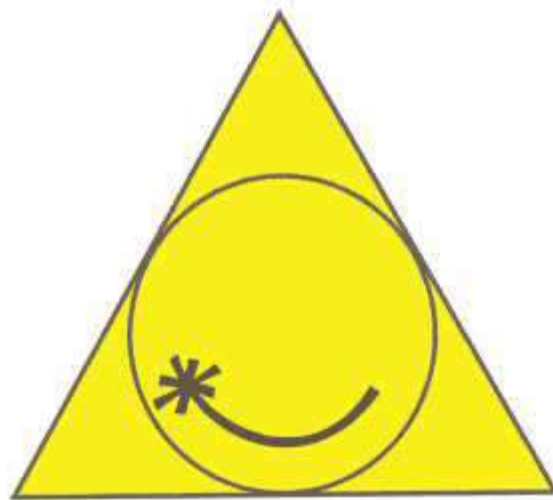
Co-Orientadora:

Profa. Dra. Luciane Hiramatsu Azevedo

SÃO PAULO

2010





**MESTRADO PROFISSIONALIZANTE DE LASER EM
ODONTOLOGIA**

**EFEITOS DO LASER EM BAIXA INTENSIDADE EM RATOS Wistar COM
HIPOTIREOIDISMO INDUZIDO PELO PROPILTIOURACIL (PTU).**

ANA CLAUDIA SOLDÁ

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para a obtenção do Grau de Mestre
Profissional na área de Lasers em Odontologia**

Orientadora:

Profa. Dra. Martha Simões Ribeiro

Co-Orientadora:

Profa. Dra. Luciane Hiramatsu Azevedo

SÃO PAULO

2010



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao Dr. Gil Shmelzshtein, ex-professor assistente de Anatomia da Universidade Metodista de São Paulo, hoje meu companheiro, por acreditar na minha capacidade, no incentivo constante durante o curso, a minha *sincera* gratidão.

Ao meu querido PAI, Ubaldo Soldá (*papico*), por ajudar a cuidar com muito amor e carinho da sua neta Raquel, enquanto eu frequentava o curso, na falta da minha MÃE, Neide Lopes Soldá (*in memorian*).

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Martha Simões Ribeiro, pela sábia orientação, sempre pronta nos esclarecimentos, com sua simpatia única, a minha gratidão.

À professora Dra. Luciane Hiramatsu Azevedo, não só por suas orientações, como pelos ensinamentos durante o curso, o meu muito obrigada.

A todos os professores, pelo respeito e seriedade nos ensinamentos.

À técnica do biotério, querida Neide, que tornou possível a realização deste trabalho.

Às secretárias Andréa e Liliane, pelo profissionalismo e dedicação aos alunos, o meu carinho.

Aos colegas do curso, pelas lembranças alegres nas aulas práticas e teóricas.

À colega Mariane, pelas dicas de computador e pela tentativa de diminuir minha ansiedade nas apresentações dos trabalhos.

EFEITOS DO LASER EM BAIXA INTENSIDADE EM RATOS *WISTAR* COM HIPOTIREOIDISMO INDUZIDO PELO PROPILTIOURACIL.

ANA CLAUDIA SOLDÁ

RESUMO

A cavidade oral é a única área que reflete as injúrias do organismo. Seus tecidos revelam os déficits nutricionais, os distúrbios internos e as manifestações de origem endócrina, através de sinais e sintomas. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do *laser* em baixa intensidade em ratos *wistar* induzidos ao hipotireoidismo, simulando o grau máximo exposição do *laser* na glândula hipofuncionante. Foram utilizadas trinta e nove ratas divididas em 3 grupos: grupo 1, como controle, formado por 18 animais, grupo 2, para irradiar a glândula com o *laser*, formado por 18 animais e o grupo 3, formado por 3 animais sem indução da doença, para o controle dos níveis hormonais. Foi utilizado propiltiouracil, 0.1%, via intraperitoneal, por 19 dias. O exame que avalia o soro nos grupos 1 e 2 revelou um valor baixo de T3 e T4 em relação ao teste feito no grupo 3, confirmando a presença da doença. Nos grupos irradiados, o *laser* utilizado foi em baixa intensidade, emissão infravermelha, 780nm de comprimento de onda, potência de 30mW, fluência de 4J/cm², energia de 0,12J por ponto e área do feixe de 0.031cm². Foram realizadas no três irradiações, cada uma com intervalo de 24 horas. A região da glândula tireóide foi delimitada em uma área de 1cm². A irradiação *laser* foi feita sobre esta área de forma pontual, 4 segundos por ponto, num total de 33 pontos. Foram realizadas coletas de sangue 24, 48 e 72 horas após as irradiações O *laser* em baixa intensidade utilizado nessas condições na glândula tireóide, não foi suficiente para reverter o hipotireoidismo.

EFFECTS OS LOW INTENSITY LASER THERAPY IN *W*STAR RATS WITH HYPOTHYROIDISM INDUCED BY PROPYLTHIOURACIL.

ANA CLAUDIA SOLDÁ

ABSTRACT

The oral cavity is the only area that intensively reflects the organism injuries. Its tissues show the nutritional deficits, inner disturbs and the endocrine origin manifestations, through signals and symptoms. The aim of this study was to evaluate the lasertherapy effects on thyroidean gland tissue *wistar* rats induced to hypothyroidism by propylthiouracil, simulating the maximum *laser* exposure levels on the depressed gland. Thirty nine female rats were used and divided into 3 groups: group 1, the control group, composed of 18 animals, group 2, the laser group, composed of 18 animals and the group 3, composed of 3 healthy animals, to control the hormone levels. For both groups, the propylthiouracil 0,1% was adminstrated intraperitoneally, for 19 days in a sequence. The sorus test outcomes for groups 1 and 2 revealed a T3 and T4 value lower than group 3, corroborating the disease's settlement. In both experimental groups, the low intensity laser was applied with infrared emission, at wavelength of 780nm, power of 30mW, fluence equal to 4J/cm², energy equal to 0,12 J per point and spot size area equal to 0.031 cm². It was utilized three irradiations, each one with a 24 hours gap. The thyroid gland region was demarcated with 1 cm², and the area was punctually irradiated during 4 seconds per point totalizing 33 points. Drawing blood procedures were performed at 24, 48 and 72 hours always after irradiations. The low intensity laser applied in these conditions was not enough to revert the hypothyroidism.

LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

FIGURA 1-Estrutura molecular dos hormônios T3 e T4.....	15
FIGURA 2-Área delimitada para irradiação do <i>laser</i>	22
FIGURA 3- <i>Laser in loco</i>	22
FIGURA 4- Etapas do procedimento.....	24

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

PÁGINA

TABELA 1- Média desvio \pm padrão dos valores

hormonais finais.....26

GRÁFICO 1- Média desvio \pm padrão dos valores

hormonais finais.....27

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

LILT-Low Intensity Laser Therapy

nm- nanometro

J-joule

cm²-centímetro quadrado

s-segundo

W- watt

mW-miliwatt

λ -comprimento de onda

%-por cento

°C-Graus Celsius

IPEN-Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

rpm-rotações por minuto

ng-nanograma

μ g-micrograma

dl-decilímetro

SUMÁRIO

	PÁGINA
1- INTRODUÇÃO	11
2- OBJETIVO	13
3- REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1- A Glândula tireóide	14
3.2-Indução ao hipotireoidismo pelo Propiltiouracil	18
3.3- O <i>laser</i> em baixa intensidade	19
3.4- O <i>laser</i> em hipotireoidismo	21
4- MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1-Análise estatístico	25
5 –RESULTADO	26
6- DISCUSSÃO	28
7-CONCLUSÃO	30
8-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1- INTRODUÇÃO

O cirurgião-dentista defronta-se, na clínica diária, com as mais diversas doenças, sendo umas como causa primária das afecções dentárias, e outras, com causa secundária decorrentes de estados patológicos à distância, pois a cavidade oral é a única área que reflete, seja de forma precoce ou tardia, as injúrias advindas de outras partes do organismo¹.

Cabe ao profissional ter em mente esta situação, para poder discernir entre uma e outra, encaminhando o paciente ao profissional adequado. Tudo isso, no intuito de prover ao paciente um tratamento completo, bilateral e eficaz.

A palavra hormônio vem do grego *hormo*² que são substâncias circulantes que agem à distância, porém, quando são produzidos numa quantidade diferente da normalidade, podem provocar alterações em todo o organismo.

Na odontologia, as alterações endócrinas podem afetar os dentes, a mucosa, bem como a parte óssea bucal, porém, a forma com que estas alterações ocorrem ainda não são totalmente conhecidas.

O uso da laserterapia correlaciona a odontologia com a medicina, quando a estrutura atingida é comum a essas duas áreas, neste caso, a glândula tireóide.

O hipotireoidismo caracteriza-se pela diminuição dos hormônios T3 e T4, por ela produzidos³. Portanto, o *laser*, analisado sob estes dois prismas, poderá ser empregado tanto pelo cirurgião-dentista (no *cavum oral*), nas patologias decorrentes desta estrutura glandular, quanto pelo endocrinologista (*in loco*), na biomodulação da mesma, principalmente no estágio subclínico da doença, quando os níveis hormonais estão diminuídos e a doença ainda não se manifestou⁴.

Um dos fatores que geram controvérsias sobre o uso do *laser* se explica pela dificuldade em se estabelecer parâmetros de uso na área da saúde, devido ao desconhecimento exato de ação desta fonte luminosa nos tecidos biológicos que envolvem a otimização de uma série de noções básicas, como comprimento de onda, fluência, taxa de fluência, tempo de exposição, número de tratamentos, entre outros. Além disso, a luz quando interage com o tecido biológico pode ser absorvida, transmitida, absorvida e espalhada⁵.

A terapêutica odontológica convencional preconiza o uso de medicamentos sistêmicos, nas mais variadas formas de administração, bem como sua associação com terapia localizada na reparação dos tecidos bucais.

Na literatura especializada, é possível encontrar estudos favoráveis ao uso do *laser* como mais uma opção de tratamento, enquanto outros questionam sua validade.

Dentre os vários estudos favoráveis à terapia com luz, encontra-se um estudo realizado em 1991, que relata a efetividade do *laser* em baixa intensidade em uma série de situações clínicas.

Segundo suas pesquisas, a absorção da radiação infravermelha pode induzir à rotação molecular, ou seja, na rotação da molécula sobre o seu eixo, e com vibração molecular, no entanto, não podem ser esperadas mudanças químicas nas moléculas envolvidas neste comprimento de onda, apesar da velocidade das reações bioquímicas poder ser acelerada devido à produção de calor. As respostas fotobiológicas são resultados de alterações fotofísicas ou fotoquímicas produzidas pela radiação eletromagnética não ionizante ⁶.

Ao se fazer fototerapia, existe a possibilidade de que estruturas vizinhas ao sítio irradiado possam responder ao estímulo luminoso, como por exemplo, a glândula tireóide.

Portanto, com este estudo, estaríamos reproduzindo o grau máximo de exposição do *laser* sobre a glândula hipofuncionante como radiação espalhada, irradiando o *laser* diretamente sobre ela, ou seja, simulando o quanto esta estrutura glandular (deprimida pelo medicamento propiltiouracil) poderá ser sensível ao feixe *laser*, durante um tratamento odontológico.

2 - OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo geral, avaliar os efeitos do *laser* com emissão infravermelha em $\lambda = 780\text{nm}$ em ratos da linhagem *wistar*, induzidos ao hipotireoidismo pelo propiltiouracil (PTU), e, como objetivo específico, avaliar os níveis de T3 e T4.

3- REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Glândula tireóide

O conhecimento da glândula tireóide é tão antigo quanto a história da medicina. A tireóide, a pineal e a hipófise foram descritas por Galeno por volta do ano 131. Em suas pesquisas, ele relatava que a tireóide lubrificava a laringe para eliminar os venenos do corpo.

As doenças tireoideanas foram encontradas num livro religioso hindu, chamado "ATHARVA VEDA", por volta de 1500 a C., e também no "AYURVEDA SUSHRUTA", por volta de 1400 antes da nossa era.

Os médicos chineses tratavam esta doença com esponjas e algas marinhas por serem ricas em iodo^{7,8}.

No século XVII, os médicos ingleses, membros do Colégio Real, deixando-se levar pelas propagandas de cunho nada científico da época, prescreviam extratos de glândulas, empiricamente capazes de curar o grande número de transtornos.

Na região dos Alpes, as pessoas acreditavam que, ao beberem a água da neve, poderiam contrair bócio. O próprio Michelângelo teria sido vítima deste "mal", e enquanto trabalhava na Capela Sixtina, criando o Juízo Final e Episódios da Criação, escreveu: "Saiu-me um bócio enquanto vivi neste antro, como consequência das águas estagnadas da Lombardia"⁹.

Claude Bernard, fisiologista francês, considerado pai da Endocrinologia, além de criar o conceito de equilíbrio interno (homeostase), usou o termo "secreção" enquanto pesquisava os tecidos glandulares¹⁰. Ernest Henry Starling, fisiologista inglês, introduziu pela primeira vez o termo "hormônio" numa conferência em 1905¹¹.

Com os avanços da medicina, hoje se sabe que a glândula tireóide é uma estrutura endócrina, localizada no pescoço, anteriormente à traquéia, acima da incisura supra-esternal, abaixo da cartilagem cricóide. Tem forma de um H, com dois lobos interligados por um istmo central, sua inervação é feita pelo vago e pelo simpático cervical, estando em íntima relação com as quatro paratireóides, situadas látero-posteriormente, às vezes, sob a cápsula da tireóide, incrustadas no seu parênquima. Com trajeto variável junto à parede posterior da glândula, correm os nervos laríngeos, ramos do nervo vago.

Deriva de células endodérmicas do assoalho da faringe, contendo múltiplos folículos, cobertos por células cuboidais e capilares sanguíneos. Nestas, se observa um espaço, contendo uma substância coloidal, chamada tireoglobulina, que serve como armazenadora de hormônios, onde também se encontra um aminoácido chamado tirosina¹².

A glândula tireóide é regulada por um hormônio chamado TRH (*Thyroid Releasing Hormone*), produzido em quatro núcleos do hipotálamo: núcleo arcuato, núcleo paraventricular, núcleo dorsal medial e a eminência média, sendo produzido nos três primeiros e armazenado no último¹³.

Assim, ao ser liberado na corrente sanguínea, chega à porção anterior da hipófise, chamada adenohipófise, onde ele vai estimular a liberação de outro hormônio, o TSH (*thyroid stimulating Hormone*). Este participa do processo de incorporação do iodo, proveniente da dieta alimentar, ao aminoácido tirosina. Esse processo é chamado organificação do iodo e só acontece na presença de uma enzima chamada peroxidase. Desta ligação, formam-se duas moléculas: a moniodotirosina e a diiodotirosina. Quando duas moléculas de diiodotirosina se fundem, forma-se o hormônio tetraiodotironina ou T4 (tiroxina), e, quando uma molécula de moniodotirosina se une a uma molécula de diiodotirosina, forma-se o hormônio triiodotironina ou T3¹⁴. (FIGURA 1).

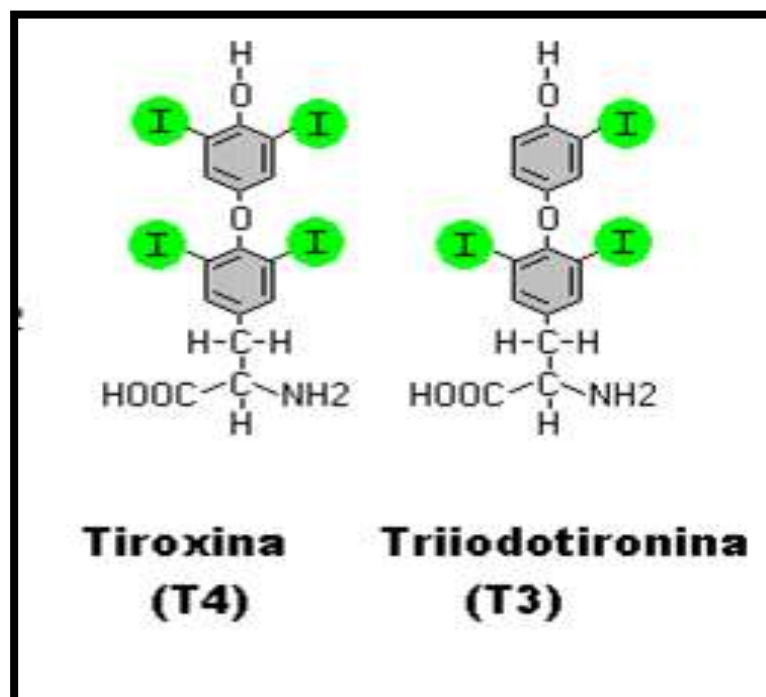


FIGURA 1. Estrutura molecular dos hormônios de T3 e T4¹⁵

A maior produção hormonal pela glândula tireóide é o T4, que atinge a maior concentração no plasma, o T3 atinge uma concentração menor. Cerca de 40% do T3 é produzido pelo T4. Isto se dá na presença de uma enzima chamada desalogenase, retirando uma molécula de iodo do T4, dando lugar ao T3. Essa transformação acontece quando o sangue passa pelo fígado, pelos rins e na interação com os leucócitos. Ambos são considerados bioativos¹⁶.

O hormônio livre é aquele que pode ser rapidamente utilizado pelos tecidos, enquanto que ligado à proteína, fica sob a forma de depósito e, quando liberado poderá se ligar aos receptores intracelulares (núcleo). Esses hormônios têm receptores específicos, porém a afinidade celular é maior pelo T3 ($K_{T3} > K_{T4}$), entretanto, o T4 controla por *feedback* negativo a produção de TRH¹⁷.

Suas principais funções são: agem no controle e manutenção da temperatura corporal, na renovação de quase todas as células do organismo, no metabolismo de proteínas, lipídeos e vitaminas, consumo de oxigênio, maturação do sistema nervoso central e autônomo, sistema esquelético, sistema cárdio-respiratório, pele, elementos sanguíneos e potencializa a ação de outros hormônios¹⁸.

Em um paciente hígido, quando o TSH aumenta, os hormônios T3 e T4 também aumentam. No hipertireoidismo isto não acontece, o TSH fica diminuído, e os hormônios T3 e T4, aumentados. Em alguns pacientes, observa-se a presença de um anticorpo, armazenado na glândula, chamado LATS (*Long Acting Thyroid Stimulating*), que compete com o TSH, inibindo-o, e ao mesmo tempo aumentando aceleradamente a quantidade dos hormônios T3 e T4, aumentando também o tamanho da glândula (bócio). O paciente apresenta nervosismo, irritabilidade, tremores, pouca resistência a ambientes quentes, pele vermelha, úmida e quente, bócio, mixedema, diarreia e exoftalmia.

Na cavidade oral as alterações observadas são: erupção dentária precoce, reabsorção óssea alveolar com molares frouxos, desmineralização óssea, polpa edematosa e odontoblastos e dentina irregulares.

No hipotireoidismo ocorre uma situação inversa, o TSH fica aumentado e os hormônios T3 e T4, diminuídos, podendo ser causado por atrofia ou perda tecidual, defeito de síntese de hormônio tireoideano (o que causa um aumento de TSH com formação de bócio), hipopituitarismo, atrofia idiopática, tireoidite de Hashimoto, disgenesias teciduais, carência de iodo (cretinismo), falta de resposta periférica ao hormônio da tireóide. O paciente apresenta fraqueza muscular, reflexos lentos, ganho de peso, hipotensão, bradicardia, constipação intestinal, fala lenta e pele fria, grossa e áspera.

Na cavidade oral as alterações observadas são: arco dentário pequeno com coroas normais, mandíbula pouco desenvolvida, mordida aberta, retardo na erupção dentária, troca de dentes decíduos protraída, crescimento radicular lento, canais pulpares amplos, hipoplasias de côneo, esmalte e dentina¹⁹. Cerca de 40% de pacientes portadores da Síndrome de Down apresentam hipotireoidismo²⁰. Na periodontia, por exemplo, um quadro de periodontite é potencializado pelo hipotireoidismo²¹. Na estomatologia, o hipotireoidismo pode provocar ulcerações linguais e também candidose, degeneração muco-cutânea que ocorre na boca²².

3.2- Indução ao hipotireoidismo pelo propiltiouracil

O 6-propil 2-tiouracil (SIGMA), é um derivado tioamídico considerado um agente antitireoideano que inibe a síntese dos hormônios da tireóide, substratos para a tireóide peroxidase, resultando no desvio do iodo na síntese dos hormônios tireoideanos, inibindo a conversão de T4 em T3, ação que pode contribuir na eficácia do tratamento clínico do hipertireoidismo.

Está indicado para atenuar o hipertireoidismo na tireoidectomia subtotal ou terapia com iodo radioativo, quando a tireoidectomia for contra-indicada ou não recomendável. Tem meia-vida plasmática de 2 horas, sua excreção é menor que 1% na urina, com biodisponibilidade variando entre 65 a 75%. A absorção ocorre 20 a 39 minutos após a dose administrada, com ligação protéica alta (80%). As principais reações adversas do propiltiouracil são: agranulocitose, alteração do paladar, inchaço, sonolência, náuseas e aumento das glândulas salivares²³.

A utilização do propiltiouracil na água de beber de ratas prenhas, do 6º dia de gestação até 30 dias do nascimento, permitiu que a prole descendente, então com hipotireoidismo, desenvolvesse uma alteração na transmissão dos impulsos nervosos na região CA1 do hipocampo²⁴.

A administração de propiltiouracil via intraperitoneal por 10 semanas evidenciou pelos cortes histológicos na mucosa gengival de ratos machos da linhagem *sprague-dawley*, uma diminuição da síntese das proteínas totais, sem alteração do colágeno, hidroxiprolina, DNA e na população celular²⁵.

Células tumorais de pulmão e próstata, inoculadas em flancos de ratos tratados com PTU, cresceram de forma reduzida em relação aos animais sem o uso da medicação²⁶.

Observou-se redução no *stress* oxidativo das células do íleo, fígado e estômago, em queimaduras de 90º C na região dorsal de ratos induzidos ao hipotireoidismo²⁷.

A diminuição dos níveis plasmáticos de T3 e T4 potencializou o quadro de periodontite preexistente, devido a um aumento de osteoclastos em ratos *wistar*²⁸.

É um fármaco muito utilizado em experimentos com roedores, diminuindo a atividade metabólica da glândula tireóide. Sua administração poderá ser utilizada na água *ad libitum*, via intraperitoneal, ou ainda, misturada à dieta²⁹.

3.3- O *laser* em baixa intensidade

A luz tem sido usada como forma de tratamento terapêutico desde a Antiguidade³⁰. Os gregos preconizavam o uso da helioterapia em doentes na recuperação da saúde. Na Idade Média, ela era usada no combate às pragas³¹.

Atualmente, o uso da luz ainda é recomendado pelos médicos, como por exemplo, em banhos de sol nos recém-nascidos e na atenuação da oleosidade da pele com acne³².

Somando-se os conhecimentos antigos com os estudos recentes da utilização da luz, surgiram os *lasers*. Essa modalidade de fototerapia tem como características: cromaticidade, sendo pura e colimada, com uma única cor, com as ondas sempre paralelas entre si, coerentes e unidirecionais³³.

Vários nomes são reportados na literatura: *laser* mole, *laser* de baixa reatividade, *laser* de baixa energia, *laser* frio, *laser* de baixa potência e *laser* de baixa intensidade³⁴.

É de suma importância ressaltar um protocolo específico para cada paciente, bem como a escolha do comprimento de onda, densidade de energia, densidade de potência, tipo de operação do *laser*, frequência do pulso, número de sessões, características ópticas dos tecidos, coeficientes de absorção e espalhamento, uma vez que seus efeitos são dose-dependentes, pois, segundo a lei de Arndt Schultz: "Pequenas doses estimulam os sistemas vivos, médias doses impedem e grandes doses destroem"³⁵.

Na odontologia, o *laser* em baixa intensidade torna a recuperação dos tecidos injuriados mais rápida e menos dolorosa, devido aos seus efeitos analgésicos, antiinflamatórios e biomoduladores, pois se observa nestes tecidos, um aumento de beta-endorfinas, alterações na microcirculação, na pressão hidrostática dos capilares e na reabsorção do edema com eliminação do acúmulo de catabólitos³⁶.

Alguns estudos mostram que o mecanismo de biomodulação está ligado à ativação dos componentes da cadeia respiratória da mitocôndria. A mitocôndria seria, então, por ação dos seus cromóforos, receptiva ao *laser*, aumentando o metabolismo respiratório de algumas células, devido ao aumento de ATP, estimulando o núcleo na produção de DNA e RNA, acelerando o tempo de mitose, promovendo a regeneração celular³⁷.

O *laser* de baixa intensidade é usado com a finalidade terapêutica, devido aos seus comprimentos de onda penetrarem nos tecidos biológicos³⁸. É uma modalidade segura de tratamento, devido a sua natureza atérmica, acalórica e por não haver destruição dos tecidos³⁹.

O *laser* tem sido utilizado no tratamento de várias patologias, entre elas a estomatite, úlceras traumáticas, aftas, pericoronarite, hipersensibilidade dentinária, parestesia, distúrbios da articulação temporo-mandibular, pericementite, alveolite, síndrome da ardência bucal, mucosite, cirurgia oral menor^{40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51}.

Em um estudo feito, observou-se que a laserterapia promoveu uma neoformação óssea no esqueleto, potencialização na ósseo-integração de implantes no osso tibial de coelhos, aceleração acentuada da mineralização na calota craniana de ratos e maior atividade na fisiologia dos fibroblastos em cultura de células gengivais⁵².

Sua aplicação sobre incisões feitas na pele do escalpo de ratos diabéticos promoveu uma bioestimulação mais rápida do que a observada no grupo controle⁵³.

Como auxiliar no tratamento da raspagem e alisamento radiculares, o *laser* não resultou em benefício clínico aparente em bolsas periodontais rasas à moderadas⁵⁴.

Na síndrome da dor crônica miofascial (fáscia muscular), o *laser*, quando aplicado à curto prazo, mostrou-se efetivo na recuperação dos movimentos do pescoço em um grupo de pacientes (n=30), quando comparado ao grupo placebo (*laser* desligado, n=30)⁵⁵.

Após 25 sessões, 65 a 90% dos pacientes (n=320), obtiveram resultados benéficos, quando da aplicação do *laser* nos *trigger points*.⁵⁶

Na parte sistêmica, acredita-se na ação do *laser*, devido à presença de prostaglandinas e endorfinas, considerados fotoprodutos que circulam no sangue e no sistema linfático, podendo persistir por horas ou semanas no organismo⁵⁷.

3.4- O *laser* na glândula tireóide

O profissional da clínica odontológica, através de estudos detalhados da homeostase e fisiopatologia da glândula tireóide e conhecedor da parte sistêmica do indivíduo, poderá obter uma maior aplicabilidade do uso do *laser*.

Alguns estudos em relação à utilização do *laser* com emissão infravermelha têm demonstrado um decréscimo nos níveis de T3 e T4, com acúmulo de material coloidal, aumento do TSH e mudanças no citoesqueleto⁵⁸.

Em outro trabalho, foram observadas mudanças no parênquima da glândula tireóide de ratos, com um aumento na atividade mitótica de células foliculares e hiperatividade transitória em alguns folículos da tireóide quando irradiada pelo *laser* em baixa intensidade, utilizando-se fluências diferentes (3,12J/cm² e 9,36J/cm²), por quinze dias⁵⁹.

Um estudo mais recente revelou que o *laser*, quando irradiado diretamente sobre o tecido tireoideano sadio, aumentou significativamente os níveis de T3 e T4, entre o primeiro dia de irradiação e sete dias após a última irradiação, utilizando-se 4J/cm² como fluência. O *laser* foi utilizado por três dias a cada 24 horas⁶⁰.

Outro estudo, comparando a velocidade de corrida realizada em uma esteira elétrica entre ratos sadios e ratos induzidos ao hipotireoidismo, notou-se que o segundo grupo correu menos devido à letargia e à lentidão nos reflexos, características desta patologia. Numa outra etapa, foi feita a aplicação do *laser* em baixa intensidade na região lombossacra desses animais e uma nova corrida foi realizada. Observou-se, então, que esses animais conseguiram atingir a mesma velocidade que o grupo não irradiado⁶¹.

Apesar de trabalhos na literatura reportarem o uso do *laser* na glândula tireóide, não há trabalhos que tenham investigado os efeitos da terapia a *laser* em pacientes com hipotireoidismo, durante um tratamento odontológico.

Este trabalho abre, portanto, um leque de opções e questionamentos, na irradiação acidental do *laser* na glândula tireóide induzida ao hipotireoidismo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os animais provenientes do Biotério do IPEN foram mantidos em gaiolas individuais com maravalha de *pinus*, alimentados com ração e água esterilizados por radiação gama e autoclave respectivamente, de forma *ad libitum*. As Normas Nacionais e internacionais de Bioética foram cumpridas, sendo este trabalho aprovado pelo Comitê de Ética do IPEN sob o número 51/09.

Foram utilizadas 39 ratas da linhagem *wistar* com quatro meses de idade, pesando aproximadamente 200 g. Trinta e seis animais foram separados e divididos em 18 para o grupo controle (GC) e 18 para o grupo *laser* (GL), e 3 para grupo padrão (GP) os quais foram utilizados para analisar o padrão da normalidade dos valores de T3 e T4. Foi administrado aos grupos controle e *laser*, 0.1% de propiltiouracil (SIGMA) por 19 dias consecutivos (D1 ao D19), via intraperitoneal, para a indução ao hipotireoidismo.

A partir dos dias D20, D21, D22 e D23 foram feitas as coletas de sangue pelo plexo orbitário, no canto interno, com pipeta de *Pasteur* nos dois grupos controle e *laser*, com os animais anestesiados com Xilazina (0.25ml /50g) e Chetamina (10%, 0.04ml/50g).

O *laser* utilizado foi o de baixa intensidade, Twin Laser da MMÓPTICS, emissão infravermelha, 780nm de comprimento de onda, potência de 30 mW, fluência de 4J/cm, energia de 0,12J e área do feixe de 0.031cm² A região da glândula tireóide foi delimitada em uma área de 1cm², que foi irradiada de forma pontual, 4 segundos por ponto, num total de 33 pontos (2' e 13"), sempre após as coletas 24, 48 e 72 horas. (FIGURAS 2 e 3).



FIGURA 2 Área delimitada



FIGURA 3 Laser in loco

O sangue coletado de cada três animais foi transferido para tubos Falcon, totalizando seis tubos para o grupo controle, seis para o grupo *laser* e um para o grupo massa, passando pelas seguintes fases:

1. Estufa a 37°C durante 30 minutos para a formação do coágulo
2. Geladeira a 4°C durante 10 minutos para a contração do coágulo
3. Centrifugação por 10 minutos a 2000 rpm
4. Pipetagem do soro
5. Obtenção das amostras em tubos de ensaio sem heparina, tampados e esterilizados

As amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo e conduzidas ao laboratório de análises clínicas CEPAV-Tecnologia em Saúde Animal, onde foi realizado o teste de radioimunoensaio⁶¹ (RIA), no anexo A, para obtenção dos valores hormonais (T3 e T4). Os animais foram descartados após o experimento, utilizando câmara de CO₂. A figura 4 representa a etapas do experimento:

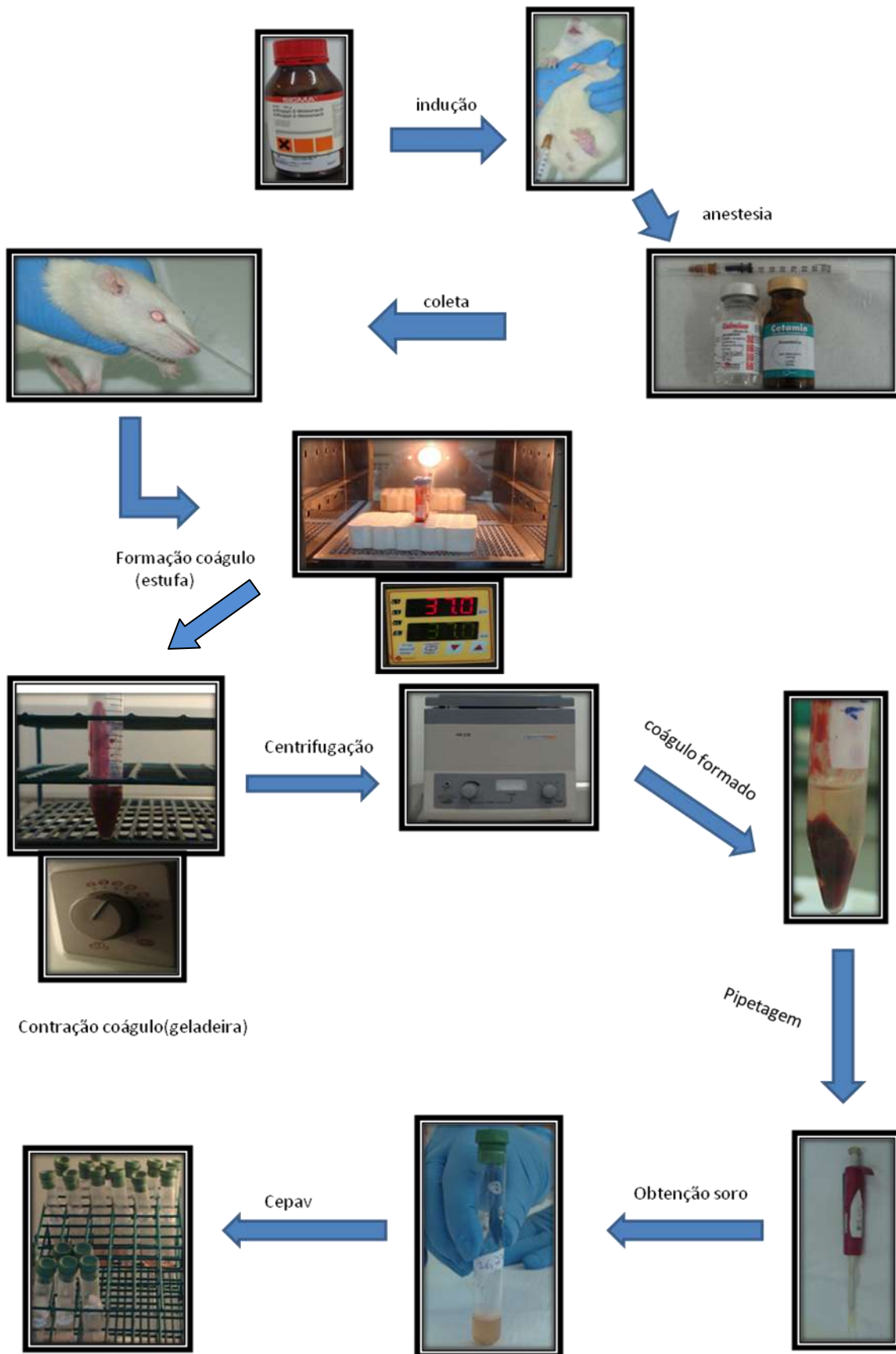


Figura 4- Etapas do procedimento para obtenção do soro.

4.1 Análise estatística

Em cada item dos resultados, foi adotado o nível de significância de 5% (0,05), para a aplicação dos testes estatísticos, ou seja, quando o valor da significância calculada (p) for menor do que 5% (0.050), observa-se uma diferença ou uma relação dita “estatisticamente significativa”, e, quando o valor da significância calculada (p) for igual ou maior do que 5% (0.050), observa-se uma diferença ou relação dita “estatisticamente não significativa”.

Foi usado o programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*), em sua versão 17.0, para a obtenção dos resultados. Os dados foram analisados e o teste estatístico adequado foi utilizado.

5-RESULTADOS

TABELA 1 Média± desvio padrão dos valores hormonais nos grupos controle e *laser* durante o experimento.

Variável	Grupo	n	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Significância (p)
D0 T3	CTRL	6	0,07	0,01	0,06	0,08	0,06	0,08	0,08	0,498
	LASER	6	0,07	0,01	0,06	0,08	0,06	0,07	0,07	
	Total	12	0,07	0,01	0,06	0,08	0,06	0,07	0,08	
D0 T4	CTRL	6	0,31	0,03	0,27	0,33	0,27	0,32	0,33	> 0,999
	LASER	6	0,31	0,03	0,29	0,36	0,29	0,31	0,33	
	Total	12	0,31	0,03	0,27	0,36	0,29	0,31	0,33	
D1 T3	CTRL	6	0,08	0,01	0,07	0,09	0,07	0,08	0,08	0,399
	LASER	6	0,08	0,02	0,03	0,09	0,07	0,08	0,09	
	Total	12	0,08	0,02	0,03	0,09	0,07	0,08	0,09	
D1 T4	CTRL	6	0,34	0,03	0,31	0,38	0,32	0,34	0,37	0,064
	LASER	6	0,37	0,02	0,34	0,40	0,35	0,37	0,40	
	Total	12	0,36	0,03	0,31	0,40	0,33	0,36	0,38	
D2 T3	CTRL	6	0,04	0,01	0,03	0,05	0,04	0,04	0,05	0,922
	LASER	5	0,04	0,01	0,03	0,05	0,04	0,04	0,05	
	Total	11	0,04	0,01	0,03	0,05	0,04	0,04	0,05	
D2 T4	CTRL	6	0,17	0,02	0,15	0,20	0,15	0,17	0,20	0,711
	LASER	5	0,29	0,28	0,13	0,80	0,15	0,18	0,50	
	Total	11	0,23	0,19	0,13	0,80	0,15	0,17	0,20	
D3 T3	CTRL	6	0,04	0,01	0,03	0,05	0,03	0,03	0,05	0,720
	LASER	6	0,04	0,01	0,02	0,06	0,03	0,03	0,05	
	Total	12	0,04	0,01	0,02	0,06	0,03	0,03	0,05	
D3 T4	CTRL	6	0,17	0,03	0,13	0,21	0,15	0,16	0,21	0,333
	LASER	6	0,17	0,06	0,12	0,27	0,12	0,14	0,22	
	Total	12	0,17	0,05	0,12	0,27	0,13	0,15	0,21	

Grupo padrão (GP): T3 =3,80ng/dl; T4=16,33µg/dl

Da tabela 1, observa-se que os grupos controle e *laser* foram induzidos ao hipofuncionamento glandular, pela diminuição constatada nos valores hormonais quando comparados ao grupo padrão que não recebeu o fármaco, porém, nota-se que os valores hormonais do grupo *laser* quando comparados aos valores do grupo controle não foram significativamente aumentados em todos os momentos da fase experimental.

No gráfico 1, tem-se:

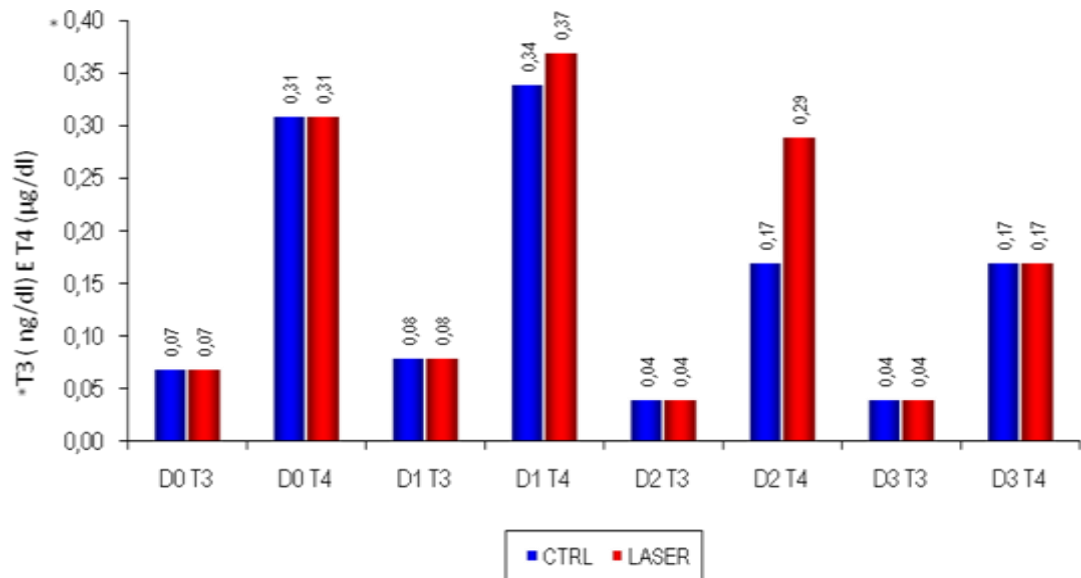


GRÁFICO 1 Média desvio \pm padrão dos valores hormonais dos dois grupos estudados

Observa-se do gráfico 1 que não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Podemos afirmar, então, que ambos os grupos são estatisticamente semelhantes.

6- DISCUSSÃO

Os efeitos do *laser* em baixa intensidade na glândula tireóide têm sido mostrados na literatura⁶⁰. Por isso, o que motivou este trabalho foi a preocupação em utilizar o *laser* em baixa intensidade no tratamento odontológico de pacientes com hipotireoidismo e o quanto este tratamento pudesse atuar nesta afecção pela proximidade da tireóide com a cavidade oral.

No melhor de nosso conhecimento, estudos com o *laser* em baixa intensidade em hipotireoidismo são escassos. Para tal, buscamos na literatura modelos que pudessem auxiliar na condução deste estudo e verificamos apenas a utilização de ratos submetidos à irradiação a *laser* em baixa intensidade apresentando a glândula tireóide sadia.⁵⁸.

Um fato que pode ser questionado é o motivo pelo qual o grupo padrão (GP) foi citado no método, uma vez que os valores de T3 e T4 não estão claramente definidos na literatura para as diversas linhagens de ratos normotireoideos. Por este motivo, julgamos conveniente buscar ao menos uma média de valores de T3 e T4 que pudessem ser interpretados como valores padrão.

Pelo alto custo das dosagens e que certamente aumentaria acentuadamente os gastos neste estudo, acreditamos que a análise de T3 e T4 de apenas três animais pudesse ser satisfatória ou suficiente, além das dosagens obrigatoriamente realizadas nos outros trinta e seis animais.

No entanto, nesta análise de três animais, foram encontradas médias de valores de T3 com 3,80 ng/dl e T4 com 16,33µg/dl. Afortunadamente, estes valores parecem sugerir realmente que a análise estatística, neste grupo, talvez seja realmente dispensável, quando comparado aos outros dois grupos, ou seja, controle e *laser*. (TABELA 1)

Na análise comparativa dos valores hormonais entre os grupos, observamos que não houve diferenças estatisticamente significantes. Podemos afirmar, então, que ambos os grupos são estatisticamente semelhantes. (Gráfico 1).

Era nossa expectativa que houvesse efeito do *laser* na normatização dos níveis de T3 e T4. Sabe-se que o *laser* em baixa intensidade tem efeitos de biomodulação em outras situações^{36,37,38}, porém isto não ocorreu no nosso estudo. No entanto, talvez não seja prudente, do ponto de vista científico,

afirmar que o *laser* não teve efeito sobre o tecido tireoideano. Na análise das condições deste estudo, algumas hipóteses podem explicar tais resultados:

- Tempo de observação
- Número da amostra (n)
- Parâmetros do *laser*
- Artefato de técnica do laboratório

Porém, em um estudo realizado em 1989, foram observadas mudanças morfológicas produzidas na glândula tireóide de ratos albinos após a irradiação com *laser* de emissão infravermelha, no comprimento de onda de 904nm, com diferentes fluências: 3,12J/cm² e 9,36J/cm², por quinze dias. Pela avaliação final nas mudanças verificadas na densidade dos volumes epitelial, coloidal e folicular, mostrou-se que o *laser* produziu mudanças no parênquima da tireóide normorreativa, provando uma relação direta entre a severidade da lesão e a energia de irradiação aplicada⁵⁹.

Neste estudo, a partir do sexto dia de indução do fármaco, observamos clinicamente que os animais apresentaram um comportamento letárgico com dificuldade de deambulação quando estimulados manualmente, caracterizando o hipofuncionamento glandular.

Este estudo, sem dúvida, abre perspectivas para este tipo de investigação, considerando a importância da terapêutica com o uso do *laser* em baixa intensidade, o qual tem se mostrado promissor e determinante no prognóstico de diversas afecções^{40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57}.

7- CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados neste trabalho podemos concluir:

- 1- O hipofuncionamento glandular foi constatado pelos resultados dos exames de radioimunoensaio, comprovando a eficácia do propiltiouracil, através dos baixos níveis de T3 e T4 nos grupos controle e *laser*.
- 2- Não houve efetividade biomodulatória do *laser* na glândula tireóide hipofuncionante no grupo irradiado.
- 3- Os parâmetros utilizados no *laser* em baixa intensidade não foram suficientes para reverter o hipotireoidismo.
- 5- Um estudo mais prolongado se faz necessário, para a obtenção de dados adicionais sobre o assunto.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1-TOMMASI, A. F. **Diagnóstico em Patologia Bucal**. 2 ed. Pancast, 1989. cap. 28, p. 527-538.

2- HORMÔNIOS. Disponível em:

<http://virtualpsy.locaweb.com.br/index.psh?sec=167art=254.>>, Acesso em: 25 junho 2010.

3- MARCONDES; SUSTOVICH; RAMOS. **Propedêutica e Fisiopatologia**. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976. cap. 14, p. 511-523.

4- VAN HARTEN, A. C. LEUE, C. VERHEY, F. R. J. Should depressive symptoms in patients with subclinical hypothyroidism be treated with thyroid hormone? **Journal of Psychiatry**. v. 50 , n. 8, p. 539-543, 2008.

5- GUTKNECHT, N. EDUARDO, C. P. A. **Odontologia e o laser**. Ed quintessence, 2004. cap 3, p.25-37.

6-SMITH, K. C. The Photobiological Basis of Low level Laser Radiation Therapy. Original Article by **John Wiley& Sons**. Ltd., 1991

7- INGBAR, S. H. & WOEBER, K. A. The thyroid gland. *In: Textbook of Endocrinology*. WILLIAMS, R. H., ed. Saunders, Philadelphia, p. 95, 1974.

8- ASHMED, A. M. **História dos Distúrbios da Função Tireoideana**. World Health Organization, v. 11 , n. 3, 2005.

9-SINGER, C. E. A. **Uma Breve história da medicina**. 2 ed, Oxford University Press, p.519-531, 1962.

10-MEDICINA E SAÚDE. **História da Medicina**. ed. Abril cultural, São Paulo, v.2, p. 492-495, 1967.

11- ERNEST HENRY STARLING (1866-1927).”The Scientist and the man”.**Journal of Medical Biography**. V. 13, p. 22-30.

12-BEESON; MCDERMOTT. **Tratado de Medicina**. 13ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1973. cap.8, p. 1736-1758.

13- ROBERT BERKOW. **Manual Merck de Medicina**. 16 ed. São Paulo: Rocca, 1992. cap. 8, p. 1045-1076.

14- DOUGLAS, C. R. **Fisiologia Aplicada À Prática odontológica**. ed. São Paulo: Pancast, 1988. cap 60, v.2, p. 805-816.

15- HORMÔNIOS T3 E T4. Disponível em:

www.googleimages.com.br, Acesso em: 25/junho/2010.

16-GUIMARÃES, X. R. GUERRA, C. C. C. **CLÍNICA E LABORATÓRIO**. ed. Sarvier, 1978. cap. 4, p. 131-137.

17- GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia médica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1989. cap. 76, p. 712- 720.

18- ROBERT BERKOW, M. D. **Manual Merck de Medicina**. 16 ed. São Paulo: Roca, 1992. cap.8, p. 1045 a 1076.

19- DOUGLAS, C. R. **Fisiologia Aplicada À Prática odontológica**. ed. São Paulo: Pancast, 1988. cap. 60, v.2, p. 814.

20- NISHIHARA, R.M. Alterations of TSH in Down's syndrome patients: a hard interpretation. **J Bras Pathol Med Lab**. v. 42, n. 5, p. 339-343, 2006.

21-RIBEIRO, I. W.; MICHYELE, C. S. Evaluation of the effect of the GaAIs Laser on subgingival Scaling and Root Planning. **Photomedicine and laser Surgery**. v.26, n.4, p. 387-391, 2007.

22-BROWN, A. E. Oral ulceration associated with hypothyroidism Report of a case. **Oral medicine**. v.46, n.2, p216-219, 1978.

23- SIDE EFFECTS PROPYLTHIOURACIL. Disponível em:

www.drugs.com/pro/propylthiouracil.html. >Acesso em: 16 abril 2009.

24-SUI, L.; GILBERT, M. E. Pre and postnatal propylthiouracil-induced hypothyroidism impairs synaptic transmission and plasticity in area CA1 of the neonatal rat hippocampus. **Endocrinology**, v.144(9) ,p. 4195-203, 2003.

25- DOUGLAS, N.; OLMEDO, P.; DOUGLAS, C. R.; MONTE, O. Influência do hipotireoidismo induzido por propiltiouracil na mucosa gengival do rato. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v. 50, n. 5, Oct 2006.

26- THEODOSSIOU, C. Propylthiouracil-Induced Hypothyroidism Reduces Xenograft Tumor Growth in Athymic Nude Mice. **American Cancer Society**.; v.86, n.8, p.1596-1601, Oct 1999.

- 27- SENER, G.; SEHIRLI, Ö.; VELIOGLU-ÖGÜNÇ, A.;ERCAN,F.; ER-CANLI, G.; GEDIK, N.; YEGEN, B. C. Propiltiouracil (PTU) induced hypothyroidism alleviates burn-induced multiple organ injury. **Burns.**, v. 32, p. 728-736, 2006.
- 28- FEITOSA, D. S.; MARQUES, M. R. The influence of thyroid hormones on periodontitis bone loss and tooth-supporting alveolar bone: a histological study in rats. **J Periodont Res.**, v.44, p. 472-478, 2009.
- 29-MATHEUS, G.; MATHEUS, M. T. G. Estudo histológico comparativo da tireóide de ratos tratados isoladamente ou em grupo com propiltiouracil . **Rev. Cienc. Biomed.**; v. 11, p. 13-18, 1990.
- 30-ROELANDTS, R. The History of Phototherapy: something new under the sun? **J Am Acad Dermatol.**; v.46, p. 926-930, 2002.
- 31 - HELIOTERAPIA. Disponível em:
<<http://members.fortunecity.com/fisio/rtm.html>>. Acesso em: 25 junho 2010.
- 32- ELMAN, M. LEBZELTER, J. Light therapy in the treatment of acne vulgaris. **Dermatol Surg.** v. 2, N Y, 2004.
- 33- KLEPPNER, D. Relendo Einstein sobre radiação. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 27, p. 87-91, 2004.
- 34- MAREI, M. K.ABDEL-MEQUID,S.H. MOKHTAR, S. A.RIZK, S.A. Effect of low energy laser application in the treatment of denture induce mucosal lesions. **J Prosthet Dent.** v.77, n.3. p. 256-264, 1997.
- 35- ROMANACH, A. K. **Imunomodulação, Ultradiluições e Isoterapia.** ed Elcid, 2003.
- 36-LAAKSO, E. L. Plasma ACTH and β - endorphina levels in response to low level laser therapy (LLLT) for myofascial trigger points. **Laser Therapy.** v. 6, p. 133-142, 1994.
- 37-KARU, T. I. Photobiological fundamentals of low power laser therapy. **IEER Journal Quantum Eletronics.** v. 10, p. 1703-1717, 1987.
- 38-GENOVESE, W. J. Laser de Baixa Intensidade. **Aplicações Terapêuticas em Odontologia.** Editora São Paulo: Santos, p. 1-130, 2007.
- 39-BEN, H. Cool lasers in dental medicine. **Dent News.** v.11, n.81, p. 7-11.
- 40- MAVER-BISCANIN, M. MRÁVAK-STIPETIC, M. JEROLIMOV, V. Effect of low-level laser therapy on *Candida albicans* growth in patients with denture stomatitis. **Photomed Laser Surg.** V.23, p. 328-332, 2005.

- 41- MAREI, M. K. ABDEL-MEGUID, S. H. MOKHTAR, S. A. RIZK. S. A Effect of low-energy laser application in the treatment of denture-induced mucosal lesions. **J Prosthet Den.** v. 77, p. 256-264, 1997.
- 42-COLVARD, M. KUO, P. Managing aphthous ulcers: lasertreatment applied. **J Am Dent Assoc.** v. 122, n. 7, p. 51-53, 1991.
- 43-DONATO, A. C. BORAKS, S. **Laser: clínicoaplicações práticas em odontoestomatologia.** ed: Robe, São Paulo, p. 158, 1993.
- 44- MELO, J. B. MELO, G. P. S. **Laser em Odontologia.** ed Santos, São Paulo, 2001.
- 45- OZEN, T. ORHAN, K. GORUR, I. OZTURK. A. Efficacy of low level laser therapy on neurosensory recovery after injury to the inferior alveolar nerve. **Head & Face Medicine.** p. 2-3, 2006.
- 46-EMSHOFF, R. BÖSCH, R. PÜMPEL, E. SCHÖNING, H. STROBL, H. Low-level laser therapy for treatment of temporomandibular joint pain: a double-blind and placebo-controlled trial. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** v. 105, p.452-456, 2008.
- 47-SULEVSKI, J. G. Historical survey of laser dentistry. **Dent Clin North Am.** v. 44, n. 4, p. 717-752, 2000.
- 48- BENEDICENTE, A. **Atlante di laserterapia del cavo-orale.** ed: Maggioli, Genova, p.105-107, 1982.
- 49-LADARDO, T.C, BRUGNERA JUNIOR, A., TAKAMOTO, M. A laserterapia no tratamento da Síndrome de Ardência Bucal- Relato de Caso Clínico. 20^º **Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo.** São Paulo, 2002.
- 50- ARUN MAIYA ,G., SAGAR, M.S., FERNANDES, D. Effect of low level helium-neon (He-Ne) laser therapy in the prevention & treatment of radiation induced mucositis in head & neck cancer patients. **Indian J Med Res .**v.124, p.399-402, 2006.
- 51—MARKOVIÇ, A. B. TODOROVIÇ, L. Postoperative analgesia after lower third molar surgery: contribution of the use of long-acting local anesthetics, low-power laser, and diclofenac. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** v. 102, p.4-8 2006.
- 52- KHADRA, M. The effect of low level laser irradiation on implant tissue interaction. In vivo and in vitro studies. **Swed Dent J. Suppl,** v. 172, p. 1-63, 2005.
- 53- AKYOL, G.; GÜNGÖRMUS, M. The effect of low level therapy on healing of skin incisions made using a Diode Laser in diabetic rats. **Photomed and laser surgery.** , v. 28, p.51-55, 2010.

- 54- RIBEIRO. Efeitos do laser de GaAlAs no alisamento radicular e raspagem subgingival. **Photomedicine and Laser Surgery**, v.26. n. 4, p. 387-391, 2008.
- 55- ALI GUR, M. D. AYSEGUL, Y. S. Efficacy of 904nm Gallium Arsenid low level laser therapy in the management of chronic myofascial pain in the neck. A double-blind and randomize controlled trial. **Laser and medicine.**, v.35, p. 229-235,2004.
- 56- SIERON, A. M. Personal experience in clinical use of low laser therapy. **Photomedicine and Laser Surgery**, v.52, p.13-5, 1995.
- 57-KAHRAMAN, S. A. Low-level laser therapy in oral and maxillofacial surgery. **Oral Maxillofac Surg Clin.** North Am., v. 16, p.277-288, 2004.
- 58- HERNANDÉZ, L. c.; SANTISTEBAN, P.; VALLE-SOTO, M. E. DEL.; AYALA, J. M.; VEJA, J. A. Changes in mRNA of thyroglobulin, cytoskeleton of thyroid cells and thyroid hormone levels induced by IR-laser irradiation. **Laser ther.**, v.4, p. 203-208, 1989.
- 59- PARRADO, C.; PELÁEZ, A.; VIDAL, L.; VARGAS, I. P. de. Quantitative study of the morfological changes in the thyroid gland following IR laser irradiation. **Med Sci**, v.5, n. 77 p.77-80, August 1989.
- 60- AZEVEDO, L. H.Evaluation of Low Intensity Laser Effects on the Thyroid Gland of Male Mice. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 23, n. 6,p.567-570,2005.
- 61- BRUK, T. M.; MOLOTKOV, O. V. Effect of Low-Intensity LASER Radiation on Working Capacity of Animals with Modified Endocrine Status. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine.**; v. 124, n. 8,p. 165-167, August, 1997.
- 62- METODOLOGIA E APLICAÇÕES DE RADIOISÓTOPOS. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Disponível em: <www.fcf.usp.br/ Disciplinas/.../ aulas teor.Html.> Acesso em: 30 ago 2009

ANEXO A

Radioimunoensaio

Para quantificar uma substância X, num meio complexo contendo muitas impurezas, é necessário isolar uma substância X e medi-las por um processo químico. Alternativamente, se a substância X reage especificamente com algum reagente R, então pode-se reagir X com quantidades substequiométricas de R e quantificar X usando uma curva padrão ou curva de dose *versus* resposta. Este princípio sempre foi amplamente usado em química convencional.

Técnicas substequiométricas são aquelas que a concentração de um dos reagentes é fixa e em quantidade limitada no contexto da reação. Geralmente a substância teste X varia, enquanto o número de moléculas do reagente específico R é fixo. Após X reagir com R a fração livre de X e a fração complexada ou reagida são separadas por algum processo físico-químico adequado. Agentes precipitantes, ação de centrifugação, eletroforese e métodos cromatográficos são utilizados para separar X de RX.

As substâncias dos fluidos biológicos são complexas, por exemplo, as proteínas, enzimas e hormônios são moléculas muito complexas tanto em número de átomos como no aspecto funcional. Até o início da década de 60 não se conhecia um reagente R capaz de reagir especificamente com cada tipo de proteína e com os hormônios peptídeos ou protéicos.

No final de 1959, dois pesquisadores do NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH em Bethesda-EUA, Berson (médico) e Rosalyn Yallow (física), estudavam a biocinética da insulina em seres humanos. Nessa época era muito comum o uso da insulina bovina ou humana. Eles perceberam o potencial de usar anticorpos como aquele agente específico que estava faltando para reagir com as moléculas biológicas complexas, descobrindo uma das ferramentas mais importantes da análise clínica: os ensaios imunorreativos. Na época, os traçadores radioativos eram praticamente a alternativa mais sensível para acompanhar as reações químicas e daí terem usados os traçadores radioativos com ^{125}I ou ^3H . Por isso os ensaios imunométricos foram denominados de radioimunoensaios.

Mais recentemente, o traçador radioativo vem sendo substituído por moléculas com produtos fluorescentes ou com terras raras, como o Európio, entretanto, o princípio fundamental é o mesmo.

O cerne do ensaio é a descoberta do reagente específico: o anticorpo com associação do princípio substequiométrico ou ensaios por saturação.⁶⁰



Parecer - Projeto Nº 051/09 - CEPA-IPEN/SP

Com base nos pareceres apresentados pelos relatores, o protocolo de pesquisa **“EFEITOS DO LASER EM BAIXA INTENSIDADE EM RATOS COM HIPOTIREOIDISMO INDUZIDO PELO PTU (PROPILTIOURACIL)”** de responsabilidade da pesquisadora **MARTHA SIMÕES RIBEIRO** foi considerado **APROVADO**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados, a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou finais, dependendo da duração do projeto) referentes ao andamento da pesquisa. Após o término da pesquisa, uma cópia do trabalho, em CD ou disquete, deve ser encaminhada a este CEPA.

São Paulo, 15 de dezembro de 2009

Prof. Dra. Nanci de Nascimento
Coordenadora do CEPA-IPEN