

POTENCIAL GENOTÓXICO DA LASERTERAPIA EM PROLE DE *Rattus norvegicus* (WISTARS)

Deborah de Souza DALLES¹; Eduardo S. ELER²; Ayrles S. G. B. MENDONÇA³; Eliana FELDBERG⁴

¹Bolsista PAIC/FAPEAM-INPA; ²Coorientador Laboratório de Genética Animal/INPA/GCBEV;

³Colaborador/UFAM; ⁴Orientadora Laboratório de Genética Animal/INPA

1. Introdução

O termo *laser* é uma abreviação em inglês que significa “*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*” (amplificação da luz através da emissão estimulada de radiação) (Bossini 2007). A terapia usual dessa radiação se caracteriza como laserterapia, a qual é frequentemente utilizada no tratamento de quadros patológicos ou estéticos através do emprego de radiação de baixa intensidade, não devendo promover efeitos térmicos nos tecidos irradiados. Quando absorvida, a energia *laser* faz com que biomoléculas específicas alcancem um estado de excitação eletrônica, no qual são capazes de sofrer reações químicas como oxidação, redução, isomerização, ruptura de ligações covalentes ou interações com outras biomoléculas. Esse quadro excitatório possibilitará, entre outros fatores, o aumento da produção de ATP, aumento da taxa metabólica e conseqüentemente, aumento na taxa de multiplicação de células como os fibroblastos, fatores que são imprescindíveis à cicatrização tecidual (Baldan *et al.* 2012). Em geral, as contra-indicações do laser não mudaram muito ao longo do tempo, desde meados dos anos 80 até os dias atuais, evidenciando a importância de comprovação científica de algumas das contra-indicações que não estão bem elucidadas (Melo *et al.* 2006; Hu *et al.* 2007). Desse modo, analisando-se o “Chartered Society of Physiotherapy: *Safety of electrotherapy Guidance*”, ainda é possível a busca “atual” de informações adicionais referentes a esse quesito. Assim, quando se trata de terapia em gestante, não se faz o uso da laserterapia, devido a ausência de evidências fortes que mostrem que não há risco para o feto, representando, essa cautela, uma precaução convencional. Desse modo, é imprescindível que haja a avaliação dos possíveis efeitos genotóxicos da aplicação do *laser* em útero gravídico, uma vez que evidenciando tal efeito ficará elucidado seu malefício. Diante disso e pensando nas possíveis contra-indicações da laserterapia, encontra-se a gestação como sendo de precaução relativa, visto que não existem comprovações nem estudos mais precisos sobre o risco da laserterapia para o feto, o que leva à reflexão se a aplicação do *laser* seria potencialmente mutagênica ou não. Para testar o efeito mutagênico da laserterapia, escolhemos estudar a prole de roedores da raça Wistar (*Rattus norvegicus*, espécie comumente criada em biotérios e amplamente utilizada como cobaia nos mais diversos experimentos científicos) submetidos a esse tratamento, reproduzindo situações em que o ser humano é quem estaria exposto a estes agentes. Para esse estudo foi realizada a análise do cariótipo corado em Giemsa, uma vez que a radiação *laser* pode gerar quebras nos cromossomos mitóticos e conseqüente perda destas regiões, formando uma região de *gap* facilmente identificada pela coloração convencional (Baldan *et al.* 2012).

2. Material e Métodos

A metodologia foi dividida em duas fases: indução de feridas em ratas prenhas e posterior tratamento destas por laserterapia; e a análise do efeito genotóxico da laserterapia na prole dessas ratas.

Fase 1 - Laserterapia

Esta fase foi realizada no Biotério do INPA. Foram utilizadas 6 fêmeas prenhas de *Rattus norvegicus* (Wistar), divididas em dois grupos:

Grupo I – 3 ratas, que foram tratadas com aplicação de LASER 4J/cm².

Grupo II – 3 ratas, que não receberam nenhum tipo de tratamento (grupo controle).

As ratas prenhas foram submetidas à laserterapia diariamente, durante todo o período de gestação (aproximadamente 20 dias). O tempo de exposição ao *laser* foi de 2 segundos por sessão, mantendo a fonte de *laser* bem próxima à pele do animal, porém sem tocá-la.

Fase 2 - Análise do efeito genotóxico da laserterapia

Os possíveis efeitos genotóxicos da laserterapia no genoma foram avaliados citogeneticamente na prole das ratas grávidas submetidas ao tratamento, sendo analisados 5 filhotes por grupo. Cromossomos mitóticos foram obtidos a partir de células da medula óssea dos indivíduos, conforme Ford e Harmerton (1956), utilizando colchicina a 0,0125% para bloqueio da divisão celular, KCl a 0,075M durante 30 minutos para hipotonização das células, e fixador Carnoy (metanol 3:1 ácido acético) para preservação das células hipotonizadas. As lâminas foram coradas convencionalmente com solução de Giemsa a 5%; as metáfases foram fotografadas e os cromossomos montados em ordem decrescente e ordenados conforme Levan *et al.* (1964). E para distinguir constricções secundárias foi utilizada a impregnação com AgNO₃, que marca especificamente as regiões organizadoras dos nucléolos (dados não mostrados).

3. Resultados e Discussão

Foram analisados cinco indivíduos do grupo I, tratados com laser 4J/cm², e cinco indivíduos do grupo II, grupo controle. Todos os animais apresentaram 2n=42 cromossomos e NF=62. Comparando os dois grupos analisados foram identificadas alterações na cicatrização, onde as lesões do grupo tratado tiveram uma cicatrização mais rápida que as do grupo controle (dados não mostrados). Apenas em um dos filhotes do grupo I foi verificada uma alteração cromossômica (Fig. 1) que se tratava de uma deleção em parte do braço longo de um cromossomo do par 8, chamada de deleção intercalar ou “gap” (Fig. 1b).

De acordo com a análise de outros indivíduos do mesmo grupo (Fig. 2) e do grupo controle (Fig. 3) não foi encontrada nenhuma alteração cariotípica. Entretanto, com esta análise ainda não é possível afirmar que a laserterapia não provoca rearranjos cromossômicos, pois a quantidade de indivíduos analisados não foi suficiente para isso, sendo ainda necessários mais estudos. Devido à ausência de literatura sobre a laserterapia em útero gravídico, as análises feitas precisarão ser avaliadas profundamente, utilizando os mesmos materiais, porém com outras técnicas, como o teste do micronúcleo.

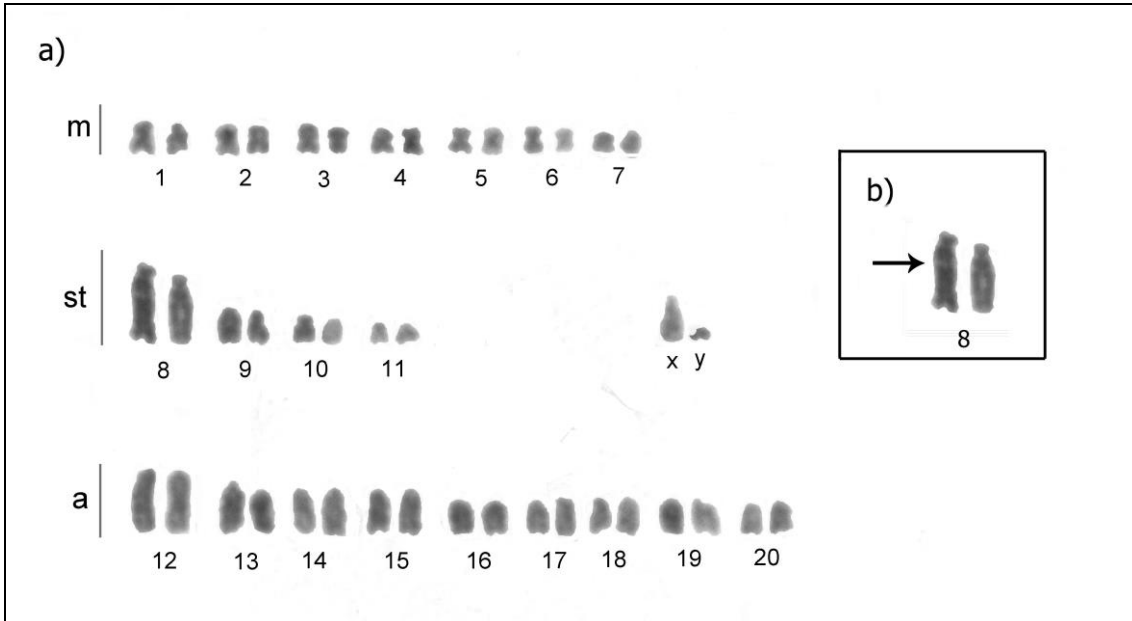


Figura 1 – a) Cariótipo de um indivíduo pertencente ao grupo I tratado com laser 4J/cm²; b) Par de cromossomos nº 8 ampliado para ressaltar a alteração cromossômica.

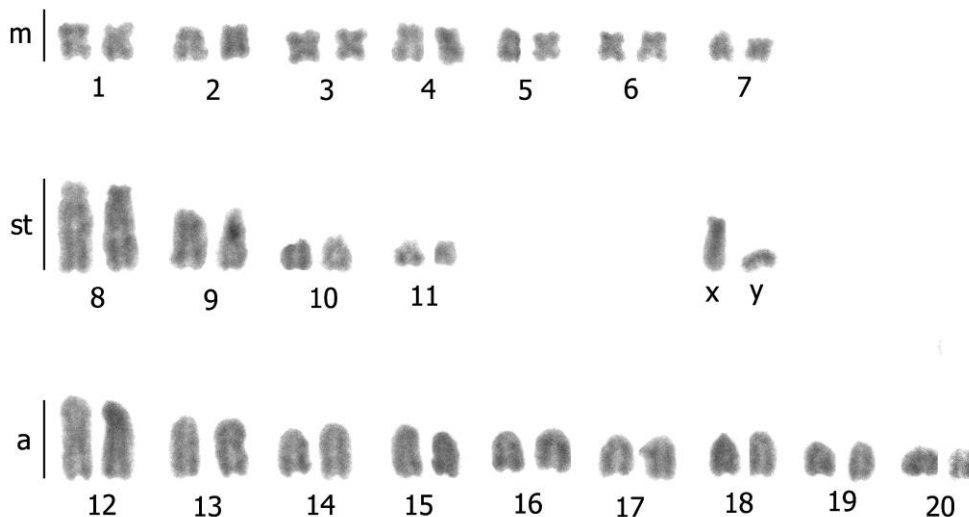


Figura 2 – Cariótipo de um indivíduo pertencente ao grupo I, tratado com laser 4J/cm², sem alteração cromossômica.

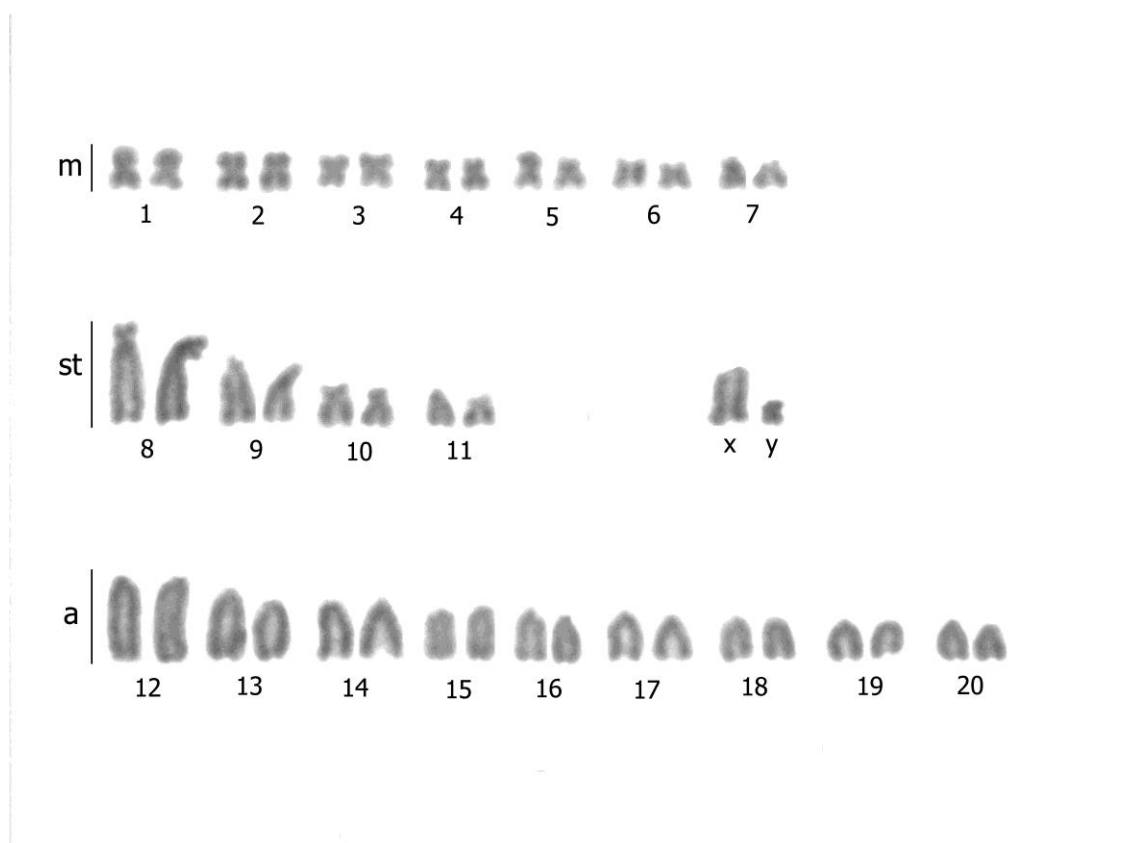


Figura 3 – Cariótipo de um indivíduo pertencente ao grupo II, grupo controle sem nenhuma alteração.

4. Conclusão

Os padrões cromossômicos obtidos para o grupo controle e para o grupo tratado com laser 4J/cm² não mostraram alterações no cariótipo em coloração convencional, podendo não haver efeitos mutagênicos. No entanto, estes dados ainda não são suficientes para se concluir que este tipo de terapia pode ou não gerar efeito genotóxico à prole de uma rato prenha.

5. Referências Bibliográficas

- Baldan, C.S.; Marques, A.P.; Schiavinato, A.M.; Casarotto, R.A. 2012. The effects of different doses of 670 nm diode laser on skin flap survival in rats. *Acta Cir. Bras.* [online], 27(2): 155-161.
- Bossini, P.S. 2007. *Laser de baixa intensidade (670nm) na viabilidade do retalho cutâneo randômico em ratos*. Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 132pp.
- Ford, C.; Hamerton, J. 1956. A colchicines hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain Technology*, 31: 247-251.
- Hu, W.P.; Wang, J.J.; Yu, C.L.; Lan, C.C.; Chen, G.S.; Yu, H.S. 2007. Helium-neon laser irradiation stimulates cell proliferation through photostimulatory effects in mitochondria. *J Invest Dermatol*, 127(8): 2048-2057.
- Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Mello, P.B.; Sampedro, R.M.F.; Piccinini, A.M. 2006. Efeitos do laser HeNe e do modo de aplicação no processo de cicatrização de queimaduras em ratos. *Fisioterapia e Pesquisa*, 14: 6-13.