

BRUNA RODRIGUES FRONZA

**EFEITO DA LASERTERAPIA NO FUNCIONAMENTO DA GLÂNDULA TIREÓIDE:
ESTUDO EM COELHOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do grau de Doutora em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Orientador: Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber

PORTO ALEGRE

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

F936e Fronza, Bruna Rodrigues.
Efeito da laserterapia no funcionamento da glândula tireóide : estudo em coelhos / Bruna Rodrigues Fronza. – 2009.
100 f. : il. color.

Tese (Doutorado) - Fac. de Odontologia, PUCRS, 2009.
Orientação: Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber.

1. Odontologia. 2. Traumatologia Bucocomaxilofacial.
3. Glândula Tireóide. 4. Laser – Terapia. 5. Laser de Baixa Intensidade. 6. Coelhos – Experiência. I. Título. II. Weber, João Batista Blessmann.

CDD 617.52

Bibliotecária Responsável: Deisi Hauenstein CRB-10/1479

BRUNA RODRIGUES FRONZA

**EFEITO DA LASERTERAPIA NO FUNCIONAMENTO DA GLÂNDULA TIREÓIDE:
ESTUDO EM COELHOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do grau de Doutora em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

APROVADA PELA BANCA EXAMINADORA

Porto Alegre, 14 de agosto de 2009.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber

Prof. Dr. Jorge Abel Flores

Prof. Dr. Aurelício Novaes Silva Júnior

Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira

Prof. Dr. Flávio Augusto Marsiaj Oliveira



DEDICATÓRIA

*Aos meus queridos pais, **José** e **Norma**, pela ajuda incondicional na minha formação, amor, dedicação e incentivo.*

*Ao **Vinicius**, meu noivo, pelo amor, compreensão e apoio irrestrito em todos os momentos.*

Essa conquista tão sonhada, dedico a vocês. O meu carinho e minha eterna gratidão.



AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber**, que, com muita dedicação, me orientou, incentivou e acreditou no desenvolvimento desta pesquisa. Muito obrigada por toda a paciência e colaboração.

À **Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira**, a quem tenho grande respeito e admiração, por ser uma profissional competente, determinada e dedicada ao extremo. Agradeço pelo apoio durante toda a minha jornada nesta Universidade.

À minha colega e grande amiga, **Dra. Taís Somacal Novaes Silva**, a sua ajuda na fase experimental deste trabalho e seu incentivo foram essenciais para que eu conquistasse essa etapa da minha vida. Você é uma pessoa de grande coração. Muito obrigada por tudo.

À Médica Veterinária da FEPPS **Dra. Luiza Gomes de Macedo Braga**. Sua competência profissional possibilitou a realização dessa pesquisa.

Aos colegas de Pós-Graduação, **Ana Cláudia Lustosa Pereira, Henrique Telles Ramos de Oliveira, Otacílio Chagas Júnior e Airton Chaves**. Amigos que compartilharam todos os momentos desta caminhada.

Aos **Professores do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da PUCRS**, pelos ensinamentos transmitidos, dedicação e amizade construídas neste período.

À **Profa. Simone Escheveste**, pela contribuição na análise estatística deste trabalho.

Ao **Dr. Waldemar Daudt Polido**, um Mestre, exemplo de competência profissional. Muito obrigada pelo incentivo e por acreditar no meu potencial.

Aos meus grandes amigos e parceiros **Vanessa Moraes e Rodrigo, Rodrigo Grassi, Daniel Mazzoleni, Eduardo Waysel, Jaqueline Caíno, Aurelício Novaes Júnior, Anete Krebs**, pelos momentos especiais de convívio e apoio para a superação dos obstáculos.

À minha irmã **Renata** e ao meu cunhado **Andriei**. Vocês também fazem parte dessa conquista.

À **família Rampf**, pela atenção e apoio dispensados.

À **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**, na pessoa do Reitor, **Prof. Dr. Joaquim Clotet**.

À **Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**, na pessoa do seu Diretor, **Prof. Marcos Túlio Mazzini Carvalho**.

Ao **Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da PUCRS**, **Prof. Dr. José Antônio Poli de Figueiredo**.

Aos funcionários, da Secretaria de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da PUCRS: **Marcos, Ana, Davenir e Carlos** pela atenção e gentileza com que sempre me atenderam.

À **CAPES**, pelo financiamento deste curso de pós-graduação.

A tantos outros amigos, professores, que, de algum modo e em algum momento da minha vida, colaboraram para que eu pudesse concluir este trabalho. O meu sincero agradecimento.



ΕΠΪΓΡΑΦΕ

***O sucesso nasce do querer, da determinação
e persistência em se chegar a um objetivo.
Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e
vence obstáculos, no mínimo fará coisas
admiráveis.***

José de Alencar



RESUMO

RESUMO

Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da laserterapia no funcionamento da glândula tireóide, através da mensuração dos níveis hormonais de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) no soro sanguíneo de coelhos. Para tanto, foram utilizados 24 coelhos da raça Nova Zelândia, machos, distribuídos aleatoriamente em três grupos: o grupo controle (animais não irradiados), grupo EI (*laser* aplicado sobre o alvéolo pós-extração do incisivo inferior) e grupo EII (*laser* aplicado sobre a região da glândula tireóide). Todos os animais foram submetidos à exodontia do incisivo inferior esquerdo, criando uma condição clínica inicial de igualdade entre os grupos. Os animais dos grupos experimentais foram irradiados, com o *laser* GaAlAs ($\lambda=830$ nm, 40mW), durante 13 dias, a cada 48 horas, com uma dose de 120 J/cm^2 por sessão. O protocolo de irradiação foi iniciado imediatamente após o procedimento cirúrgico nos animais. As dosagens hormonais de T_3 e T_4 foram realizadas nos três grupos antes da exodontia e no último dia de observação do experimento (15º dia). Os resultados obtidos não demonstraram diferenças estatisticamente significativas nos valores de T_3 e T_4 pré e pós-aplicação do *laser* entre os grupos estudados. Conclui-se que a laserterapia, no protocolo de irradiação utilizado neste estudo, não alterou os níveis hormonais de T_3 e T_4 circulantes no soro de coelhos.

Palavras-chave¹: Glândula Tireóide; Terapia a *Laser* de Baixa Intensidade; Hormônios Tireóideos.

¹ Descritores em Ciência da Saúde (DeCS); disponível em: <<http://decs.bvs.br/>>. Acesso em: 30 jun. 2009.



ABSTRACT

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of low-level laser therapy (LLLT) on the functioning of the thyroid gland, by measuring the hormonal levels of triiodothyronine (T_3) and thyroxine (T_4) in the serum of rabbits. Twenty four male New Zealand rabbits were randomly distributed into three groups: the control group (non-irradiated animals), group EI (laser applied in the dental alveolus of the lower incisor) and group EII (laser applied on the region of the thyroid gland). The rabbits were subjected to extraction of lower left incisor, creating an initial clinical condition of equality between the groups. The animals of experimental groups were irradiated with a GaAlAs laser ($\lambda=830$ nm, 40mW), for 13 days, every 48 hours, with a dose of 120 J/cm^2 per session. The protocol of irradiation was initiated immediately after the surgery. The dosages of hormones T_3 and T_4 were performed in three groups before the extraction and the last day of observation of the experiment (15th day). The results obtained showed no statistically significant differences in the values of T_3 and T_4 pre and post-application of the laser between the groups. It was concluded that the LLLT, in the protocol of irradiation used for this study, did not alter the hormone levels of T_3 and T_4 circulating in the serum of rabbits.

Keywords²: Thyroid Gland; Laser therapy, low Level; Thyroid Hormones.

² Medical Subject Headings (MeSH), disponível em: <<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>>. Acesso em: 30 jun. 2009.



LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Alojamento dos coelhos em gaiolas individuais suspensas durante o período experimental	52
Figura 2 - Antissepsia da região do incisivo inferior esquerdo previamente à exodontia	53
Figura 3 - Infiltração de anestésico na região alveolar do incisivo inferior esquerdo	53
Figura 4 - Realização da sindesmotomia no incisivo inferior esquerdo	54
Figuras 5A e 5B - Exodontia do incisivo inferior esquerdo (A); alvéolo pós-exodontia (B)	54
Figura 6 - Sutura do alvéolo com mononylon 4-0	55
Figura 7 - Demarcação da região que corresponde a glândula tireóide nos coelhos	55
Figura 8 - Aparelho Thera Lase®	56
Figura 9 - Aplicação do <i>laser</i> GaAIs sobre o alvéolo dentário	58
Figura 10 - Aplicação do <i>laser</i> GaAIs sobre a glândula tireóide	59
Figuras 11A e 11B - Coleta do sangue através da veia marginal da orelha (A) utilizando tubos Vacutainer® sem anticoagulantes (B)	60



LISTA DE QUADROS

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Organização dos grupos	50
Quadro 2 - Protocolo de irradiação com <i>laser</i> GaAIs (doses totais por grupo) ..	58



LISTA DE GRÁFICOS

LISTA DE GRÁFICOS

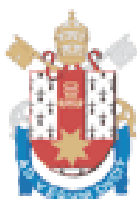
Gráfico 1 - Comparação dos valores para T_3 e T_4 pré x pós-aplicação do <i>laser</i> nos grupos estudados.....	64
Gráfico 2 - Comparação da Diferença dos valores hormonais pós – pré-aplicação do <i>laser</i> entre os grupos estudados	65



LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação dos valores para T_3 e T_4 pré x pós-aplicação do <i>laser</i> nos grupos estudados.....	63
Tabela 2 - Comparação da Diferença dos valores hormonais pós – pré-aplicação do <i>laser</i> entre os grupos estudados.....	64



LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
cm	centímetro
cm ²	centímetro quadrado
CPEA	Coordenação de Produção e Experimentação Animal
CTBMF	Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial
DE	Densidade de energia
dl	decilitro
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
et al.	e colaboradores
FEPPS	Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde
GaAIs	Arseneto de Gálio e Alumínio
GaAs	Arseneto de Gálio
HILT	<i>Hight Intensity Laser Treatment</i>
HLLT	<i>Hight reactive - Level Laser Treatment</i>
HeNe	Hélio-Neônio
hs	horas
InGaAlP	Fosfeto de Índio-Gálio-Alumínio
J/cm ²	Joule por centímetro quadrado
kg	quilograma
LASER	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>
LILT	<i>Low Intensity Level Treatment</i>
LLLT	<i>Low Level Laser Therapy</i>
LTDA	Limitada
mg	miligrama
ml	mililitro
mm	milímetro
mW	miliwatts
mW/cm ²	miliwatts por centímetro quadrado
n°	número
ng	nanograma

nm	nanômetro
p	probabilidade de erro
P	potência
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
RIE	Radioimunoensaio
s	segundos
SPSS	<i>Statistical Package for Social Science</i>
TRH	Tireotropina
TSH	Hormônio estimulador da tireóide
T ₃	Triiodotironina
T ₄	Tiroxina
W	Watt
λ	lambda = comprimento de onda
β	beta
®	marca registrada
%	porcento, porcentagem / percentagem
≤	menor ou igual
=	igual



SUMÁRIO

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	29
2 REVISTA DA LITERATURA	32
2.1 <i>LASER</i>	32
2.2 LLLT (<i>Low Level Laser Therapy</i>).....	34
2.3 EFEITO SISTÊMICO DO <i>LASER</i>	37
2.4 EFEITO DO <i>LASER</i> SOBRE O TECIDO GLANDULAR	38
2.5 GLÂNDULA TIREÓIDE	40
2.6 EFEITO DO <i>LASER</i> SOBRE A GLÂNDULA TIREÓIDE	42
3 METODOLOGIA	47
3.1 RESPALDO ÉTICO DA PESQUISA	47
3.2 CARACTERIZAÇÃO	47
3.3 PARADIGMA	47
3.4 VARIÁVEIS	48
3.4.1 Variável Dependente	48
3.4.2 Variáveis Independentes	48
3.5 DEFINIÇÃO CONCEITUAL	48
3.5.1 Laser Diodo GaAIs	48
3.5.2 Glândula Tireóide	49
3.5.3 Triiodotironina (T3) e Tiroxina (T4)	49
3.6 PROBLEMA	49
3.7 HIPÓTESES	49
3.8 CONFIGURAÇÃO DA AMOSTRA	50
3.9 ORGANIZAÇÃO DOS GRUPOS	50
3.10 INSTALAÇÕES	51
3.11 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	52
3.12 IRRADIAÇÃO COM <i>LASER</i>	56
3.12.1 Grupo Experimental EI	57

3.12.2 Grupo Experimental EII	57
3.13 DOSAGEM HORMONAL	59
3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA	60
4 RESULTADOS	63
5 DISCUSSÃO	67
6 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	74
APÊNDICE A - Anatomia interna do coelho	82
APÊNDICE B - Resultados das dosagens hormonais pré-aplicação do laser	83
APÊNDICE C - Resultados das dosagens hormonais pós-aplicação do laser	84
ANEXO A - Protocolo da Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS	86
ANEXO B - Protocolo do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS	87
ANEXO C - Normas para a Prática Didático Científica da Vivisseção em Animais	88
ANEXO D - Princípios Éticos na Pesquisa Experimental	90
ANEXO E - Declaração da Coordenação de Produção e Experimentação Animal da FEPPS para realização da pesquisa	92
ANEXO F - Laudo da intensidade do aparelho Thera Lase® realizado pelo Departamento de Física da PUCRS	93
ANEXO G - Autorização do Laboratório Veterinário - Laborvet para realização da pesquisa	96
ANEXO H - Teste imunoenzimático – ELISA	97



INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, os equipamentos emissores da radiação *laser* têm sido utilizados em processos terapêuticos e no auxílio ao diagnóstico, por profissionais que atuam nas diversas áreas da saúde. Na Odontologia, o uso do *laser* com diferentes comprimentos de onda e em distintas aplicações no campo da saúde bucal possibilitou o uso desta tecnologia nos mais diversos procedimentos clínicos.

A LLLT (*Low Level Laser Therapy*) tem sido indicada para promover a regeneração tecidual, tendo como vantagens: a estimulação da cicatrização, redução da inflamação e o controle da dor pós-operatória (PINHEIRO; FRAME, 1992). Esta terapia promove mudanças de caráter metabólico, energético e funcional nos corpos submetidos à radiação, permitindo a evolução para a cura em um curto período de tempo (BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003; CATÃO, 2004).

Os *lasers* de diodo são usados com o propósito terapêutico, em virtude das baixas densidades de energias usadas e comprimento de onda capaz de penetrar nos tecidos (CATÃO, 2004).

Os efeitos fotoquímicos, fotofísicos e fotobiológicos gerados pela luz *laser* afetam não somente a área sob aplicação, mas também regiões mais profundas (ALMEIDA-LOPES, 2003). Sabe-se a que biomodulação promovida pelo *laser* em células no local de sua aplicação pode igualmente ocorrer em tecidos à distância do ponto de irradiação (ROCHKIND et al., 1989). Portanto, quando se realiza a LLLT, pode-se atingir órgãos distantes do local de irradiação.

Embora a LLLT tenha se tornado uma prática comum nas áreas biomédicas, ainda não se tem um entendimento claro sobre seus possíveis efeitos colaterais. Estudos com relação à utilização do *laser* de emissão infravermelha sobre a glândula tireóide têm demonstrado um aumento na atividade mitótica de células foliculares, hiperatividade transitória em alguns folículos (PÉREZ DE VARGAS et al., 1987; PARRADO et al., 1990) e alterações dos níveis hormonais de triiodotironina (T₃) e tiroxina (T₄) circulantes no soro sanguíneo (AZEVEDO et al., 2005).

A tireóide é uma importante glândula do organismo humano e produz hormônios que tem como uma das suas principais funções regular o metabolismo corpóreo. Quando sua função não é adequada, podem ocorrer repercussões no

organismo em graus variáveis de severidade, desde sintomas que muitas vezes podem passar despercebidos até formas extremamente graves que podem trazer risco de vida (GUYTON; HALL, 2006).

Anormalidades estruturais ou funcionais da tireóide podem levar a uma deficiência de produção dos hormônios tireoidianos (tiroxina e triiodotironina) afetando o metabolismo de todos os órgãos e sistemas (SONIS; FAZIO; FANG, 1996; GUYTON; HALL, 2006).

Os protocolos para a utilização dos *lasers* em diversos procedimentos clínicos estão sendo investigados, pois nem todas as suas atuações e efeitos sistêmicos estão esclarecidos. A revista de literatura revela que a LLLT pode atuar nas funções endócrinas, comprovando os possíveis efeitos do *laser* sobre as glândulas secretoras (SMITH-AGREDA et al., 1985; PARRADO et al., 1988; HERNÁNDEZ et al., 1989).

Diante do exposto, a presente pesquisa teve por objetivo investigar o efeito da LLLT no funcionamento da glândula tireóide, através da mensuração da quantidade de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) circulantes no soro de coelhos.

Os objetivos específicos foram:

- a) avaliar a atuação do *laser* GaAIIAs ($\lambda=830$ nm) no funcionamento da glândula tireóide quando aplicado diretamente sobre a região anatômica da glândula;
- b) avaliar a atuação do *laser* GaAIIAs ($\lambda=830$ nm) no funcionamento da glândula tireóide quando aplicado sobre o alvéolo pós-exodontia do incisivo inferior esquerdo.



REVISTA DA LITERATURA

2 REVISTA DA LITERATURA

2.1 LASER

O acrônimo *LASER* é composto pelas iniciais de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, que significa amplificação da luz por emissão estimulada de radiação (CONLAN; RAPLEY; COOB, 1996; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998).

O *laser* caracteriza-se por um sistema de seleção de comprimento de ondas que permite a obtenção de um feixe de luz concentrado, monocromático, paralelo e coerente. Além de possuir essas características peculiares, é uma forma de radiação não-ionizante, altamente concentrada, que, em contato com os diferentes tecidos, resulta de acordo com o tipo de *laser*, em efeitos térmicos, fotoquímicos e não lineares (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO; 1998; SCHINDL et al., 2000). Estas propriedades permitem que o *laser* seja utilizado em aplicações específicas e de grandes resultados na área biológica (NICCOLI FILHO et al., 1993).

As características próprias do *laser* o diferenciam da luz comum, cujas ondas possuem diversos comprimentos, orientação dispersa no espaço e desordenada no tempo, emitindo a energia em todas as direções (ROSENSHEIN, 1997).

Os *lasers* têm sido classificados de acordo com inúmeros critérios. A mais ampla classificação é aquela que os divide em dois grandes grupos, de acordo com a intensidade de energia do feixe, podendo esta ser alta – sendo chamados de ablativos ou *Hight Intensity Laser Treatment* (HILT) – ou baixa – denominados terapêuticos ou *Low Intensity Level Treatment* (LILT). O comprimento de onda do *laser* é determinado pelo meio ativo que o nomeia, podendo, por sua vez, variar no espectro do infravermelho ao ultravioleta. O tipo de meio ativo (sólido, gasoso ou semiconductor) também determina a afinidade ou não do *laser* com o tecido alvo. De acordo com a reação celular, a terapia com *laser* é classificada em *Hight reactive-Level Laser Treatment* (HLLT) ou *laser* cirúrgico, usado em procedimentos cirúrgicos; e *Low reactive-Level Laser Treatment* (LLLT) ou *laser* não-cirúrgico,

também chamado de *laser* terapêutico, usado em procedimentos terapêuticos clínicos (BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003).

A vantagem da luz dos *lasers*, quando comparada a outros tipos de luz, é que trata-se de um eixo monocromático de alta energia, passível de ser focado e facilmente manipulado, além de ser capaz de promover efeitos fotobiológicos específicos. Parâmetros da irradiação como comprimento de onda, eixo energético, diâmetro do feixe, duração do pulso e tempo de exposição podem ser combinados com as propriedades físicas, químicas e biológicas do tecido alvo para que se obtenham resultados desejáveis (MISERENDINO; PICK, 1995).

A absorção e a difusão do *laser* no tecido resultam numa resposta fotorreativa. Esta é consequência de uma fotodestruição ou uma fotoativação tecidual, determinadas pelo efeito fotoquímico, fotoelétrico ou fototérmico do *laser* (OHSHIRO; FUJINO, 1993). Dentre os efeitos fotoquímicos, pode-se incluir a biomodulação tecidual, a qual corresponde a ação da luz *laser* sobre os processos moleculares e bioquímicos nos tecidos (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998).

Os *lasers* mais utilizados na LLLT são o Hélio-Neônio (HeNe) e os diodos (BASFORD, 1995; PINHEIRO et al., 1998). O HeNe foi o primeiro *laser* gasoso desenvolvido e também o primeiro a emitir de forma contínua raios com dois comprimentos de onda: $\lambda=632,8$ nm (vermelho) e $\lambda=543,5$ nm (verde), com potência variável de 1mW a dezenas de miliwatts (BASFORD, 1995).

Os *lasers* de diodo têm o seu comprimento de onda no espectro vermelho e infravermelho que variam de 620 a 1500nm determinado pelo seu meio ativo. O GaAIs é o meio ativo mais utilizado na Odontologia, sendo enquadrado entre 760 e 850nm com potência variando entre 20 e 1000mW (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; ALMEIDA-LOPES, 2003). Segundo Khadra et al. (2004), este *laser* possui alta capacidade de penetração em comparação a outros tipos, oferecendo ao profissional um instrumento de comprovada eficácia, especialmente para as regiões mais profundas.

De acordo com Brugnera Júnior et al. (2003), o meio ativo determina afinidade ou não do *laser* com o tecido alvo, o que é muito relevante, pois apenas a indicação correta do *laser* para determinado tecido resultará no objetivo esperado.

Os aparelhos de *laser* de GaAIs mais modernos são apresentados em unidades portáteis, compactas e que se mostram confiáveis. Estes foram desenvolvidos com considerações econômicas e ergonômicas, que reduziram seu

custo em comparação a outros equipamentos de *laser* (ROMANOS; NENTWIG, 1999).

2.2 LLLT (*Low Level Laser Therapy*)

Os *lasers* não-cirúrgicos são usados para fins terapêuticos desde a década de 1960, por suas características de baixa intensidade de energia e comprimento de onda capaz de penetrar nos tecidos (BRUGNERA JÚNIOR; VILLA; GENOVESE, 1991).

A LLLT, na Odontologia, teve início com Benedicenti, em 1982, com um aparelho *laser* diodo de Arseneto de Gálio (GaAs $\lambda=904$ nm) (NICCOLI FILHO et al., 1993). Esta terapia tem sido utilizada com grande sucesso na clínica odontológica, podendo ser empregada isoladamente ou como coadjuvante em tratamentos convencionais (BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003; CATÃO, 2004).

O uso clínico da LLLT está fundamentado em sua capacidade de promover, a nível celular, efeitos estimuladores sobre os processos moleculares e bioquímicos, que ocorrem durante os mecanismos intrínsecos da reparação tecidual. Dentre os efeitos terapêuticos podemos citar: o aumento da proliferação epitelial, fibroblástica e síntese de colágeno, acelerando o processo cicatricial; aumento no potencial de remodelação e reparo ósseo; restabelecimento da função neural após injúria; normalização da função hormonal; regulação do sistema imunológico; redução da inflamação e edema; modulação e atenuação da sintomatologia dolorosa; e analgesia pós-operatória (TRELLES; MAYAYO, 1987; RIGAU I MAS et al., 1991; PINHEIRO; FRAME, 1992; DO NASCIMENTO et al., 2004; WEBER et al., 2006; MOHAMMED et al., 2007; SOARES et al., 2008).

Segundo El Sayed e Dyson (1990), o efeito analgésico da LLLT é resultante do aumento da concentração de β -endorfinas no organismo. Esta terapia promove a liberação dos mastócitos, aumentando a concentração de histamina, provoca vasodilatação, com aumento da permeabilidade vascular e atua nas prostaglandinas, inibindo e bloqueando a ação da enzima ciclooxigenase, produzindo, desta forma, um efeito antiinflamatório (TAKEDA, 1988; CATÃO, 2004).

A compreensão do mecanismo da interação entre os *lasers* e os tecidos, baseia-se principalmente no entendimento das reações que podem ser induzidas nestes tecidos pela luz *laser* (KARU, 1989). Alguns fatores, como a dosimetria, o espectro do *laser*, a potência e a fase de irradiação, irão influenciar na modulação das respostas biológicas (CONLAN; RAPLEY; COOB, 1996; BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003).

A LLLT deve seguir os seguintes parâmetros: escolha do comprimento de onda, densidade de energia, densidade de potência, tipo de regime de operação do *laser*, frequência do pulso, número de sessões, características ópticas do tecido, como os coeficientes de absorção e espalhamento (CATÃO, 2004).

O comprimento de onda do *laser* é um dos fatores que influenciam na sua capacidade de penetração nos tecidos, uma vez que cada cromóforo tecidual possui um grau de absorção específico para cada comprimento de onda, promovendo diferentes efeitos biológicos, de acordo com o tipo de *laser* utilizado (THEODORO; GARCIA; MARCANTONIO JÚNIOR, 2002). Os *lasers* HeNe com $\lambda=632,8\text{nm}$ penetram em torno de 0,5mm, os *lasers* com maior comprimento de onda, como os infravermelhos, podem penetrar uma maior profundidade, sendo pouco absorvidos pela epiderme e derme (SCHINDL et al., 2000).

Outro fator a ser considerado é a densidade de energia (DE), também chamada de fluência ou dosimetria, a qual estabelece a relação entre a energia administrada por um emissor *laser* e a superfície de radiação do raio de luz *laser* ou *spot*, sendo expressa em J/cm^2 . Diversos equipamentos dispõem de cálculo direto, sendo o tempo de exposição determinado automaticamente através da inserção da DE, potência de emissão e da área do *spot* (RIGAU I MAS, 1998; ALMEIDA-LOPES; 2003).

O fenômeno dos bioefeitos do *laser* está relacionado com a dose e a afinidade do tecido com o comprimento de onda específico (BELKIN; SCHWARTZ, 1989). Segundo Brugnera Júnior et al. (2003), não se pode definir a exata profundidade que o *laser* alcança nem a dose que atinge os alvos abaixo do ponto de incidência, o que dificulta o conhecimento da dosimetria correta.

Muito são os trabalhos *in vivo* e *in vitro*, na literatura, que relatam os efeitos benéficos da LLLT no processo de cicatrização tecidual. Embora a terapia com *lasers* de baixa potência seja utilizada sem o estabelecimento de protocolos clínicos específicos, vários autores têm reportado os efeitos biomoduladores nos processos

de cicatrização em modelos animais e em meios de cultura tecidual (AZEVEDO et al., 2006; CORAZZA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008; SOARES et al., 2008).

O uso potencial dos *lasers* na biomodulação do reparo ósseo através de suas propriedades fotoquímicas e fotobiológicas tem sido estudado por diversos pesquisadores com o objetivo de proporcionar ao paciente submetido à cirurgia, uma maior rapidez na cicatrização óssea, menor desconforto pós-operatório, menor quadro de edema pós-cirúrgico e melhor cicatrização tecidual (TAKEDA, 1988).

Após a exodontia, o alvéolo poderá ser irradiado com o *laser* infravermelho com a finalidade de se obter uma melhor reparação tecidual, redução do edema e uma analgesia pós-operatória. A aplicação é realizada com a ponteira posicionada perpendicularmente ao alvéolo remanescente e a dosimetria recomendada está situada entre 80 a 120 J/cm² (ALMEIDA-LOPES, 2003).

Takeda (1988) avaliou o efeito da LLLT na cicatrização de alvéolos pós-exodontia em ratos *Wistar*. No grupo experimental, os alvéolos foram irradiados com um *laser* semiconductor de GaAs ($\lambda=904$ nm), densidade de potência de 25 mW/cm² e DE de 20 J/cm², por um período de cinco dias. Os resultados histológicos demonstraram que a radiação *laser* teve um efeito benéfico no processo inicial de cicatrização óssea dos alvéolos dentários.

No mesmo ano, Mezawa et al. (1988) confirmaram os possíveis efeitos analgésicos da LLLT, ao aplicar um *laser* semiconductor de GaAs na língua de gatos. Esses achados validam o estudo experimental realizado por Maegawa et al. (2000), no qual os autores justificam o uso deste *laser*, com $\lambda=830$ nm, para redução da dor, em decorrência da sua penetração em maior profundidade nos tecidos.

A influência do número de aplicações do raio *laser* sobre o reparo de feridas de extração dentária, em ratos *Wistar*, foi analisada, histologicamente, por Garcia et al. (2000). O *laser* de GaAs, com $\lambda=904$ nm, 2 mW de potência e DE de 0,36 J/cm², foi aplicado de forma pontual sobre a mucosa gengival vestibular do alvéolo. Os animais foram divididos em quatro grupos: o grupo I (controle) não recebeu aplicação de *laser*; o grupo II recebeu uma aplicação após a exodontia do incisivo superior; no grupo III os animais receberam duas aplicações, uma após a extração e a outra 24 horas após o ato cirúrgico; no grupo IV, além das duas citadas anteriormente, os animais receberam outra irradiação 48 horas após a exodontia. Os autores observaram que todos os grupos que receberam irradiação tiveram melhor

cicatrização óssea em relação ao grupo controle, e que quanto maior o número de aplicações do *laser*, maior a aceleração do processo de reparo alveolar.

Kucerová et al. (2000) avaliaram o efeito de diferentes frequências da radiação com os *lasers* GaAIs ($\lambda = 670$ nm) e HeNe ($\lambda = 632,8$ nm) no processo de cicatrização de alvéolos pós-exodontia de molares humanos. Os autores concluíram que a LLLT melhora subjetiva e objetivamente a cicatrização alveolar, podendo ser recomendada como um método de escolha clínica.

Silva Júnior et al. (2002) demonstraram a importância do *laser* GaAIs ($\lambda = 830$ nm, 40 mW, 4,8 J/cm²) na biomodulação do reparo ósseo, após irradiar feridas cirúrgicas realizadas em fêmur de ratos. Os resultados evidenciaram que a LLLT melhorou o reparo ósseo nos estágios iniciais.

Weber et al. (2006) avaliaram a influência do *laser* diodo infravermelho (GaAIs, $\lambda = 830$ nm, 50 mW) no processo de reparo ósseo de feridas cirúrgicas em fêmur de ratos *Wistar*, submetidas a enxerto ósseo autógeno. Os grupos experimentais tratados com *laser* receberam radiações com intervalos de 48 horas, sendo a primeira realizada durante o ato cirúrgico. A dosimetria utilizada foi de 10 J/cm² por sessão, divididas em quatro pontos de 2,5 J/cm². Os autores concluíram que a LLLT resultou em um efeito biomodulador positivo sobre o processo de reparo ósseo, sendo esse efeito mais evidente quando o *laser* é aplicado diretamente na loja cirúrgica, durante o transoperatório, antes da adaptação do enxerto ósseo.

2.3 EFEITO SISTÊMICO DO LASER

Estudos sugerem que o *laser* apresenta efeitos sistêmicos, por meio de mediadores metabólicos liberados na circulação, atingindo áreas distantes do local de aplicação (OHSHIRO, 1991; MARINO, 2003).

A estimulação de efeitos sistêmicos causados pela luz *laser* é descrita em uma investigação de Rochkind et al. (1989), no qual, ao trabalhar com um grupo de 88 ratos submetidos à radiação de HeNe ($\lambda = 632,8$ nm) constatou tais efeitos sobre feridas, queimaduras cutâneas e fibras nervosas. Foi utilizado um protocolo de 16 mW de potência com doses de 6 a 10 J/cm² por ponto, durante sete minutos diários, por 21 dias. Os autores concluíram que o *laser* HeNe exerceu um efeito sistêmico

pronunciado, tanto na pele quanto nos tecidos adjacentes, bem como nos nervos periféricos severamente lesados, e que esses efeitos persistiram por um longo período após a sua aplicação. Ressaltam, ainda, que os efeitos sistêmicos observados devem ser considerados na aplicação clínica da LLLT e nos experimentos que investigam os possíveis mecanismos por ela envolvidos.

Schindl et al. (2002) realizaram um estudo para verificar o efeito sistêmico da LLLT na microcirculação cutânea de pacientes diabéticos. Para tanto, irradiaram úlceras ou gangrenas em apenas um dos lados afetados destes pacientes. No grupo controle, o procedimento foi o mesmo, porém o *laser* permaneceu desligado durante o tratamento (placebo). O *laser* utilizado foi de HeNe (632,8 nm e 30 mW), com uma dose total de 30 J/cm², em uma única aplicação. Por meio de termografia infravermelha, os autores mediram a temperatura e a microcirculação locais, as quais foram maiores no local da irradiação *laser*.

Segundo Mikail e Pedro (2006), quando irradiada a corrente sangüínea com *laser* de comprimentos de onda entre 633 e 890 nm, visando o tratamento de áreas distantes ao local em que foi aplicado, o efeito sistêmico é atingido. Porém, este efeito ainda é controverso, requerendo maiores estudos para tal afirmação.

Rodrigo et al. (2009) verificou, por meio de análise histológica, a ação sistêmica da LLLT utilizando os *lasers* de GaAlAs ($\lambda=904$ nm) e Fosfeto de Índio-Gálio-Alumínio (InGaAlP $\lambda= 685$ nm) sobre o processo de reparo tecidual em feridas cutâneas padronizadas em dorso de ratos. Os resultados obtidos demonstraram o efeito sistêmico do *laser*, comparando-se os ferimentos cutâneos diretamente irradiados com os do grupo controle. Esse efeito foi mais evidente quando associou-se o *laser* vermelho e o infravermelho durante o processo cicatricial das feridas destes animais.

2.4 EFEITO DO LASER SOBRE O TECIDO GLANDULAR

Smith-Agreda et al. (1985) ao irradiar a glândula adeno-hipófise, com *laser* HeNe ($\lambda=632,8$ nm), verificaram que as as células tireoidianas e hipofisárias demonstraram um aumento de sua atividade metabólica, comprovando os possíveis efeitos da LLLT sobre as glândulas secretoras. De acordo com esses autores, deve-

se evitar a irradiação clínica em humanos diretamente sobre zonas glandulares, ainda que não haja nenhuma evidência clínica de que a LLLT possa provocar hiperfunção glandular.

Com o objetivo de avaliar o efeito da LLLT sobre as glândulas submandibulares, Plavnik, De Crosa e Malberti (2003) realizaram um estudo experimental em 144 porcos da Índia. Os animais foram divididos em 2 grupos: controle (não-irradiado) e experimental (irradiado). Cada grupo foi subdividido em 6 subgrupos, com 12 animais cada, de acordo com os seguintes critérios: animais alimentados e animais submetidos à 2, 4, 8, 10 e 12 horas de jejum após o procedimento cirúrgico. As glândulas submandibulares, direita e esquerda, de todos os animais foram expostas cirurgicamente, entretanto, no grupo experimental, estas foram irradiadas com *laser* HeNe, 7 mW de potência e DE 11,2 J/cm² por 2 minutos em uma única sessão. Os autores realizaram biópsias em ambas glândulas submandibulares de todos os animais e as amostras obtidas foram analisadas por microscopia ótica e eletrônica de transmissão. Os resultados mostraram que o efeito do *laser* foi progressivo, promovendo, após 2 horas da irradiação, uma vasodilatação, congestão vascular, infiltrado perivascular e necrose celular do parênquima glandular por um longo período. Alterações no retículo endoplasmático rugoso também foram observadas na microscopia eletrônica. Os pesquisadores propõem que a LLLT, nestes parâmetros aplicados, dificulta o processo de síntese e secreção de proteínas das glândulas submandibulares de porcos da Índia.

Os efeitos da LLLT sobre os tecidos de glândulas salivares foram observados por Simões et al. (2009) após irradiar, com *laser* de diodo infravermelho ($\lambda=808$ nm), as glândulas submandibular e parótida de ratos *Wistar*. As dosimetrias aplicadas foram 4 J/cm² no grupo experimental A e 8 J/cm² no grupo experimental B, a densidade de potência foi de 277 mW/cm² em ambos os grupos. O grupo controle não recebeu irradiação. Os animais foram mortos após uma semana da primeira aplicação do *laser*, tendo suas glândulas parótida e submandibular removidas para análise histológica e análise bioquímica da concentração total de proteína e das enzimas salivares. Os resultados histológicos não demonstraram alterações morfológicas nas glândulas irradiadas quando comparadas com o grupo controle, no entanto, a análise bioquímica revelou um aumento significativo da concentração total de proteína nas glândulas parótidas dos animais dos grupos experimentais.

2.5 GLÂNDULA TIREÓIDE

A glândula tireóide é uma estrutura endócrina localizada na região cervical, abaixo da laringe, ocupando as regiões laterais e anterior da traquéia. A principal função dessa glândula é a produção dos hormônios tireoidianos (triiodotironina e tiroxina), importantes na regulação do índice metabólico do organismo (SONIS; FAZIO; FANG, 1996).

A tireóide é composta por um grande número de folículos tireoidianos medindo de 0,2 a 0,9 mm de diâmetro no ser humano. Estes folículos são revestidos por um epitélio cúbico simples, o qual é responsável pela síntese e secreção dos hormônios tireoidianos T_3 (triiodotironina) e T_4 (tiroxina), e preenchidos por uma substância glicoproteica denominada de tireoglobulina. A tireoglobulina tem a função de armazenar os hormônios da tireóide antes de serem secretados na corrente sangüínea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O controle da produção e secreção dos hormônios tireoidianos é mediado pelo hipotálamo que produz o hormônio de liberação de tireotropina (TRH) e pela adeno-hipófise que estimula a produção do hormônio estimulador da tireóide (TSH). O TSH irá estimular a produção de triiodotironina e tiroxina pela glândula tireóide. Esses hormônios podem realimentar negativamente a hipófise e o hipotálamo para interromper a secreção de TSH, mantendo o organismo com quantidades adequadas de T_3 e T_4 (SONIS; FAZIO; FANG, 1996).

Os hormônios tireoidianos são caracterizados por conterem iodo; a tiroxina contém quatro átomos de iodo e a triiodotironina, três. A função principal desses hormônios em vertebrados superiores é estimular o metabolismo oxidativo celular. Uma alta concentração de T_3 e T_4 aumenta a taxa metabólica corporal enquanto uma baixa concentração destes hormônios a reduz, sendo acompanhada por sintomas de outras deficiências (SCHMIDT-NIELSEN, 1996).

Cerca de 93% dos hormônios circulantes secretados pela tireóide consistem em T_4 , e 7% em T_3 . Porém, a triiodotironina é mais potente e exerce a sua ação com maior rapidez. Em torno de 50% da quantidade de tiroxina é convertida em triiodotironina, sendo o T_3 o principal hormônio tireoidiano utilizado pelos tecidos (FISHER, 1996; GUYTON; HALL, 2006).

A glândula tireóide mantém o metabolismo dos tecidos em nível ótimo para as suas funções normais. Os hormônios tireoidianos aumentam a atividade das mitocôndrias estimulando o consumo de oxigênio da maioria das células do organismo, auxiliam na regulação do metabolismo dos carboidratos e dos lipídios e são necessários para o crescimento e maturação normais. A glândula tireóide não é essencial para a vida, porém, sua ausência acarreta menor resistência ao frio, lentidão física e mental e, em crianças, retardamento mental e nanismo. Pelo contrário, o excesso de secreção tireoideana produz fadiga corporal, irritabilidade, diarreia, taquicardia, tremores e sudorese excessiva (GANONG, 1998).

Segundo Young e Wheath (2000), os hormônios tireoidianos influenciam no crescimento do corpo e no desenvolvimento do sistema nervoso durante a vida fetal.

A exposição de animais à temperaturas muito baixas e algumas reações emocionais podem interferir na secreção dos hormônios THR e TSH, afetando indiretamente a secreção dos hormônios tireoidianos. A exposição corporal ao frio intenso por um longo período, estimula os centros hipotalâmicos de controle da temperatura, aumentando a secreção dos hormônios T_3 e T_4 e, conseqüentemente, elevando o metabolismo basal em até 50% (GUYTON; HALL, 2006).

A produção excessiva ou deficiente dos hormônios tireoidianos podem ocasionar distúrbios no funcionamento da glândula tireóide (FISHER, 1996). Uma dieta carente de iodo reduz a síntese de T_3 e T_4 e promove um aumento na síntese de TSH pela adeno-hipófise, com o conseqüente aumento de volume da tireóide, chamado de bócio. O hipotireoidismo no adulto pode desenvolver uma desordem no tecido conjuntivo conhecido mixedema, cujo sinal clínico mais evidente é o edema facial, que não cede à pressão. O mixedema é devido ao acúmulo excessivo de substância fundamental nos espaços intersticiais. A deficiência tireoidiana na criança pode levar ao cretinismo, caracterizada pela deficiência do crescimento corporal e retardo mental. No hipertireoidismo, o alto nível de secreção dos hormônios T_3 e T_4 pode desenvolver a doença de Graves, também chamada de bócio exoftálmico, devido à protrusão dos globos oculares causada pelo edema dos tecidos retroorbitais e alterações degenerativas nos músculos extra-oculares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

As concentrações dos hormônios tireoidianos no plasma sangüíneo necessárias para regulação do metabolismo corporal são muito pequenas. Os valores variam de não mais que um picograma (bilionésimo de miligrama) por

mililitro de sangue até, no máximo, alguns microgramas (milionésimos de um grama) (GUYTON; HALL, 2006).

A faixa de variação de referência para os valores normais de T_3 e T_4 pode variar entre os laboratórios, dependendo da população normal usada para os cálculos e do tipo de teste utilizado para medir os hormônios. Os hormônios tireoidianos são quase exclusivamente ligados a uma proteína na corrente sangüínea e, como tal, são inativos. Menos de 1% destes hormônios está livre e disponível para controlar o metabolismo do organismo (CZEPIELEWSKI, 2003a, 2003b).

A medida de T_3 e T_4 total inclui tanto as frações ligadas à proteínas como as frações livres. Alguns laboratórios oferecem a medida dos hormônios tireoidianos totais e outros oferecem a medida dos hormônios tireoidianos livres, porém ambas fornecem a mesma informação sobre o funcionamento normal, hipo ou hiperativo da tireóide. (CZEPIELEWSKI, 2003a, 2003b).

Nos últimos 40 anos, houve uma melhora substancial na sensibilidade e especificidade dos testes tireoidianos principalmente com o desenvolvimento dos métodos imunométricos não isotópicos. O método radioimunoensaio foi desenvolvido para a dosagem de insulina por Yallow e Berson, em 1959, sendo posteriormente utilizado para a quantificação de vários outros hormônios (MOURA et al., 2001). Com o avanço dos estudos nesta área, novas técnicas foram desenvolvidas visando à substituição do uso de radioisótopos, por métodos de imunoensaio enzimáticos, fluorescentes ou quimioluminescentes (STEINBECK; WYNER, 1993).

2.6 EFEITO DO LASER SOBRE A GLÂNDULA TIREÓIDE

Os efeitos biomoduladores da LLLT na glândula tireóide têm sido reportados por alguns autores (PARRADO et al., 1990; LERMA et al., 1991; AZEVEDO et al., 2005).

Ao realizar um estudo histológico da glândula tireóide após irradiação com *laser* infravermelho de $\lambda=904$ nm, Pérez de Vargas et al. (1981) demonstraram que a dose total de energia de $46,80 \text{ J/cm}^2$ produziu um aumento do volume epitelial

folicular e hiperplasia das células tireoidianas. Os capilares estavam completamente dilatados após 24 horas da irradiação, normalizando-se aos 180 dias após a LLLT.

Pérez de Vargas et al. (1987) investigaram a ação do *laser* infravermelho sobre a glândula tireóide. Utilizaram um *laser* com comprimento de onda de 904 nm, irradiando a glândula com doses totais de 46,8; 93,6 e 140,4 J/cm². Os resultados microscópicos mostraram que o *laser* infravermelho, aplicado nestas doses, provocou uma estratificação do epitélio folicular, assim como, uma proliferação celular que conduziu a formação de cordões celulares sólidos.

Parrado et al. (1988) realizaram um estudo morfométrico da glândula tireóide submetida a irradiação com o *laser* infravermelho ($\lambda=904$ nm), a fim de explicar as alterações morfológicas descritas por Pérez de Vargas et al. (1987), e relacioná-las com a função tireoidiana. Para tanto, determinaram a densidade do volume epitelial e o inverso do índice de ativação, sendo este parâmetro calculado pela razão entre o volume coloidal e o volume epitelial. Irradiaram a glândula tireóide de 108 ratas albinas, com doses diárias de 3,12; 6,24 e 9,36 J/cm², durante 15 dias. Os animais foram divididos por grupos de acordo com a dosimetria total recebida e o tempo transcorrido entre o final da irradiação e a data da morte dos animais (1, 15 e 60 dias). Os resultados evidenciaram que o *laser* infravermelho promoveu um aumento da densidade do volume epitelial e uma diminuição do índice de ativação, o que ratifica os achados morfológicos encontrados em outros trabalhos, os quais mostraram uma intensa proliferação celular na glândula.

Os mesmos autores, em outra pesquisa, observaram alterações morfológicas produzidas na glândula tireóide de ratos albinos após a irradiação com o mesmo *laser* de emissão infravermelha com comprimento de onda de 904 nm e potência máxima de 6,5 W. Dois diferentes níveis de irradiação foram aplicados: 3,12 J/cm² e 9,36 J/cm², de forma pontual, no centro da área demarcada, a qual correspondia a região da glândula. Os animais dos grupos experimentais foram irradiados por um período de 15 dias e todos foram mortos 24 horas após a última aplicação do *laser*. A avaliação de mudanças nas densidades dos volumes epitelial, coloidal e folicular e do índice de ativação permitiram quantificar o grau de lesão na glândula produzida pela irradiação. Os autores concluíram que o *laser* infravermelho, aplicado com estas doses de energia, produziu mudanças significativas no parênquima da glândula tireóide. Foi constatado uma relação direta entre a severidade da lesão e a energia da irradiação aplicada (PARRADO et al., 1990).

Jerma et al. (1991) avaliaram o efeito do *laser* HeNe (632 nm), através de microscopia ótica e eletrônica, aplicado sobre a glândula tireóide de ratos *Wistar*. Um total de 96 ratos foram irradiados na região anterior do pescoço, ao nível da glândula tireóide, com dose diária de energia de 5 J/cm² (dose total de 75 J/cm²), 6,5 mW de potência, durante 15 dias. Após o período de aplicação do *laser*, os animais foram mortos e distribuídos em 8 grupos de acordo com os intervalos de tempo: 24 horas, 7 dias, 3 semanas, 2, 3, 6, 12 e 18 meses. Os animais do grupo controle não receberam irradiação e foram mortos com 2, 8, 14 e 20 meses. Os autores concluíram que doses terapêuticas da LLLT podem produzir imediatamente mudanças teciduais de leve intensidade na glândula tireóide, as quais regridem ao normal em menos de três meses após a irradiação. No mesmo estudo, os autores correlacionaram estas alterações patológicas com os níveis séricos dos hormônios tireoidianos. As coletas de sangue foram realizadas antes da morte dos animais para avaliar as dosagens hormonais de T₃ e T₄, através do método de radioimunoensaio. A média dos valores de T₄ eram normais até 24 horas, diminuindo ao longo do período de observação. Porém, essa redução não foi estatisticamente significativa em relação ao grupo controle no período de 2 a 18 meses após a irradiação. Os níveis de T₃ se mantiveram com valores normais até 6 meses após a aplicação do *laser*. Os animais mortos com 12 meses apresentaram uma redução nos níveis de T₃, contudo não foi estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (aos 20 meses). Os pesquisadores relataram ausência de sinais clínicos e de alterações nos níveis séricos dos hormônios tireoidianos, relacionando-os com o baixo grau de severidade das lesões produzidas pelo *laser* HeNe neste estudo.

Parrado et al. (1999) investigaram as possíveis alterações morfológicas na estrutura vascular da glândula tireóide de ratos após a irradiação com *laser* infravermelho (904 nm). Os animais receberam uma dose diária de energia de 3,12 J/cm², durante 15 dias, totalizando 46,80 J/cm². A aplicação do *laser* foi realizada diretamente sobre a região anterior do pescoço, na qual a área correspondente à glândula foi demarcada e tricotomizada a fim de expor a pele na região. Os animais foram mortos 24 horas após a última irradiação, tendo suas glândulas removidas para análise microscópica dos capilares. Os autores concluíram que o *laser* infravermelho (904 nm) ocasionou mudanças morfológicas nas paredes dos capilares da tireóide, aumentando a densidade do volume e o diâmetro do lúmen capilar.

Segundo Vidal, Pérez de Vargas e Mata (2000), a aplicação do *laser* infravermelho (904 nm) em células foliculares da glândula tireóide durante o desenvolvimento pós-natal de ratos, induz alterações na secreção das organelas celulares. Acreditam que essas alterações poderiam modificar o processo de síntese e secreção dos hormônios tireoidianos.

Azevedo et al. (2005) avaliaram o efeito do *laser* infravermelho ($\lambda=780$ nm) na glândula tireóide de camundongos *Swiss* através da mensuração da quantidade de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) circulantes no soro destes animais. Utilizaram 65 animais, os quais foram divididos em 5 grupos de acordo com período de tempo em que foram mortos: grupo 1 – animais mortos antes da aplicação do *laser*, grupo 2 – animais mortos 24 horas após a irradiação, grupos 3, 4 e 5 – animais mortos com 48 horas, 72 horas, e 1 semana após o período de aplicação do *laser*, respectivamente. A região correspondente à glândula tireóide foi demarcada e tricotomizada. A aplicação do *laser* foi de maneira pontual, seguindo um protocolo de 30 mW de potência, com dosimetria de 4 J/cm^2 na região da glândula, por 3 dias consecutivos. As coletas de sangue, para a dosagem hormonal, foram realizadas antes da LLLT e após a irradiação de acordo com os grupos acima descritos. A avaliação da quantidade de hormônios T_3 e T_4 foi realizada através do método de radioimunoensaio. Os autores concluíram que os níveis hormonais de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) alteraram-se, sendo estatisticamente significantes entre o 1º dia de aplicação do *laser* e sete dias após a última aplicação. Os pesquisadores ressaltam a necessidade de novos estudos utilizando outros protocolos de irradiação, com um modelo animal de maior porte, a fim de se poder afirmar os efeitos deletérios ou até mesmo benéficos da LLLT sobre a glândula tireóide.



METODOLOGIA

3 METODOLOGIA

3.1 RESPALDO ÉTICO DA PESQUISA

A presente pesquisa foi submetida à avaliação e aprovada pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) e protocolada sob o número 0060/05 (ANEXO A) e pelo Comitê de Ética e Pesquisa da PUCRS (CEP-PUCRS), protocolada sob o número 06/03417 (ANEXO B).

Nesta pesquisa foram observadas as Normas para a Prática Didático-Científica da Vivisseccção em Animais, que constam na Lei 6.638 de Março de 1979 (GOLDIN, 1995); respeitando-se também os Princípios Éticos na Pesquisa Experimental, determinados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (ANEXOS C e D).

3.2 CARACTERIZAÇÃO

A pesquisa foi realizada junto ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, na área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial (CTBMF), da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, dentro do Grupo de Pesquisa Diagnóstico e Terapêutica Aplicada.

3.3 PARADIGMA

Este trabalho foi desenvolvido dentro do paradigma tradicional, quantitativo, no *design* de estudo do tipo experimental verdadeiro, com as amostras selecionadas

de forma aleatória, com um grupo de controle com pré e pós-teste (CAMPBELL; STANLEY, 1979).

3.4 VARIÁVEIS

3.4.1 Variável Dependente

Nível hormonal de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) circulantes no sangue.

3.4.2 Variáveis Independentes

- a) *laser* diodo Arseneto de Gálio e Alumínio (GaAIAs);
- b) local de aplicação do *laser*,
 - glândula tireóide;
 - alvéolo pós-exodontia do incisivo inferior.

3.5 DEFINIÇÃO CONCEITUAL

3.5.1 Laser Diodo GaAIAs

Laser semiconductor que tem como meio ativo o composto de GaAIAs, com comprimento de onda de 830 nm, que emite um espectro na faixa do infravermelho, com potências variando entre 20 a 1.000 mW.

3.5.2 Glândula Tireóide

A tireóide é uma pequena glândula endócrina com formato de borboleta, localizada no pescoço, acima da incisura supra-esternal e abaixo da cartilagem cricóide. Tem como função produzir, armazenar e liberar hormônios tireoidianos na corrente sanguínea.

3.5.3 Triiodotironina (T₃) e Tiroxina (T₄)

São hormônios produzidos pela glândula tireóide capazes de aumentar o índice metabólico do organismo, atuando nas células, nos tecidos e nos órgãos do corpo humano.

3.6 PROBLEMA

A aplicação do *laser* diodo GaAlAs ($\lambda=830$ nm), sobre a região da glândula tireóide ou em regiões anatômicas próximas a ela, altera os níveis hormonais de triiodotironina (T₃) e tiroxina (T₄) circulantes no soro de coelhos, comprometendo o funcionamento desta glândula?

3.7 HIPÓTESES

- a) a LLLT (GaAlAs, $\lambda=830$ nm) aumenta ou diminui a quantidade de hormônios triiodotironina (T₃) e tiroxina (T₄) circulantes no soro quando realizada diretamente sobre a região anatômica da glândula tireóide;

b) a LLLT (GaAIIAs, $\lambda=830$ nm) aumenta ou diminui a quantidade de hormônios triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) circulantes no soro quando realizada sobre o alvéolo pós-exodontia do incisivo inferior.

3.8 CONFIGURAÇÃO DA AMOSTRA

A amostra desta pesquisa foi constituída de 24 coelhos da ordem *Lagomorpha*, gênero *Oryctolagus*, espécie *Oryctolagus cuniculus*, raça Nova Zelândia, variedade branco, machos, pesando entre 3 e 4 kg, com 3 meses de idade, clinicamente sadios, selecionados aleatoriamente num plantel com 50 animais³. Os animais foram numerados de 1 a 50 e sorteados, de modo que a seleção da amostra da pesquisa validasse um trabalho experimental verdadeiro.

3.9 ORGANIZAÇÃO DOS GRUPOS

Os 24 animais selecionados foram distribuídos de forma aleatória em três grupos distintos constituídos de 8 coelhos cada, sendo então dois grupos designados como experimentais (EI e EII) e um como controle (Quadro 1).

Grupo Controle (não irradiados)	Laser aplicado sobre o alvéolo pós-exodontia (EI)	Laser aplicado sobre a região da glândula tireóide (EII)
8 animais	8 animais	8 animais

Quadro 1 - Organização dos grupos

³ Os espécimes foram adquiridos através da firma Pergoraro & Pergoraro Ltda. Rodovia RS452, Km 9, Arroio Feliz – Feliz/RS. Inscrição Estadual 047/0011947.

Para padronizar os experimentos, todos os 24 animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico de exodontia do incisivo inferior esquerdo, criando uma condição clínica inicial de igualdade entre os três grupos.

3.10 INSTALAÇÕES

A manutenção dos animais, os procedimentos cirúrgicos, as coletas de sangue, bem como a aplicação do *laser* foram realizados no biotério do Governo do Estado do Rio Grande do Sul, Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS), Coordenação de Produção e Experimentação Animal – CPEA (ANEXO E). Todos os animais passaram, previamente à cirurgia, por um período de 5 dias para ambientação no biotério de manutenção desta Instituição. Os coelhos permaneceram em gaiolas individuais suspensas, evitando o contato direto com fezes e urina, sob observação num período de 2 semanas (Figura 1). Os animais foram alimentados com dieta sólida⁴ e a água fornecida *ad libitum*. As instalações eram climatizadas, mantendo-os sob condições normais de iluminação, umidade e temperatura. Todas as gaiolas foram devidamente etiquetadas, durante todo o período do experimento, conforme o grupo a que pertenciam os animais.

⁴ Linha Natural, Purina®



Figura 1 - Alojamento dos coelhos em gaiolas individuais suspensas durante o período experimental

3.11 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

O procedimento cirúrgico foi realizado no laboratório de experimentação do biotério, sendo este ambiente separado do ambiente de criação. Assim sendo, os animais não ficaram expostos ou sob tensão de ruídos, odores e até mesmo a visão dos procedimentos que foram realizados.

Todas as etapas dos procedimentos anestésicos foram supervisionadas por uma Médica Veterinária⁵, que acompanhou o pré, trans e pós-operatório dos animais.

Após a aferição do peso, os animais foram anestesiados por meio de injeção intramuscular de Dopalen[®] (Cloridrato de Ketamina)⁶, na dose de 20 mg/kg de peso e de Cloridrato de Xilasina⁷, 3 mg/kg de peso. Após dez minutos, sob anestesia geral, foi realizada a antisepsia da região do incisivo inferior esquerdo com digluconato de

⁵ Dra. Luisa Gomes de Macedo Braga, CRMV 2393. Médica Veterinária da Coordenação de Produção e Experimentação Animal da FEPPS.

⁶ Dopalen[®], fabricado por Divisão Vetbrands Saúde Animal. São Paulo.

⁷ Anasedan[®], fabricado por Divisão Vetbrands Saúde Animal. São Paulo.

clorexidina a 2%⁸ (Figuras 2A e 2B). A seguir foi realizada, na região do alvéolo, uma infiltração de 0,5ml de lidocaína a 2%⁹ com epinefrina na proporção de 1:50.000 visando a vasoconstrição local (Figura 3).

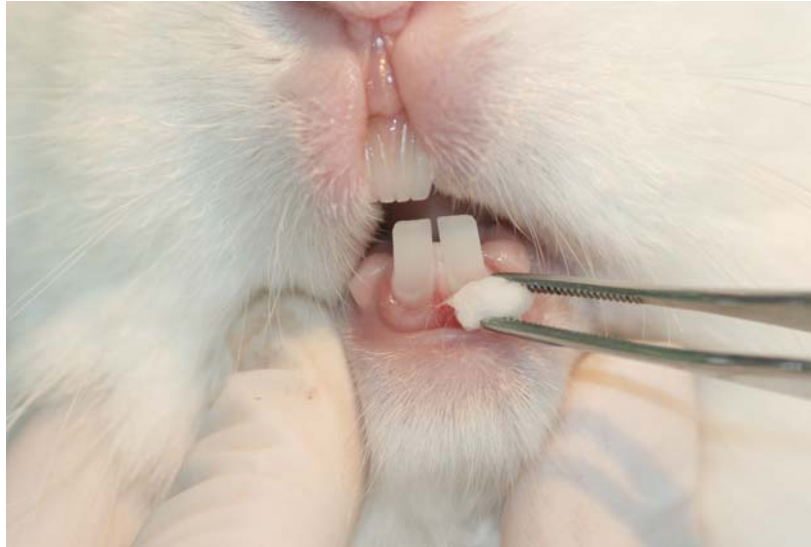


Figura 2 - Antissepsia da região do incisivo inferior esquerdo previamente à exodontia



Figura 3 - Infiltração de anestésico na região alveolar do incisivo inferior esquerdo

Procedeu-se, então, a sindesmotomia (Figura 4) e após a exodontia do incisivo inferior esquerdo com o auxílio de um fórceps infantil nº5¹⁰ (Figuras 5A e 5B). Após a exodontia, o alvéolo foi irrigado com solução salina de soro fisiológico

⁸ FGM Produtos Odontológicos. Joinville, Santa Catarina.

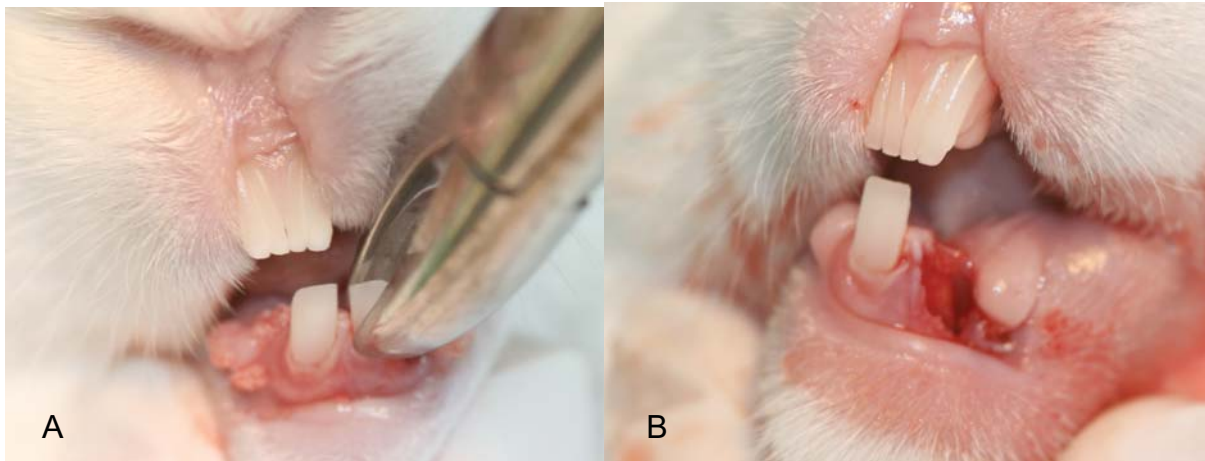
⁹ Probem Laboratório de Produtos Farmacêuticos e Odontológicos Ltda.

¹⁰ Fórceps Odontológico Infantil nº5. EDLO S/A. Canoas/RS. Brasil.

0,9%¹¹ e a seguir suturado com um fio agulhado mononylon Ethicon^{®12} 4-0 (Figura 6). A sutura foi removida após 7 dias em todos os animais.



Figura 4 - Realização da sindesmotomia no incisivo inferior esquerdo



Figuras 5A e 5B - Exodontia do incisivo inferior esquerdo (A); alvéolo pós-exodontia (B)

¹¹ Solução isotônica de Cloreto de Sódio a 0,9%, estéril, apirogênica. Indústria Farmacêutica BASA Ltda. Caxial do Sul/RS.

¹² Fio monofilamentado 4.0 (45cm), agulha Ethiplast E-16 com curvatura de 3/8 e comprimento de 1,65cm, fabricado pela Ethicon[®] - Johnson & Johnson.



Figura 6 - Sutura do alvéolo com mononylon 4-0

Aproveitou-se a anestesia geral para tricotomizar, por raspagem dos pêlos, e tatuar com violeta de genciana 1%¹³ a região a qual corresponde a glândula tireóide nos animais do grupo experimental II (Figura 7), para posterior irradiação com o *laser GaAIs*.



Figura 7 - Demarcação da região que corresponde a glândula tireóide nos coelhos

¹³ Indafarma®.

Os animais receberam, no pós-operatório imediato, 20 gotas de Alivium®¹⁴ (Ibuprofeno 50 mg/ml) colocadas no recipiente de água em que bebiam, para o controle da dor.

Foram feitos controles diários de alimentação e condições de saúde dos animais, após o procedimento cirúrgico, pela veterinária responsável.

3.12 IRRADIAÇÃO COM LASER

O aparelho utilizado foi o Thera Lase®¹⁵, laser de diodo infravermelho com meio ativo GaAlAs (Arseneto de Gálio e Alumínio), devidamente calibrado segundo o teste espectrorradiométrico (ANEXO F), com comprimento de onda de 830nm, associado a uma fibra óptica com área de 0,002827 cm² (Figura 8).



Figura 8 - Aparelho Thera Lase®

De acordo com Almeida-Lopes e Massini (2002), se utiliza a área da secção transversal do feixe de luz *laser* para o cálculo da dosimetria, o que implica na correção das tabelas de fluência (dosimetria) através de um fator multiplicador próximo de 20. Portanto, uma vez que a área da fibra óptica do aparelho Thera

¹⁴ Alivium® - Mantecorp Indústria Química e Farmacêutica Ltda.

¹⁵ Thera Lase® . DMC Equipamentos. São Carlos. São Paulo.

Lase® corresponde a aproximadamente 20 vezes menos que a área de 1 cm², as dosimetrias recomendadas de 1 a 6 J/cm² foram corrigidas para 20 a 120 J/cm².

Para o cálculo da dosimetria aplicou-se a fórmula padrão:

$$DE \text{ (J/cm}^2\text{)} = \frac{P \text{ (W)} \times t \text{ (s)}}{A \text{ (cm}^2\text{)}}$$

onde, **(DE)** é a densidade de energia a ser calculada ou dosimetria, **(P)** é a potência, **(t)** é o tempo de aplicação e **(A)** representa a área da secção transversal do feixe de luz *laser* (ALMEIDA-LOPES; MASSINI, 2002).

Após a 1ª coleta de sangue e ao final do procedimento cirúrgico de exodontia do incisivo central inferior, os animais dos grupos experimentais (EI e EII) foram submetidos à primeira sessão de *laser* (GaAlAs), 830 nm, na dose de 30 J/cm², de forma pontual, com potência de 40 mW, no modo de emissão contínua, num tempo de aplicação de 2,2 segundos.

3.12.1 Grupo Experimental EI

Os animais pertencentes ao grupo EI receberam 4 doses pontuais de 30 J/cm² de irradiação diretamente sobre o centro do alvéolo dentário. A aplicação foi conduzida com a ponteira posicionada perpendicularmente sobre o alvéolo, totalizando 120 J/cm² por sessão. A irradiação foi realizada a cada 48 horas, num total de 7 sessões de aplicação, durante o período de 13 dias, totalizando 840 J/cm² (Quadro 2) (Figura 9).

3.12.2 Grupo Experimental EII

Os animais pertencentes ao grupo EII receberam doses de irradiação iguais às oferecidas ao grupo EI, porém a aplicação foi conduzida diretamente sobre a região da glândula tireóide (APÊNDICE A), através da pele tricotomizada e

desengordurada com gaze embebida em solução alcoólica. Demarcou-se uma área de 3 cm² na região da glândula e aplicou-se o *laser* em 4 pontos equidistantes, com a ponteira posicionada perpendicularmente à região, totalizando 120 J/cm² por sessão. A irradiação, também, foi realizada a cada 48 horas, num total de 7 sessões de aplicação, durante o período de 13 dias, totalizando 840 J/cm² (Quadro 2) (Figura10).

Os animais não irradiados (grupo controle) foram submetidos a uma simulação da irradiação com o aparelho desligado, passando pela mesma rotina dos animais irradiados.

GRUPO	DOSE TOTAL
Grupo Experimental EI	840J/cm ²
Grupo Experimental EII	840J/cm ²
Grupo Controle	0J/cm ²

Quadro 2 - Protocolo de irradiação com *laser* GaAlAs (doses totais por grupo)



Figura 9 - Aplicação do *laser* GaAlAs sobre o alvéolo dentário

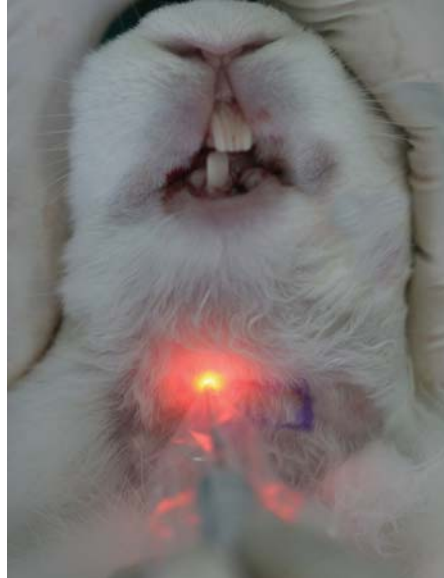


Figura 10 - Aplicação do *laser* GaAlAs sobre a glândula tireóide

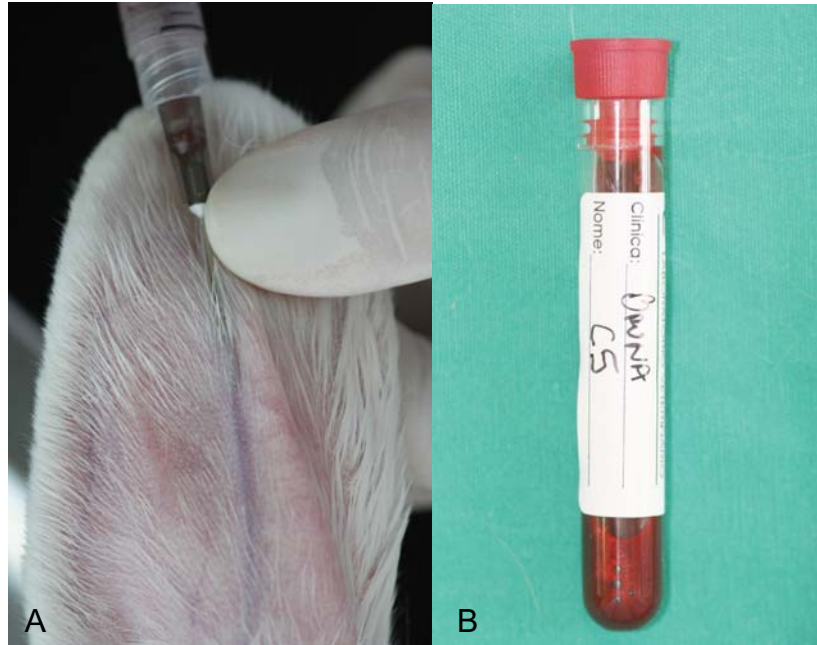
De acordo com as regulamentações brasileiras, o *laser* foi aplicado em local isolado, com caracteres e simbologia internacionais para área em uso ou presença de irradiação, observando-se os procedimentos de segurança recomendados para tratamento com luz *laser*.

No décimo-quinto dia, isto é, 48 horas após a última sessão de LLLT no grupo EI e EII, realizou-se a 2ª coleta de sangue para as dosagens hormonais de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) em todos os animais dos 3 grupos.

3.13 DOSAGEM HORMONAL

As dosagens hormonais de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) foram realizadas em todos os animais dos 3 grupos, antes do procedimento cirúrgico de exodontia do incisivo central inferior esquerdo e no último dia de observação (15º dia) do experimento. Coletou-se 3ml de sangue por punção venosa, através da veia marginal da orelha, utilizando tubos Vacutainer^{®16} sem anticoagulantes, identificados para cada animal dos 3 grupos (Figuras 11A e 11B).

¹⁶ BD-Vacutainer[®] Pediatric Systems. Becton & Dickinson Co.



Figuras 11A e 11B - Coleta do sangue através da veia marginal da orelha (A) utilizando tubos Vacutainer® sem anticoagulantes (B)

As amostras coletadas foram encaminhadas, em refrigeração, ao Laboratório de Análises Clínicas¹⁷ (ANEXO G) para realização das dosagens hormonais de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) através do teste imunoenzimático ELISA (do inglês *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) (ANEXO H) que se baseia em reações antígeno-anticorpo detectáveis através de reações enzimáticas.

Após o experimento, os animais foram destinados à doação. Os resultados obtidos das dosagens hormonais de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) (APÊNDICES B e C), foram anotados em tabelas para posterior avaliação e análise estatística.

3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística deste trabalho foi realizada através de tabelas, gráficos, e pelos testes estatísticos *t-student* e *Kruskal-Wallis*.

O teste *t-student* para dados pareados foi utilizado com o objetivo de comparar os valores hormonais obtidos pré e pós-aplicação do *laser* para cada grupo de estudo.

¹⁷ LABORVET – Laboratório de Análises Clínicas. Rua Tito Lívio Zambecari, nº 455, POA/RS.

Com o objetivo de comparar os grupos entre si, foi calculada uma nova variável chamada de Diferença, esta variável foi criada a partir da subtração dos valores hormonais de T₃ e T₄ observados no período pós com os valores do período pré-aplicação do *laser*. A idéia desta análise foi verificar se os resultados desta diferença seriam significativamente diferentes entre os grupos experimentais quando comparados com o controle, ou seja, se um grupo apresentaria um aumento ou uma redução dos valores T₃ e T₄ superior a outro. Para esta análise devido a grande variação nos dados utilizou-se o teste não-paramétrico de *Kruskal-Wallis*.

Os resultados dos testes foram considerados significativos em um nível de significância máximo de 5% ($p \leq 0,05$). O processamento e a análise destes dados foi realizado utilizando o software estatístico SPSS versão 10.0¹⁸.

¹⁸ Statistical Package for Social Science. Versão 10.0. Produzido por SPSS® Inc. 233 South Wacker Drive, 11th floor, Chicago, IL 6060.



RESULTADOS

4 RESULTADOS

A partir da metodologia empregada e anteriormente descrita nesta pesquisa, foi possível obter e apresentar os resultados a seguir descritos:

Tabela 1 - Comparação dos valores para T₃ e T₄ pré x pós-aplicação do *laser* nos grupos estudados.

<i>Comparação</i>	<i>n</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio-padrão</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Grupo Controle					
T ₃ (Triiodotironina)ng/ml (A)	8	1,231	0,311	0,046	0,965
T ₃ (Triiodotironina)ng/ml (B)	8	1,228	0,200		
T ₄ (Tiroxina) ug/dl (A)	8	3,160	0,827	-1,499	0,178
T ₄ (Tiroxina) ug/dl (B)	8	3,550	1,003		
Grupo Laser no Alvéolo (EI)					
T ₃ (Triiodotironina)ng/ml pré	8	1,514	0,686	0,663	0,529
T ₃ (Triiodotironina)ng/ml pós	8	1,480	0,589		
T ₄ (Tiroxina) ug/dl pré	8	4,110	2,679	0,696	0,509
T ₄ (Tiroxina) ug/dl pós	8	3,761	1,306		
Grupo Laser na Tireóide (EII)					
T ₃ (Triiodotironina)ng/ml pré	8	0,973	0,293	-1,327	0,226
T ₃ (Triiodotironina)ng/ml pós	8	1,079	0,172		
T ₄ (Tiroxina) ug/dl pré	8	2,993	0,622	-0,835	0,431
T ₄ (Tiroxina) ug/dl pós	8	3,243	1,249		

A = pré-aplicação do *laser* nos grupos experimentais

B = pós-aplicação do *laser* nos grupos experimentais

Através dos resultados do teste *t-student* para amostras pareadas verifica-se que não existe diferença significativa entre os valores pré e pós-aplicação do *laser* para nenhuma das comparações realizadas nos grupos experimentais (EI e EII). Observa-se que o grupo controle não apresentou diferença significativa entre os valores de T₃ e T₄ no período do experimento (p=0,965 e p=0,178, respectivamente).

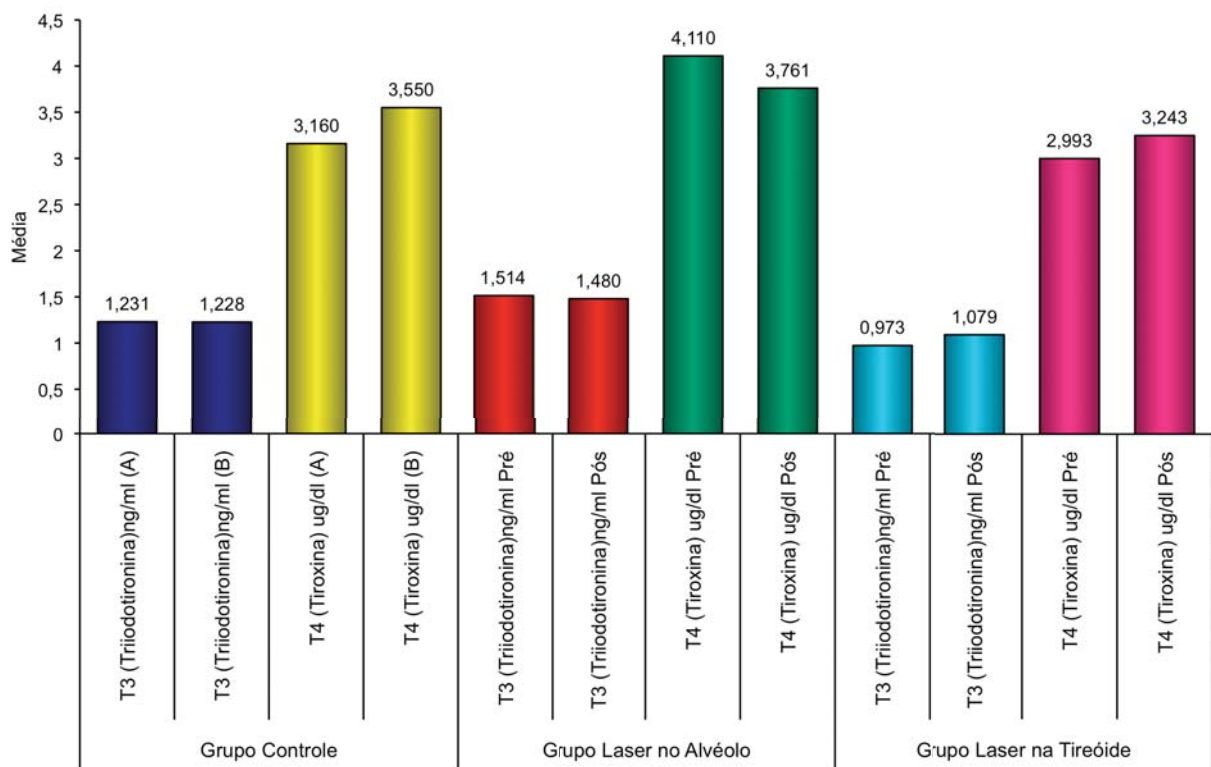


Gráfico 1 - Comparação dos valores para T₃ e T₄ pré x pós-aplicação do *laser* nos grupos estudados.

Tabela 2 - Comparação da Diferença dos valores hormonais pós – pré-aplicação do *laser* entre os grupos estudados.

Grupo	n	Diferença pós - pré			P
		Média	Desvio-padrão	Rank Médio	
Diferença T₃					
Grupo Controle	8	-0,004	0,233	10,875	0,205
Grupo <i>Laser</i> no Alvéolo (EI)	8	-0,034	0,144	10,500	
Grupo <i>Laser</i> na Tireóide (EII)	8	0,106	0,226	16,125	
Diferença T₄					
Grupo Controle	8	0,390	0,736	15,000	0,454
Grupo <i>Laser</i> no Alvéolo (EI)	8	-0,349	1,417	10,750	
Grupo <i>Laser</i> na Tireóide (EII)	8	0,250	0,847	11,750	

Através dos resultados do teste não-paramétrico Kruskal-Wallis verifica-se que não existem diferenças significativas para a comparação da Diferença dos valores de T₃ e T₄ entre os grupos estudados (p=0,205 e p=0,454, respectivamente).

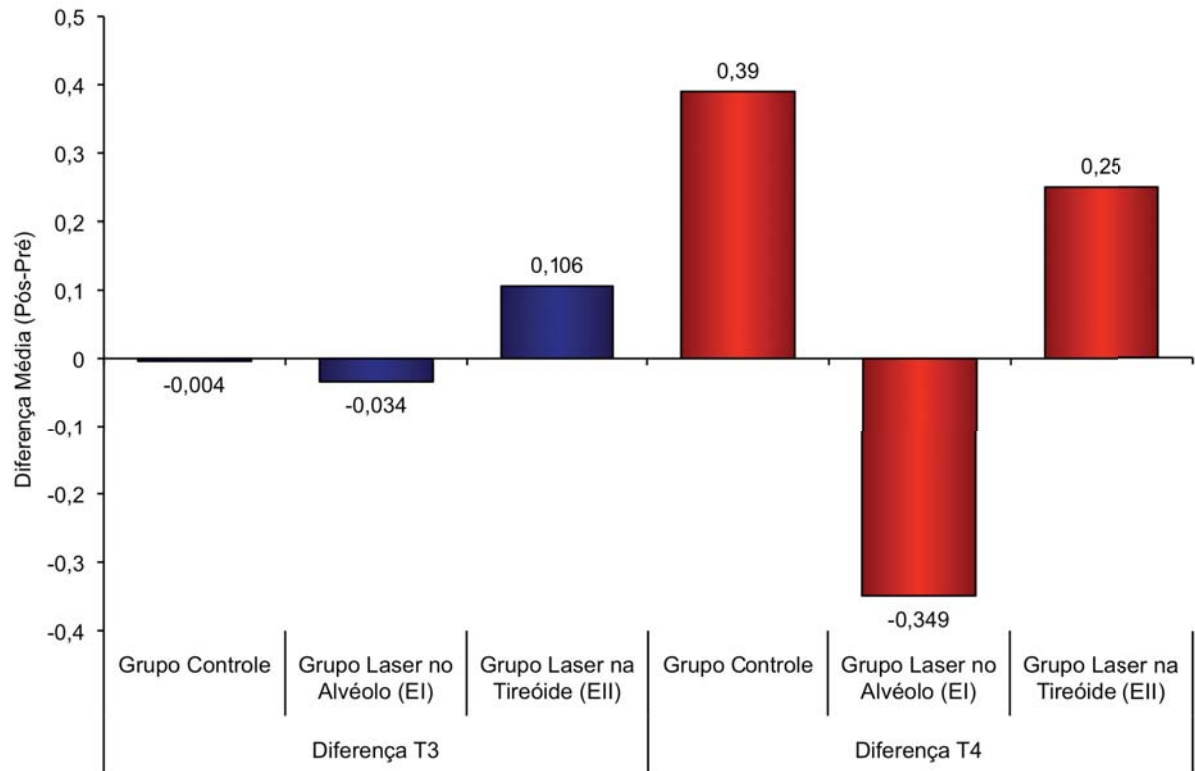
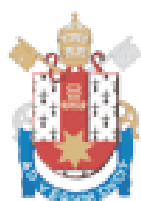


Gráfico 2 - Comparação da Diferença dos valores hormonais pós – pré-aplicação do *laser* entre os grupos estudados.



DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

A LLLT tem se mostrado um meio efetivo e benéfico em diversos tratamentos odontológicos. Em virtude da ampla utilização do *laser* pelos profissionais, os efeitos da LLLT em diferentes estruturas anatômicas e em diversas aplicações clínicas têm sido objeto de estudo de muitos pesquisadores.

Alterações morfológicas e funcionais na glândula tireóide têm sido relatadas por alguns autores após a aplicação da irradiação *laser* sobre esta glândula (PÉREZ DE VARGAS et al., 1987; PARRADO et al., 1990; LERMA et al., 1991; AZEVEDO et al., 2005). Estes achados impulsionaram a realização desta pesquisa, uma vez que a tireóide está localizada próxima da região mandibular, a qual é irradiada em muitos procedimentos pelo cirurgião-dentista.

Dentre as inúmeras indicações da LLLT relatadas na literatura, destaca-se a sua utilização em alvéolos pós-extração, com o propósito de promover uma melhor e mais rápida cicatrização alveolar (TAKEDA, 1998; GARCIA et al., 2000; KUCEROVÁ et al., 2000).

A fim de se obter uma condição clínica inicial para o uso do *laser*, neste experimento, realizou-se a extração do incisivo inferior de todos os animais. A escolha deste dente, baseou-se no fato de que o *laser* ao ser aplicado nesta região poderia incidir indiretamente sobre a glândula tireóide, visto que a aplicação do *laser* em uma área bem definida pode atingir regiões mais profundas, apresentando tanto um efeito local quanto sistêmico (ROCHKIND et al., 1989; ALMEIDA-LOPES, 2003; RODRIGO et al., 2009).

Nesta investigação, foi empregado o *laser* diodo GaAlAs ($\lambda=830\text{nm}$) pela sua propriedade de penetração tecidual maior que o HeNe, o qual trabalha com um comprimento de onda na faixa de 632,8 nm. Os *lasers* infravermelhos possuem uma maior penetração nos tecidos subcutâneos devido à sua baixa absorção na água ou nos pigmentos da pele (BASFORD, 1995; KOLÁVORÁ; DITRICHOVÁ; WAGNER, 1999). Além disso, em concordância com Romanos e Nentwig (1999), estes aparelhos são de fácil manuseio, apresentam-se disponíveis no mercado e possuem baixo custo em relação a outros tipos de *laser* desta categoria. Ao avaliar o efeito da LLLT na região da glândula tireóide de camundongos, Azevedo et al. (2005) também

utilizaram um *laser* diodo infravermelho, porém com um comprimento de onda de 780nm.

Com relação a dosimetria da LLLT administrada nesta pesquisa, optou-se por utilizar a dose máxima recomendada pelo fabricante do aparelho para o uso em alvéolos pós-extração, ou seja, 120 J/cm² por sessão (ALMEIDA-LOPES, 2003). Esta mesma dose igualmente foi aplicada diretamente sobre a região da glândula tireóide para que fosse possível comparar o efeito local e sistêmico da radiação *laser* sobre esta glândula.

É importante ressaltar que foi utilizado o cálculo de dosimetria defendida por Almeida-Lopes e Massini (2002), já que o aparelho utilizado preconiza essa conversão. Portanto, as doses utilizadas em alvéolos pós-extração foram multiplicadas por 20, em virtude de uma conversão relativa à área de aplicação e ao tamanho da fibra. Especificamente nesta pesquisa, teríamos uma dose de 6 J/cm², estando de acordo com a maior parte dos protocolos de *laser* que objetivam alcançar uma melhor cicatrização tecidual, proporcionando um estímulo na proliferação das células osteoblásticas e conseqüente diminuição na modulação da dor e inflamação. Schindl et al. (2000) relataram que a maioria das reações biológicas induzidas pela LLLT situam-se com as doses entre 1 a 50 J/cm².

Quanto aos demais parâmetros da irradiação utilizados, como potência, número de aplicações, duração e freqüência do tratamento basearam-se em outros trabalhos anteriormente desenvolvidos na PUCRS (SILVA JÚNIOR et al., 2002; GUIMARÃES, 2006; WEBER et al., 2006). O *laser* nos grupos experimentais foi aplicado a cada 48hs, totalizando sete irradiações, considerando-se que os efeitos biomoduladores da LLLT são melhores quando se utilizam múltiplas aplicações e não aplicações únicas com dose total (KHADRA et al., 2004).

A escolha do coelho como modelo animal para a realização desta pesquisa baseou-se em seu porte, o qual permitiu a retirada de uma quantidade de sangue suficiente para analisar os níveis de T₃ e T₄. Azevedo et al. (2005) relataram dificuldades na obtenção do soro sangüíneo para mensuração dos hormônios tireoidianos, quando da utilização de animais de porte inferior como ratos, em virtude da pequena amostra de sangue obtida.

A exposição a temperaturas elevadas causa alterações no equilíbrio hormonal de diversas espécies animais e, em particular, no funcionamento da glândula tireóide (ANDREAZZI et al., 2004). Portanto, os animais permaneceram em instalações

climatizadas, mantendo-os sob condições normais de temperatura durante todo o período do experimento, evitando dessa forma alterações fisiológicas nos hormônios tireoidianos.

Assim como nos estudos de Parrado et al. (1990); Vidal, Pérez de Vargas e Mata (2000) e Azevedo et al. (2005), a aplicação do *laser* sobre a glândula tireóide foi precedida pela tricotomia da região, com o propósito de garantir que um máximo de energia emitida pelo aparelho fosse absorvida pelo tecido glandular.

A função da glândula tireóide é normalmente avaliada pela mensuração da concentração sérica basal de seus hormônios (LERMA et al., 1991; AZEVEDO et al., 2005; GUYTON; HALL, 2006). Os testes T₄ total e T₃ total foram realizados, nesta pesquisa, em virtude de que tecnicamente é mais fácil mensurar as concentrações totais dos hormônios tireoidianos do que as frações não ligadas às proteínas (MOURA et al., 2001).

O radioimunoensaio (RIE) é um dos métodos que podem ser empregados para dosagem hormonal, tendo sido utilizado por alguns pesquisadores para mensuração da quantidade de triiodotironina (T₃) e tiroxina (T₄) circulantes no soro sangüíneo (LERMA et al., 1991; AZEVEDO et al., 2005). Entretanto, o RIE está sendo substituído, em muitos laboratórios clínicos, por outros métodos mais precisos e que não necessitam de materiais radioativos para sua realização. O ensaio imunoenzimático ELISA comprovou ser um método sensível para quantificar os níveis séricos de T₃ e T₄ em coelhos, visto que possibilitou a obtenção destes valores hormonais antes e depois da aplicação do *laser* em todos os animais.

Os testes estatísticos empregados, neste estudo, não demonstraram diferenças significativas nos níveis hormonais da glândula tireóide após a aplicação da LLLT nos grupos experimentais estudados. No entanto, percebe-se que o grupo que recebeu a aplicação do *laser* sobre a região da glândula tireóide, em média, foi o que apresentou um maior aumento do nível sérico de T₃, porém, este aumento, não foi significativo. A explicação para tais resultados baseia-se no fato de que não houve um padrão comportamental dos animais dentro dos grupos, os quais apresentaram uma grande variabilidade dos valores hormonais mensurados.

Os resultados desta pesquisa corroboram os achados de Lerma et al. (1991) que, ao analisarem os efeitos do *laser* HeNe sobre a glândula tireóide de ratos *Wistar*, não encontraram evidências de alterações nos níveis séricos dos hormônios tireoidianos.

Estes resultados, entretanto, não foram compartilhados por Azevedo et al. (2005), após a aplicação da LLLT ($\lambda=780$ nm) sobre a glândula tireóide de camundongos *Swiss*. Estes autores observaram diferenças significativas nos níveis hormonais de T_3 e T_4 entre o 1º dia de aplicação do *laser* e sete dias após a última aplicação. Contudo, nota-se que não foram realizados testes hormonais de T_3 e T_4 prévios nos animais que receberam a aplicação do *laser*, deixando dúvidas de que os níveis hormonais apresentados pelo animal após a LLLT estariam realmente alterados.

A fim de verificar a variabilidade individual do espécime estudado, o mesmo animal foi submetido ao teste hormonal de T_3 e T_4 , com e sem a terapia *laser*, em momentos distintos. Tal metodologia possibilitou a comparação dos valores hormonais obtidos pré e pós-aplicação do *laser* para cada grupo de estudo.

Os diferentes protocolos utilizados na LLLT dificultam a interpretação do efeito do *laser* no funcionamento da glândula tireóide, bem como, a comparação dos resultados entre os estudos.

Concorda-se com Belkin e Schwartz (1989), Basford (1995) e Schindl et al. (2000), os quais apontam a necessidade de se empregar protocolos mais bem definidos na metodologia dos trabalhos, para que comparações mais fidedignas ocorram, proporcionando assim a realização correta de estudos que verifiquem a real atuação do *laser* sobre os tecidos.

Embora os resultados obtidos no presente estudo sejam motivadores, viabilizando o uso do *laser* com segurança em regiões próximas à glândula tireóide, novas pesquisas variando o número de animais, a dosimetria e potência do *laser*, bem como o período de radiação, devem ser realizadas, no intuito de melhor conhecer os efeitos da LLLT no funcionamento desta glândula.



CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e nos parâmetros do *laser* utilizado nesta pesquisa, pode-se concluir que a LLLT não alterou os níveis hormonais de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) circulantes no soro de coelhos. Em relação aos objetivos específicos verificou-se que:

- a) o *laser* GaAIs ($\lambda=830$ nm) não comprometeu o funcionamento da glândula tireóide quando aplicado diretamente sobre a sua região anatômica;
- b) o *laser* GaAIs ($\lambda=830$ nm) não comprometeu o funcionamento da glândula tireóide quando aplicado sobre o alvéolo pós-exodontia do incisivo central inferior de coelhos.



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS¹⁹

ANDREAZZI, M. A. et al. Avaliação da qualidade do sêmen em coelhos alimentados com rações contendo diferentes fontes de óleos vegetais. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 87-93, 2004.

ALMEIDA-LOPES, L. Laserterapia na odontologia. **Clínica Odontológica Integrada**, Bauru, v. 1, n. 1, p.10-88, 2003.

ALMEIDA-LOPES, L.; MASSINI, R. J. **Laseres e suas aplicações**: manual do usuário. [S.I.]: DMC Equipamentos, 2002.

AZEVEDO, L. H. et al. Evaluation of low intensity laser effects on thyroid gland of male mice. **Photomedicine and Laser Surgery**, Larchmont, NY, v. 23, n. 6, p. 567-570, 2005.

_____. Influence of different power of LILT on cultured human fibroblast growth. **Lasers in Medical Science**, London, v. 21, p. 86-89, 2006.

BASFORD, J. R. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v. 16, p. 331-342, 1995.

BELKIN, M.; SCHWARTZ, M. New biological phenomena associated with laser radiation. **Health Physics**, Hagerstown, v. 56, n. 5, p. 687-690, 1989.

BENEDICENTI, A. La valutazione dell' effecto del la luce Laser 904 nm nella circolazione ematica in vivo. In: BENEDICENTI, A. **Atlante di Laser-terapia**. Gênova: Langa Grafica, 1982. p. 71-83.

BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B. **Lasers na odontologia moderna**. São Paulo: Pancast, 1998.

BRUGNERA JÚNIOR, A.; VILLA, R. G.; GENOVESE, W. J. **Laser na odontologia**. São Paulo: Pancast, 1991.

¹⁹ De acordo com NBR 6023: Informação e Documentação – Referências-Elaboração, de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas. Rio de Janeiro – RJ.

BRUGNERA JÚNIOR, A. et al. **Laserterapia aplicada à clínica odontológica**. São Paulo: Santos, 2003.

CAMPBELL, D. T.; STANLEY, J. C. **Delineamentos experimentais e quase-experimentais de pesquisa**. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1979.

CATÃO, M. H. C. V. Os benefícios do laser de baixa intensidade na clínica odontológica na estomatologia. **Revista Brasileira de Patologia Oral**, Natal, v. 3, n. 4, p. 214-218, 2004.

CORAZZA, A. V. et al. Photobiomodulation on the angiogenesis of skin wounds in rats using different light sources. **Photomedicine and Laser Surgery**, Larchmont, NY, v. 25, n. 2, p. 102-106, 2007.

CZEPIELEWSKI, M. A. **Teste do hormônio da Tireóide – T3**. [S.l.]: ABC da Saúde Informações Médicas, 2003a. Disponível em: <<http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?407>>. Acesso em: 15 maio 2006.

_____. **Teste do Hormônio da Tireóide – T4**. [S.l.]: ABC da Saúde Informações Médicas, 2003b. Disponível em: <<http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?408>>. Acesso em: 15 maio 2006.

CONLAN, M. J.; RAPLEY, J. W.; COBB, C. M. Bioestimulation of wound Healing by Low-energy Laser Irradiation. A Review. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 23, p. 492-496, 1996.

DO NASCIMENTO, P. M. et al. A preliminary report on the effect of laser therapy on the healing of cutaneous surgical wounds as a consequence of an inversely proportional relationship between wavelength and intensity: histological study in rats. **Photomedicine and Laser Surgery**, Larchmont, NY, v. 22, n. 6, p. 513-518, 2004.

EL SAYED, S. O.; DYSON, M. Comparison of the effect of multiwavelength light produced by a cluster of semiconductor diodes and of each individual diode on mast cell number and degranulation in intact and injured skin. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, n. 10, p. 559-568, 1990.

FISHER, D. A. Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 42, n. 1, p. 135-139, 1996.

GANONG, W. F. **Fisiologia Médica**. 17. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

GARCIA, G. V. et al. Influência do número de aplicações de raio laser de bioestimulação sobre a reparação de feridas de extração dentária. Estudo histológico em ratos; **Revista da Faculdade de Odontologia de Lins**, Lins, SP, v. 12, n. 1-2, p. 29-37, jan./dez. 2000.

GOLDIN, J. R. **Pesquisa em saúde: normas leis e diretrizes**. 2. ed. Porto Alegre: HCPA, 1995.

GUIMARÃES, K. B. **Fotoengenharia do processo de reparo ósseo induzido pela laserterapia de baixa potência (GaAIs)**: estudo em femurs de ratos. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de Fisiologia Médica. In: _____. **Hormônios Metabólicos da Tireóide**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 931-943.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia básica. In: _____. **Glândulas endócrinas**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 390-414.

KARU, T. Photobiology of low-power laser effects. **Health Physics Society**, Baltimore, v. 56, n. 5, p.691-704, May 1989.

KHADRA, M. et al. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology And Endodontics**, Saint Louis, v. 97, p. 693-700, 2004.

KOLÁVORÁ, H.; DITRICHOVÁ, D.; WAGNER, J. Penetration of the laser light into the skin in vitro. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v. 24, n. 3, p. 231-235, 1999.

KUCEROVÁ, H. et al. Low level laser therapy after molar extraction. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**, New York, v. 18, n. 6, p. 309-315, 2000.

LERMA, E. et al. The effect of HeNe laser radiation on thyroid gland of the rat. **International Journal of Experimental Pathology**, Oxford, v. 72, p. 379-385, 1991.

MAEGAWA, Y. et al. Effects of near-infrared low-level laser irradiation on microcirculation. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v. 27, n. 5, p. 427-437, 2000.

MARINO, J. A. M. **Efeito do laser terapêutico de baixa potência sobre o processo de reparação óssea em tibia de rato**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia das Radiações e dos Materiais) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

MEZAWA, S. et al. The possible analgesic effect of soft-laser irradiation on heat nociceptors in the cat tongue. **Archives of Oral Biology**, Elmsford, v. 33, n. 9, p. 693-694, 1988.

MISERENDINO, L. J.; PICK, R. M. **Laser in dentistry**. Chicago: Quintessence, 1995.

MIKAIL, S.; PEDRO, C. R. **Fisioterapia veterinária**. Barueri, SP: Manole, 2006.

MOHAMMED, I. F. R. et al. Promotion of regenerative processes in injured peripheral nerve induced by low level laser therapy. **Photomedicine and Laser Surgery**, Larchmont, NY, v. 25, n. 2, p. 107-111, 2007.

MOURA, R. A. et al. **Técnicas de laboratório**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

NICOLLI FILHO, W. D. et al. Efeitos da radiação laser do tipo hélio-neônio verde (550nm) no processo de reparo em feridas de extração dental: estudo histológico em ratos. **Revista de Odontologia da UNESP**, São Paulo, v. 2, n. 22, p. 213-221, 1993.

OHSHIRO, T. **Low reactive-level laser therapy practical application**. Chichester: John Wiley & Sons, 1991.

OHSHIRO, T.; FUJINO, T. Laser applications in plastic and reconstructive surgery. **The Keio Journal of Medicine**, Tokyo, v. 42, n. 4, p. 191-195, 1993.

OLIVEIRA, R. F. et al. Comparison between the effect of low level laser therapy and low intensity pulsed ultrasonic irradiation *in vitro*. **Photomedicine and Laser Surgery**, Larchmont, NY, v. 26, n. 1, p. 6-9, 2008.

PARRADO, C. et al. Estudio morfométrico de la glándula tiroidea sometida a irradiación láser IR II. Densidad de volumen epitelial e inverso del índice de activación. **Histologia Medica**, v. 4, p. 93-98, 1988.

_____. Quantitative study of the morphological changes in thyroid gland following IR laser irradiation. **Lasers in Medical Science**, London, v. 5, n. 77, p. 77-80, 1990.

PARRADO, C. et al. A quantitative investigation of microvascular changes in thyroid gland after infrared (IR) laser radiation. **Histology and Histopathology**, Murcia, v. 14, p. 1067-1071, 1999.

PÉREZ DE VARGAS, I. et al. Acción del láser IR sobre la glándula tiroidea. **Histologia Medica**, v. 3, n. 1, p. 117-126, 1987.

_____. Stological study of the thyroid gland following 904-nm laser radiation. **Optical Methods of Biomedical Diagnostics and Therapy**, p. 267-272, 1981.

PINHEIRO, A. L. B.; FRAME, J. W. Laser em odontologia: seu uso atual e perspectivas futuras. **Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre, v. 40, n. 5, p. 327-332, set./out. 1992.

PINHEIRO, A. L. B. et al. Low-level laser therapy in an important tool to treat disorders of the maxillofacial region. **Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery**, New York, v. 16, n. 4, p. 223-226, 1998.

PLAVNIK, L. M.; DE CROSA, M. E.; MALBERTI, A. I. Effect of low-power radiation (helium/neon) upon submandibular glands. **Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery**, New York, v. 21, n. 4, p. 219-225, 2003.

RIGAU I MAS, J. Bioenergía e Propriedades ópticas dos Tecidos. In: BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B. (Org.). **Lasers na odontologia moderna**. São Paulo: Pancast, 1998. p. 65-78.

RIGAU I MAS, J. et al. Changes in fibroblast proliferation and metabolism following "in vitro" helium-neon laser irradiation. **Laser Therapy**, v. 3, p. 25-33, 1991.

ROCHKIND, S. et al. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v. 9, n. 2, p. 174-182, 1989.

RODRIGO, S. M. et al. Analysis of the systemic effect of red and infrared laser therapy on wound repair. **Photomedicine and Laser Surgery**. Disponível em: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/pho.2008.2306>. Acesso em: 27 de agosto de 2009.

ROMANOS, G.; NENTWIG, G. Diode Laser (980nm) in Oral and maxillofacial Surgical Procedures. Clinical Observations Based on Clinical Applications. **Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery**, New York, v. 17, n. 5, p. 193-197, 1999.

ROSENSHEIN, J. The physics of surgical lasers. **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, Philadelphia, v. 9, n. 1, p. 33-47, 1997.

SCHINDL, A. et al. Low-Intensity laser therapy: a review. **Journal of Investigate Medicine**, Thorofare, NJ, v. 48, n. 5, p. 312-326, Sept. 2000.

_____. Systemic effects of low-intensity laser irradiation on skin microcirculation in patients with diabetic microangiopathy. **Microvascular Research**, San Diego, v. 64, p. 240-246, 2002.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente**. 5. ed. São Paulo: Santos, 1996.

SILVA JÚNIOR, A. N. et al. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. **Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery**, New York, v. 20, n. 2, p. 83-87, 2002.

SIMÕES, A. et al. Laser phototherapy effect on protein metabolism parameters of rat salivary glands. **Lasers in Medical Science**, London, v. 24, p. 202-208, 2009.

SMITH-AGREDA, V. et al. Aportaciones al estudio de las interacciones morfoquímicas de las células adenohipofisarias tras la estimulación com laser He/Ne 632,8 nm de baja potencia. **Investigacion y Clinica Laser**, v. 2, p. 51-62, 1985.

SOARES, L. P. et al. Effects of laser therapy on experimental wound healing using oxidized regenerated cellulose hemostat. **Photomedicine and Laser Surgery**, Larchmont, NY, v. 26, n. 1, p. 10-13, 2008.

SONIS, S. T.; FAZIO, R. C.; FANG, L. Princípios e Prática de Medicina Oral. In: _____. **Distúrbios da tireóide**. 2. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1996. p. 137-143.

STEINBECK, M. J.; WYNER, L. R. Immunoassay and Related Principles. In: ANDERSON, S. C.; COCKAYNE, S. **Clinical Chemistry: concepts and applications**. Philadelphia: HBJ International Edition; W. B. Saunders, 1993. p. 96-99.

TAKEDA, Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction: experimental study in rats. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Copenhagen, v. 17, p. 388-391, 1988.

THEODORO, L. H.; GARCIA, V. G.; MARCANTONIO JÚNIOR, E. Lasers em implantodontia. **Revista Brasileira de Cirurgia e Implantodontia**, Curitiba, v. 9, n. 33, p. 74-78, 2002.

TRELLES, M. A.; MAYAYO, E. Bone fracture consolidates master with Low-power laser. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v. 7, p. 36-45, 1987.

VIDAL, L.; PÉREZ DE VARGAS, I.; MATA, G. Ultrastructural changes in thyroid follicular cells during normal postnatal development and after infrared laser radiation. **Lasers in Medical Science**, London, v. 15, p. 227-237, 2000.

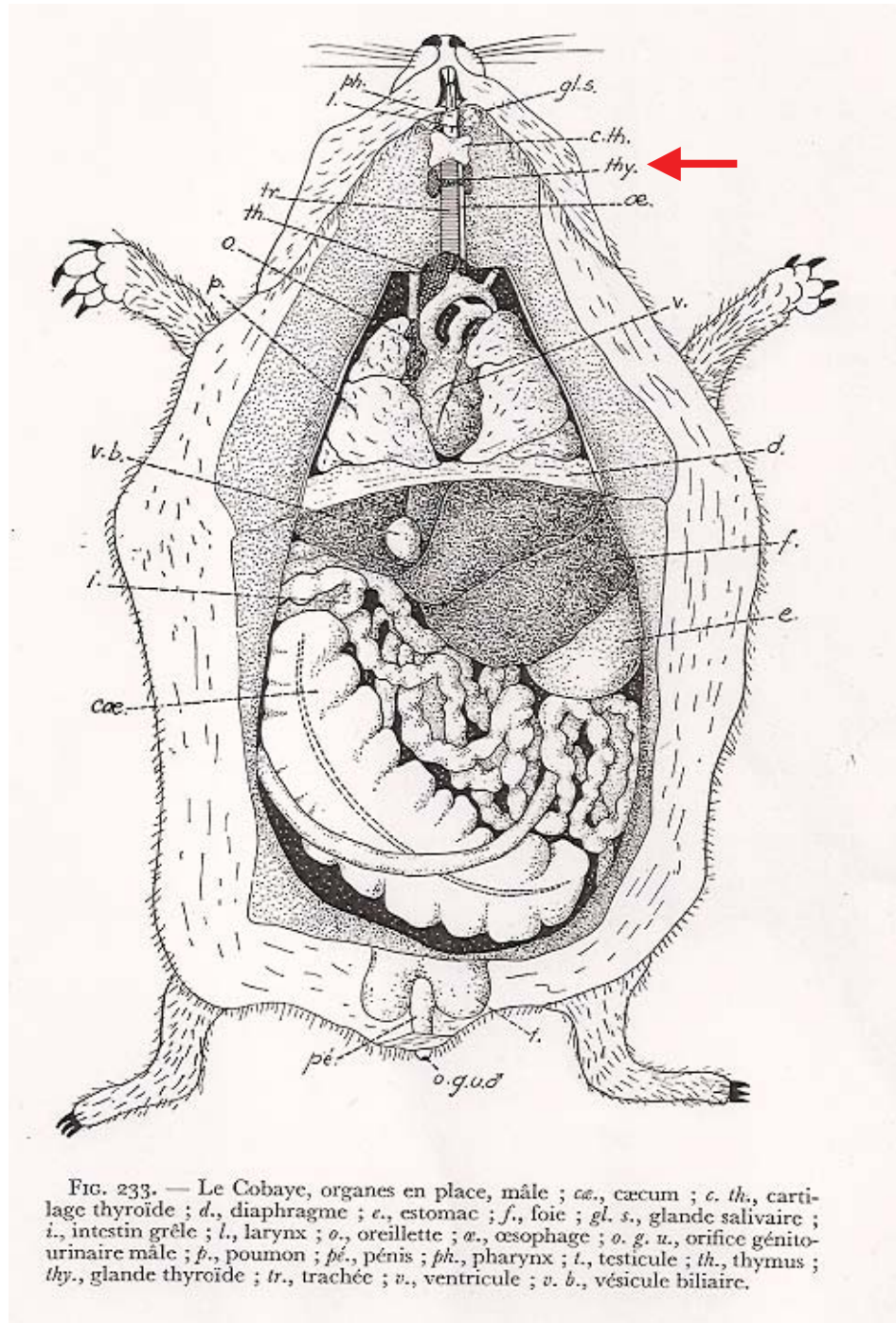
WEBER, J. B. B. et al. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. **Photomedicine and Laser Surgery**, Larchmont, NY, v. 24, n.1, p. 38-44, 2006.

YOUNG, B.; WHEATH, J. **Histologia funcional: texto e atlas em cores**. 4. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2000.



APÊNDICES

APÊNDICE A - Anatomia interna do coelho



Fonte: TIXIER, A.; GAELLARD, J.M. *Anatomie Animale et Dissection*. Paris: Vigat Freres Éditeurs, 1957.

APÊNDICE B- Resultados das dosagens hormonais pré-aplicação do *laser*

	T₃ (Triiodotironina)ng/ml	T₄ (Tiroxina) ug/dl
COELHO		
C1	1,56	3,47
C2	1,66	3,39
C3	1,43	3,6
C4	0,71	1,33
C5	1	3,1
C6	1,22	4,2
C7	1,14	3,12
C8	1,13	3,07
A1	2,07	4,54
A2	1,48	3
A3	2,86	10,55
A4	1,56	2,87
A5	1,35	3,1
A6	1,12	3,6
A7	1,02	2,69
A8	0,65	2,53
T1	1,41	3,94
T2	1,19	3,31
T3	1,25	3,6
T4	0,88	2,59
T5	0,98	3,27
T6	0,81	2,55
T7	0,54	2,51
T8	0,72	2,17

COELHOS C: GRUPO CONTROLE

COELHOS A: GRUPO EXPERIMENTAL I (LASER APLICADO NO ALVÉOLO)

COELHOS T: GRUPO EXPERIMENTAL II (LASER APLICADO NA TIREÓIDE)

APÊNDICE C - Resultados das dosagens hormonais pós-aplicação do *laser*

	T₃ (Triiodotironina)ng/ml	T₄ (Tiroxina) ug/dl
COELHO		
C1	1,49	4,36
C2	1,41	3,74
C3	1,24	4,61
C4	1,17	2,64
C5	0,84	2,43
C6	1,25	4,91
C7	1,1	3,26
C8	1,32	2,45
A1	1,8	4,3
A2	1,36	3,04
A3	2,67	6,77
A4	1,61	3,14
A5	1,38	3,46
A6	1,27	3,41
A7	1,09	3,35
A8	0,66	2,62
T1	1,05	5,82
T2	1,27	3,22
T3	1,29	3,65
T4	1	1,86
T5	1,26	3,11
T6	0,95	2,63
T7	0,97	3,68
T8	0,84	1,97

COELHOS C: GRUPO CONTROLE

COELHOS A: GRUPO EXPERIMENTAL I (LASER APLICADO NO ALVÉOLO)

COELHOS T: GRUPO EXPERIMENTAL II (LASER APLICADO NA TIREÓIDE)



ANEXOS

**ANEXO A - Protocolo da Comissão Científica e de Ética da Faculdade de
Odontologia da PUCRS**



*Comissão Científica e de Ética
Faculdade da Odontologia da PUCRS*

Porto Alegre 11 de julho de 2005

O Projeto de: Tese

Protocolado sob nº: 0060/05

Intitulado: *Efeito do laser de baixa potência (GaAIs) no funcionamento da glândula tireóide: estudo em coelhos*

do(a) aluno(a): *Bruna Rodrigues Fronza*

Programa de: *Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial*

do curso de: *Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial*

Nível: *Doutorado*

Orientado pelo(a): *Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber*

Foi **aprovado** pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS em *08 de julho de 2005*.

Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira
Presidente da Comissão Científica e de Ética da
Faculdade de Odontologia da PUCRS

ANEXO B - Protocolo do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Ofício 1450/06-CEP

Porto Alegre, 18 de dezembro de 2006.

Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa registro CEP 06/03417, intitulado: **“Efeito do laser de baixa potência (GaAIAs) no funcionamento da glândula tireóide: estudo em coelhos”**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios parciais e final da pesquisa devem ser entregues a este CEP.

Atenciosamente,


Prof. Dr. José Roberto Goldim
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)
Dr(a) João Batista Blessmann Weber
N/Universidade

PUCRS

Campus Central
Av. Ipiranga, 6690 – 3º andar – CEP: 90610-000
Fone/Fax: (51) 3320-3345
E-mail: cep@pucrs.br
www.pucrs.br/prppg/cep

ANEXO C - Normas para a Prática Didático Científica da Vivissecção em Animais²⁰

Art. 01 – Fica permitida, em todo o território nacional, a vivissecção de animais, nos termos desta lei.

Art. 02 – Os biotérios e os centros de experiências e demonstrações com animais vivos deverão ser registrados em órgão competente e por ele autorizados a funcionar.

Art. 03 – A vivissecção não será permitida:

- I** – sem o emprego de anestesia;
- II** – em centros de pesquisa e estudos não registrados em órgão competente;
- III** – sem supervisão de técnico especializado;
- IV** – com animais que não tenham permanecido mais de 15 dias em biotério legalmente autorizados;
- V** – em estabelecimento de ensino de 1° e 2° graus e em quaisquer locais freqüentados por menores de idade.

Art. 04 – O animal só poderá ser submetido às intervenções recomendadas nos protocolos das experiências que constituem a pesquisa ou os programas de aprendizagem cirúrgica, quando, durante ou após a vivissecção, receber cuidados especiais.

Parágrafo 1º – Quando houver indicação, o animal poderá ser sacrificado sob estrita obediência às prescrições científicas.

Parágrafo 2º – Caso não sejam sacrificados, os animais utilizados em experiências ou demonstrações somente poderão sair do biotério 30 (trinta) dias após a intervenção, desde que destinados a pessoas ou entidades idôneas que por eles queiram responsabilizar-se.

Art. 05 – Os infratores da lei estarão sujeitos:

- I** – às penalidades cominadas no artigo 64, caput, do Decreto-lei 3.688 de 03/10/1941, no caso de ser a primeira infração;
- II** – à interdição e cancelamento do registro do biotério ou do centro de pesquisas, no caso de reincidência.

²⁰ BRASIL. Lei 6638 de 08 de maio de 1979, que estabelece normas para a prática didático-científica da vivissecção de animais e determina outras providências.

Art. 06 – O poder Executivo, no prazo de 90 (noventa) dias, regulamentará a presente Lei, especificando:

I – o órgão competente para o registro e a expedição de autorização dos biotérios e centros de experiências e demonstrações com animais vivos;

II – as condições gerais exigíveis para o registro e o funcionamento dos biotérios;

III – órgão e autoridades competentes para fiscalização dos biotérios em centros mencionados no inciso I.

Art. 07 – Esta Lei entra em vigor na data da sua publicação.

Art. 08 - Revogam-se as disposições em contrário.

ANEXO D - Princípios Éticos na Pesquisa Experimental²¹

Art. I – Todas as pessoas que pratiquem a experimentação biológica devem tomar consciência de que o animal é dotado de sensibilidade, de memória e que sofre sem poder escapar a dor;

Art. II – O experimentador é, moralmente responsável por suas escolhas e por seus atos na experimentação animal;

Art. III – Procedimentos que envolvam animais devem prever e se desenvolver considerando-se sua relevância para a saúde humana o animal, a aquisição de conhecimentos ou o bem da sociedade;

Art. IV – Os animais selecionados para um experimento devem ser de espécie e qualidade apropriadas a apresentar boas condições de saúde, utilizando-se o número mínimo necessário para se obter resultados válidos. Ter em mente a utilização de métodos alternativos tais como modelos matemáticos, simulação por computador e sistemas biológicos “*In vitro*”;

Art. V – É imperativo que se utilizem os animais de maneira adequada, incluindo ai evitar o desconforto, angústia e dor. Os investigadores devem considerar que os processos determinantes de dor ou angústia em seres humanos causam o mesmo em outras espécies, a não ser que o contrário tenha se demonstrado;

Art. VI – Todos os procedimentos com animais, que possam causar dor ou angústia, precisam se desenvolver com sedação, analgesia ou anestesia adequadas. Atos cirúrgicos ou outros atos dolorosos não podem se realizados em animais não anestesiados e que estejam apenas paralisados por agentes químicos e/ou físicos;

Art. VII – Os animais que sofram dor ou angústia intensa ou crônica, que não possam se aliviar e os que não serão utilizados devem ser sacrificados por método indolor e que não cause estresse;

²¹ Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

Art. VIII – O uso de animais em procedimentos didáticos e experimentais pressupõe a disponibilidade de alojamento que proporcione condições de vida adequada às espécies, contribuindo para sua saúde e conforto. O transporte, a acomodação, a alimentação e os cuidados com os animais criados ou usados para fins biomédicos devem ser dispensados por técnico qualificado;

Art. IX – Os investigadores e funcionários devem ter qualificação e experiência adequadas para exercer procedimentos em animais vivos. Deve-se criar condições para seu treinamento no trabalho, incluindo aspectos de trato e uso humanitário dos animais de laboratório.

ANEXO E - Declaração da Coordenação de Produção e Experimentação Animal da FEPPS para realização da pesquisa



Centro de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico – CDCT
Coordenação de Produção e Experimentação Animal



Estado do Rio Grande do Sul

AUTORIZAÇÃO

A COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL, da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, informa que a pesquisadora **Bruna Rodrigues Fronza** solicitou nosso apoio para a realização de sua pesquisa intitulada "**EFEITO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA (GaAIA) NO FUNCIONAMENTO DA GLÂNDULA TIREÓIDE: ESTUDO EM COELHOS**" que, uma vez aprovada pelo Comitê de Ética de sua instituição, poderá ser desenvolvida em nossas instalações.

Porto Alegre, 29 de junho de 2005.

Luisa Maria Gomes de Macedo Braga
Chefia da CPEA

Luisa Macedo Braga
Médica Veterinária
CRMV-1-2393 Matr.: 12178233

ANEXO F - Laudo da intensidade do aparelho Thera Lase® realizado pelo Departamento de Física da PUCRS



LABORATÓRIO DE IRRADIAÇÃO E RADIOMETRIA
GRUPO DE FÍSICA DAS RADIAÇÕES - GFR
NÚCLEO DE PESQUISA EM INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA
CENTRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM FÍSICA - PUCRS

1/3



Relatório Espectrorradiométrico N° 0006IEI/05 - GFR

Data 13/09/05

MEDIDA DE IRRADIÂNCIA ESPECTRAL E IRRADIÂNCIA

1. REQUERENTE

Razão Social/Nome: Faculdade de Odontologia da PUCRS – Marília Gerhardt de Oliveira
Endereço: Av. Ipiranga, 6681 – Prédio 6
Cep: 90619-900
Cidade: Porto Alegre – RS
Telefone: 3320-3538

2. DESCRIÇÃO DOS ITENS ENSAIADOS ^[1]

A tabela 2.1 identifica as duas fontes lasers ensaiadas do seguinte equipamento:

- **Marca:** DMC.
- **Modelo:** Thera Laser.
- **Tensão:** 127 V.
- **Número de série:** TLSR0391.

2.1 Tabela de Identificação:

Código	Tipo	Potência	Obs.
0006IEI/05 – 01	Fonte Laser Vis	35 mW	---
0006IEI/05 – 02	Fonte Laser IR	100 mW	---

[1] Informações fornecidas pelo requerente.

3. INSTRUMENTO DE MEDIDA

- Espectrorradiômetro: Detecção espectral entre 250-1100 nm em intervalos de 1 nm, com largura de banda não excedendo a 2,5 nm.
- Certificado de Calibração n° 506074717 de 07/06/05.

4. MÉTODO DE MEDIDA

Método realizado de acordo com o Procedimento Técnico Interno de Medida de Irradiância Espectral Difusa.

- Distância fonte - detector: $(2,5 \pm 0,1)$ cm.
- Intervalos de medida: 400 - 800 nm e 750 - 1100 nm.



Relatório Espectrorradiométrico

Nº 0006IEI/05 - GFR

Continuação

Data 13/09/05

5. RESULTADO DAS MEDIDAS ^[2]

Tabela com Valores da Irradiância Difusa e Espectros das fontes identificadas pelo código da Tabela 2.1.

5.1 Tabela de Irradiância Difusa e Comprimento de Onda:

Código	Comprimento de Onda	Irradiância Difusa
0006IEI/05 – 01	683 nm	2,87 Wm ⁻²
0006IEI/05 – 02	829 nm	13,22 Wm ⁻²

5.2 Anexo I: Espectros da Irradiância Espectral Difusa x Comprimento de Onda, para as fontes de radiação identificada pelo código da Tabela 2.1.

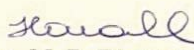
[2] Observações:

- Incerteza das medidas: 251-400 nm : ± 4.0 %; 400-900nm: ± 3.3%; 900-1000: ± 5.1%; 1000-1100: ± 8.0%.
- Para as medidas de irradiância de barreiras (filtros, óculos, tecidos, entre outros) será acrescida ao código da fonte empregada a seguinte identificação: letra A para a primeira barreira, letra B para segunda e assim, sucessivamente.
- Esse relatório espectrorradiométrico é válido exclusivamente para as amostras identificadas na Tabela 2.1, não sendo extensivo a quaisquer lotes, mesmo que similares.
- O relatório espectrorradiométrico não deve ser reproduzido sem prévia autorização.

Esclarecimento:

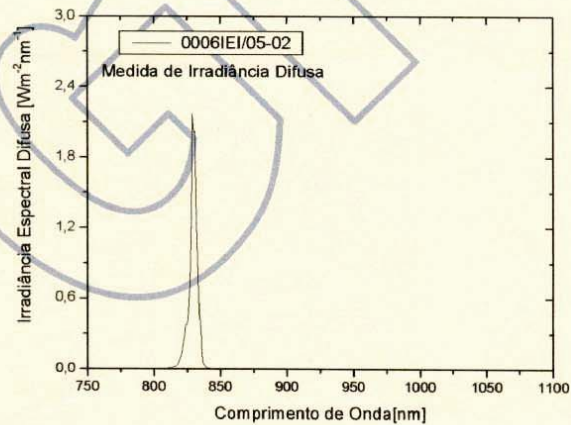
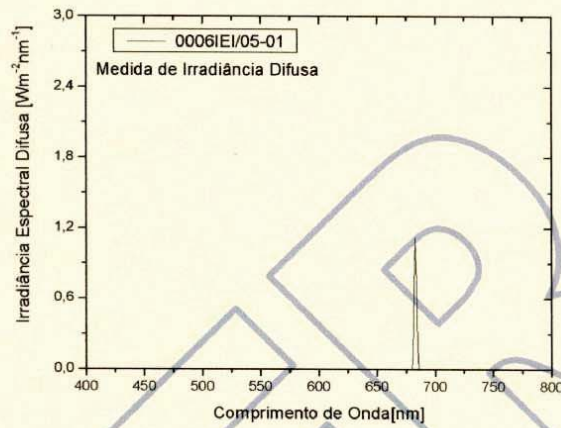
O presente Relatório Espectrorradiométrico nº 0006IEI/05 – GFR está inserido na rede de convênio-cooperação desse Laboratório com o solicitante desse serviço. Como consequência toda divulgação dessas medidas deverá ser acompanhada com a descrição: “Resultados concedidos pelo Grupo de Física das Radiações (GFR-PUCRS)”.

Porto Alegre, 13 de setembro de 2005.


Dra. M. R. Rizzatti
Coordenadora do GFR-PUCRS



ANEXO I (3/3)



ANEXO G - Autorização do Laboratório Veterinário - Laborvet para realização da pesquisa

Porto Alegre, 30 de junho de 2005.

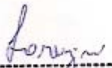
À Comissão Científica e de Ética
Faculdade de Odontologia
PUCRS

Prezados Senhores

Vimos, por meio desta, informar que a pesquisadora BRUNA RODRIGUES FRONZA solicitou nosso apoio para a realização de sua pesquisa intitulada **Efeito do laser de baixa potência (GaAIs) no funcionamento da glândula tireóide: estudo em coelhos**, que será desenvolvida no Doutorado em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, que uma vez aprovada pelo Comitê de Ética de sua instituição, poderá ser desenvolvida em nossas instalações.

LABORVET – LABORATÓRIO VETERINÁRIO LTDA




GUSTAVO LORENZINI
Méd. Veterinário, M. Sc.
Resp. Técnico - CRMV/RS 5509


RICARDO LINDSTAEDT
CRMV-RS 5434

ANEXO H - Teste imunoenzimático – ELISA^{22,23}

Kit para teste imunoenzimático para determinação quantitativa de triiodotironina em soro ou plasma. Somente para uso diagnóstico in vitro.

INTRODUÇÃO

A quantificação da concentração de triiodotironina no soro geralmente é considerada como uma valiosa ferramenta no diagnóstico das disfunções da tireóide. O teste de T3 total quantifica a concentração de triiodotironina no soro. O T3 aumenta em quase todos os casos de hiperiroidismo e normalmente aumenta antes dos níveis de T4. Assim o T3 é um indicador mais sensível de hipertiroidismo que o T4 Total. No hipotiroidismo o T3 se apresenta até mesmo normal quando o T4 está baixo. O T3 diminui durante a fase aguda da doença, e é afetado por doses severas de medicamentos incluindo Inderal, esteróides e o amiodarone.

Este teste quantifica as duas formas do hormônio livre e a ligada. Somente o hormônio livre é biologicamente ativo, mas é somente 0.5% do total. Nada que afeta as concentrações de TBG ou albumina irá afetar o T4 total, porém, irá afetar o T3 livre.

PRINCÍPIO

As microplacas estão recobertas com anticorpos anti-T3. Ao misturar o anticorpo imobilizado com o T3, conjugado enzimático e o soro contendo T3 nativo, uma reação de competição entre o T3 nativo e o T3 conjugado à enzima se inicia, por um número limitado de locais de ligação.

Quando o equilíbrio é atingido, a fração de anticorpo livre não ligada ao antígeno será separada por decantação ou aspiração. A atividade da enzima presente na superfície do poço será quantificada através da reação com o substrato devido a produção de cor. A atividade de enzima na fração não ligada do anticorpo é inversamente proporcional à concentração de antígeno nativo.

Através da utilização de vários soros referências com diferentes concentrações conhecidas de antígeno, uma curva padrão pode ser gerada no qual a concentração de antígeno de uma amostra desconhecido pode ser determinada. Através da comparação com a curva padrão, a atividade de uma amostra desconhecida pode ser correlacionada com concentração de triiodotironina total.

REAGENTES

- 1- Microplaca: Uma microplaca com 96 poços (12 strips x 8 poços quebráveis) recoberto com anticorpo de cabra anti-Triiodotironina e embalada em uma bolsa de alumínio com um agente dessecante. Trazer a temperatura ambiente antes do uso para prevenir qualquer formação de umidade no interior da bolsa. Recoloque os micropoços não utilizados na bolsa com dessecante e armazene a 2- 8°C.
- 2- Enzima conjugado 1.5ml/frasco.

²² Teste imunoenzimático para determinação quantitativa de triiodotironina (T₃), em soro ou plasma, utilizado pelo Laboratório LABORVET – Análises Clínicas Veterinárias.

²³ O mesmo método com um kit de teste para T₄ foi utilizado para determinação quantitativa de tiroxina.

Um frasco de triiodotironina conjugada a peroxidase (HRP) de Horseradish ao HRP com estabilizante de proteína. 11 x conc.

3- Diluente de Conjugado: 1 x 22ml

Um frasco contendo inibidores de proteínas ligadas e Kathon como preservativo.

4- Curva padrão. 6 x 1.0ml/frasco. Pronto para uso. Os valores dos padrões são:

0ng/dl - 0nmol/l (amarelo)

50ng/dl - 0.77nmol/l (azul)

100ng/dl - 1.54nmol/l (verde)

250ng/dl - 3.85nmol/l (laranja)

500ng/dl - 7.7nmol/l (vermelho)

750ng/dl - 11.55nmol/l (púrpura)

Contém thimerosal e sulfato de gentamicina como preservativo.

FATOR DE CONVERSÃO

$\mu\text{g/L} \times 1.54 = \text{nmol/L}$

$\text{Nmol/L} \times 0.649 = \mu\text{g/L}$

5- Solução de Lavagem 1 x 50ml

20x Concentrado. Contém tampão fosfato e detergente (Tween 20). Antes do uso diluir para 1.000ml com água destilada. Algumas vezes, cristais podem estar presentes quando a solução é armazenada a uma temperatura de 2 – 8°C, mas se dissolvem a temperatura ambiente, ou quando a solução concentrada é diluída.

6- TMB-Substrate

Um frasco contendo Um frasco contendo tetrametilbenzidina (TMB) em tampão. Precaução, armazenar protegido da luz.

7- Solução de Parada : 1x 15ml. Pronto para uso. Contém 0.3 M H₂S₀₄. Precaução: Manuseie com cuidado

8- Cartão de selagem: 2 cartões de selagem para serem usados na proteção da placa durante a incubação.

9- Instruções para o uso

Nota: Todos os produtos que contêm soro humano apresentam-se não reativos para o antígeno de Superfície da Hepatite B, HIV 1&2 e Anticorpos do HCV ensaiados com testes aprovados pelo FDA. Como nenhum teste conhecido pode oferecer garantia completa que os agentes infecciosos estão ausentes, todos os produtos que contêm soro humano deve ser manipulados como sendo potencialmente perigoso e capaz de transmitir a doença. Procedimentos de boas práticas de laboratório podem ser encontrados centro para controle de doenças/instituto nacional de saúde, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", segunda edição, 1988, HHS publication (CDC) 88-8395.

COLETA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Colete 10 ml da amostra(s) através da punção venosa em tubos siliconizados de 10ml. As precauções usuais de coleta por punção venosas devem ser observadas. Separe as células vermelhas por centrifugação e utilize o soro ou plasma para o procedimento de T3. A(s) amostra(s) pode ser refrigerada(s) a uma temperatura de 2-8°C por um período máximo de 48 horas. Se a(s) amostra(s) não puder(em) ser analisada(s) dentro de 48 horas, a(s) amostra(s) pode(m) ser armazenada(s) a uma temperaturas de -20°C por até 30 dias.

PREPARO DOS REAGENTES

1-T3 enzima conjugado

Dilua o Triiodotironina Enzima conjugado com o diluente de conjugado em recipiente adequado. Por exemplo, dilua 160µl de conjugado com 1.6ml do diluente para 16 poços. Este reagente deve ser utilizado dentro de vinte e quatro horas no máximo para garantir o bom desempenho do ensaio. Armazenar a 2-8°C.

Fórmula geral:

Quantidade de diluente necessária = número de poços X 0,1

Quantidade de enzima necessária = número de poços X 0,01

2-Solução de Lavagem

Dilua o conteúdo da Solução de Lavagem concentrada para 1000ml com água destilada ou deionizada e armazenar em recipiente adequado.

A solução diluída é estável até 1 semana quando armazenada a temperatura ambiente ou por 2-3 semanas se armazenada a 2-8°C.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Antes de iniciar o procedimento de ensaio traga todos os reagentes, soros de referência e controles a temperatura ambiente (20 – 30°C).

1. Formate os poços da microplaca para cada soro de referência, controle e amostra de paciente a ser ensaiado em duplicata.
2. Pipete 50 µl do soro de referência apropriado, e amostra de paciente no interior do poço determinado. Pipete cuidadosamente na região central do poço.
3. Adicionar 0.100 ml (100µl) a solução de Triiodotironina conjugada a enzima já preparada (Ver preparação de reagentes).
4. Agitar a microplaca gentilmente for 20-30 segundos e cobrir.
5. Incubar por 60 minutos a temperatura ambiente.
6. Descarte o conteúdo da microplaca por decantação ou aspiração. Se for decantação seque a microplaca com papel absorvente.
7. Adicionar 300µl do tampão de lavagem (ver Preparação de Reagente), decante (tape e seque) ou aspire. Repita duas (2) vezes para obter no final um total de três (3) lavagens. Uma lavadora de microplaca automática ou manual também pode ser utilizada. Seguir as instruções do fabricante para a utilização apropriada. Se uma garrafa squeeze for utilizada, preencha o conteúdo de cada poço evitando a formação de bolhas. Realize a decantação e repita a operação por mais duas vezes.
- 8- Adicione 100µl da solução substrato TMB em todos os poços. Sempre adicionar os reagentes na mesma ordem para minimizar os diferentes tempos de reação entre os poços.
- 9- Incubar a temperatura ambiente por quinze minutos (15) minutos.
- 10- Adicionar 100µl da solução de parada em cada poço e gentilmente agitar por 15-20 segundos Sempre adicionar os reagentes na mesma ordem para minimizar os diferentes tempos de reação entre os poços.
- 11- Ler a absorbância de cada poço a 450nm em uma leitora de microplaca. O resultado deve ser lido dentro de trinta (30) minutos após a adição da solução de parada.

Nota: Para um novo ensaio de amostras com concentrações superiores a 750 ng/ml, pipete 25µl da amostra e 25µl de soro referência nos poços (para manter uma concentração uniforme de proteínas). Multiplique o resultado por 2 para obter a concentração de triiodotironina .

RESULTADOS

A curva de referência é usada para determinar a concentração de triiodotironina das amostras desconhecidas.

- 1.Registre as absorvâncias obtidas através da impressão da leitora de microplacas.
- 2.Plote a absorvância para cada duplicada dos soros de referência versus a concentração correspondente de triiodotironina em ng/dl ou nmol/L no papel gráfico linear (não calcule a média das duplicatas do soro de referência antes de plotar).
- 3.Puxe a curva de melhor ajuste através dos pontos plotados.
- 4.Para determinar o nível de concentração de triiodotironina para um desconhecido, localize a média de absorvância das duplicatas de cada desconhecido no eixo vertical do gráfico, determine o ponto de intersecção da curva e leia a concentração (em ng/dl ou mmol/L) no eixo horizontal do gráfico.

PARÂMETROS DO CQ

A relação entre a absorvância de cada calibrador e os anteriores devem ser > 1.1 .

INTERVALOS DE VALORES ESPERADOS

Estudo de uma população de adulta com eutireóide foi utilizada para determinar valores esperados para o Sistema Teste T3 EIA.

Valores Esperados para o Sistema Teste T3 EIA

Média (ng/dl)= 118.5

Desvio Padrão= 33.4

Intervalos Esperados ($\pm 2SD$)= 52 - 185

É importante se lembrar de que estabelecimento de um intervalo e valores que podem ser esperados que foi encontrado por um determinado método para uma população de pessoas "normais" é dependente de inúmeros fatores: a especificidade do método, a população ensaiada e a precisão do método nas mãos do analista. Por estas razões cada laboratório deve determinar o seu intervalo de normalidade levando se em consideração a área geográfica que o laboratório está situado.

Sensibilidade

O procedimento de ensaio do sistema da triiodotironina tem uma sensibilidade de 0.04 ng/ml. A sensibilidade foi determinada averiguando a variação de 20 réplicas do soro calibrador 0 ng/dl - (95% certeza) para calcular a dose mínima.

REFERÊNCIAS

- 1-Barker, S.B., "Determination of Protein Bound Iodine." Journal Biological Chemistry, 173, 175, (1948).
- 2-Chopra, I.J., Solomon, O.H., and Ho, R.S., RIA Radioimmunoassay of Triiodothyronine," J. Clinical Endocrinol, 33,865 (1971).
- 3-Young, D.S., Pestaner, L.C., and Gilberman, U., "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests." Clinical Chemistry, 21, 3660 (1975).
- 4-Sterling, L., Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease, Cleveland CRC Press, P. 19-51 (1975). Tuesday, June 23, 1998-EQUIPAR,s.r.l.-