

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CARLOS RICARDO DE QUEIROZ MARTINIANO

**INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO NÃO IONIZANTE SOBRE A
MARCAÇÃO DE CÉLULAS SANGÜÍNEAS COM ^{99m}Tc *IN*
VITRO E CICATRIZAÇÃO EM CAMUNDONGOS *IN VIVO*.**

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA
MESTRADO EM BIOFÍSICA**

RECIFE

2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA
MESTRADO EM BIOFÍSICA

**INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO NÃO IONIZANTE SOBRE A
MARCAÇÃO DE CÉLULAS SANGÜÍNEAS COM ^{99m}Tc *IN*
VITRO E CICATRIZAÇÃO EM CAMUNDONGOS *IN VIVO*.**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO CURSO DE
MESTRADO EM BIOFÍSICA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO PARA A OBTENÇÃO
DO GRAU DE MESTRE EM BIOFÍSICA.

CARLOS RICARDO DE QUEIROZ MARTINIANO

**ORIENTADORA: PROF^a DRA. MARIA TERESA
JANSEM DE A. CATANHO**

RECIFE

2003

Ficha Catalográfica

MARTINIANO, Carlos Ricardo de Queiroz.

T197p Influência da Radiação não Ionizante sobre a Marcação de Células Sangüíneas com $^{99\text{M}}\text{Tc}$ in vitro e Cicatrização em Camundongos in vivo / Carlos Ricardo Martiniano de Queiroz – Recife – PE, 2003.

Orientador: Sérgio Eduardo Montes Carneiro.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas.

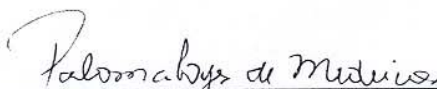
01-0167-BFE

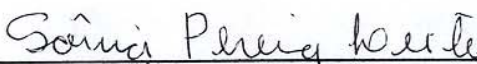


UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA
COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM BIOFÍSICA

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO ALUNO **CARLOS RICARDO QUEIROZ MARTINIANO**, APRESENTADA, ÀS NOVE HORAS, NO AUDITÓRIO DO DEPTO. BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA DO DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA (DBR) DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (CCB) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), AOS NOVE DIAS DO MÊS DE OUTUBRO DE DOIS MIL E TRÊS, INTITULADA: "**INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO NÃO IONIZANTE SOBRE A MARCAÇÃO DE CÉLULAS SANGÜÍNEAS COM ^{99m}Tc IN VITRO E CICATRIZAÇÃO EM CAMUNDONGOS IN VIVO**" E ORIENTADA PELA PROFA. MARIA TERESA JANSEM (DEPTO. BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA/UFPE). A BANCA EXAMINADORA CONSTITUÍDA PELOS PROFESSORES DOUTORES: MAURICY ALVES DA MOTTA (DEPTO. BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA/UFPE) – NA QUALIDADE DE PRESIDENTE - EM SUBSTITUIÇÃO AO MEMBRO TITULAR PROFA. JULIANNA FERREIRA CAVALCANTI DE ALBUQUERQUE (DEPTO. ANTIBIÓTICOS/UFPE), PALOMA LYS DE MEDEIROS (DEPTO. HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA/UFPE) E SÔNIA PEREIRA LEITE (DEPTO. HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA/UFPE), FOI APRESENTADA AOS PRESENTES PELA PROFA. MARIA TERESA JANSEM CATANHO (COORDENADORA DO MESTRADO EM BIOFÍSICA). A SEGUIR, O MESTRANDO EXPÔS SEU TRABALHO EM TEMPO HÁBIL. NA SEQUÊNCIA, OS EXAMINADORES PROCEDERAM AS ARGUIÇÕES E O PARECER FINAL. O RESULTADO FOI O SEGUINTE: PROF. MAURICY ALVES DA MOTTA: **APROVADO**, PROFA. PALOMA LYS DE MEDEIROS: **APROVADO**, PROFA. SÔNIA PEREIRA LEITE: **APROVADO**. DIANTE DAS MENÇÕES CITADAS E DE ACORDO COM O REGIMENTO DA PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOFÍSICA E A RES. 03/98 DO CCEPE O ALUNO FOI CONSIDERADO **APROVADO**, FAZENDO JUZ AO TÍTULO DE **MESTRE EM BIOFÍSICA**. NADA MAIS HAVENDO A REGISTRAR FIRMAM ESTE DOCUMENTO OS MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA. RECIFE, 09 DE OUTUBRO DE 2003.

ASS: 
PROF. MAURICY ALVES DA MOTTA

ASS: 
PROFA. PALOMA LYS DE MEDEIROS

ASS: 
PROFA. SÔNIA PEREIRA LEITE

confere original
Valeria
Valéria Lemos de Oliveira
Secretária do Mestrado em
Biofísica

Quando a sabedoria penetrar em teu coração,
E o saber deleitar a tua alma,
A reflexão velará sobre ti,
Amparar-te-á a razão

Provérbios

Minha Eterna Gratidão

Ao meu pai Carlos Rolim Martiniano, pelos seus ensinamentos profissionais e de vida, que diariamente ponho em prática. A meu inesquecível pai, que sempre me incentivou a percorrer como ele, o caminho do magistério, à sua maneira sempre positiva de encarar a vida, à sua facilidade de sonhar e à sua capacidade intelectual e espiritual de lutar por todos os seus sonhos. Graças a ele estamos concluindo mais uma etapa de nossa vida profissional.

Dedico este trabalho aos meus pais Carlos Rolim e Livia, que sempre me incentivaram, a minha querida esposa Marise e aos meus filhos Manuela e Emanuel, razões de todo o meu esforço.

AGRADECIMENTOS

- ▶ A Deus pelo Dom da vida.
- ▶ A professora Maria Teresa Jansem pelo incentivo, sua solidariedade, seus ensinamentos profissionais e pessoais e pela oportunidade de realizar esta tese sob sua orientação.
- ▶ A minha esposa Marise que sempre me apoiou nos momentos difíceis.
- ▶ A Dra. Grace Mary e Dra. Simey Magnata pela sua bondade e ensinamentos durante a fase experimental e conclusão dos trabalhos.
- ▶ Aos alunos de Iniciação Científica Edgar, Jailson e Marília pela ajuda inestimável para a realização dos experimentos.
- ▶ Aos colegas do Curso de Mestrado, pela convivência agradável e enriquecedora em todos os momentos do curso.
- ▶ A Universidade Vale do Acaraú pelo convênio com a Universidade Federal de Pernambuco.
- ▶ A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

A densidade energética de baixa potência (Laser e campo eletromagnético) vem sendo utilizada, nos últimos anos, com bastante frequência na área médica e odontológica. O principal uso do Laser é auxiliar o reparo tecidual, para aliviar a dor, controlar a inflamação e o edema. Enquanto que, a ação de campos eletromagnéticos de baixa frequência sobre os seres vivos é alvo de estudo ao longo dos últimos anos e tem se constatado a sua interferência sobre a debilidade do sistema endócrino. Vale ressaltar que o estudo de marcação das hemácias com tecnécio-99m é usado para diversas avaliações em medicina nuclear incluindo o estudo do volume sanguíneo em tratamento intensivo neurológico. Este trabalho visa avaliar a influencia da radiação não ionizante sobre a marcação de hemácias "in vitro" e avaliar o efeito do laser na cicatrização em camundongos. Para isto foram utilizadas amostras de sangue de ratos da linhagem Wistar com 60 dias de idade pesando cerca de 240g. O sangue foi colhido por punção cardíaca e dividido em dois grupos. O primeiro para ser submetido à indução com Laser de Baixa Potência (LBP) nas seguintes densidades energéticas separadamente: 3, 6, 9 e 18 J/cm². Nos experimentos, com a indução do LBP foram utilizados o EDT A e a Heparina como anticoagulante. O segundo grupo foi submetido a um campo eletromagnético (CEM) de 60 Hz durante 2, 4, 17 e 21 horas separadamente. Após a indução do laser e do campo eletromagnético as amostras de sangue foram submetidas a marcação com Tecnécio 99m (^{99m}Tc). Os resultados mostram que a presença de EDT A e Heparina no sangue, como anticoagulante é capaz de modificar a captação de tecnécio-99m pelas hemácias. A indução do laser promove uma redução da capacidade de ligação do tecnécio-99m a partir de 3J/cm² obtendo uma redução em torno de 50% e permanecendo inalterada até 18J/cm². Por outro lado, pode-se verificar que o campo eletromagnético também altera a capacidade de ligação em função do tempo de exposição, porém a inibição da captação pelas hemácias é menos acentuada que o laser. No experimento "in vivo" com camundongos machos, após incisões no abdome da ordem de 1 cm, com posterior aplicação do laser na densidade energética de 3J/cm², na incisão esquerda, observa-se que 48 horas após as aplicações, o tecido epitelial e conjuntivo, macroscopicamente, encontra-se totalmente livre de inflamação e infecção e com uma cicatrização superficial mais pronunciada que a incisão direita. Pode-se concluir que o laser e o campo eletromagnético promovem alterações na marcação dos elementos sanguíneos, e o laser é capaz de acelerar o reparo celular.

ABSTRACT

The energy density of low potency (Laser and electromagnetic field) comes being used, in the last years, with sufficient frequency in the medical and dentistry area. The main use of the Laser is auxiliary the tecidual repair, to alliviate pain, to contrai the inflammation and oedema. While that, the action of the low frequency electromagnetic field on the livings creature is studied in the last years and interfer on the endocrine system. The study of labeling red blood cells with ^{99m}Tc is used for diverge evaluations in nuclear medicine including the study of the sanguine volume in neurological intensive treatment. This paper aims to evaluate influences of the not ionizing radiation on the uptake of red blood cells "in vitro" and for evaluate the effect of the laser in the cicatization in mice. For this, samples of ancestry Wistar rats blood was used with 60 days of age weighing about 240g. The first experiment was applied differents doses of gallium arsenid laser witht energy density of: 3, 6, 9 and 18 J/cm^2 . The experiment was realized with EDT A and Heparina as anticoagulating. The second group was submitted to an electromagnetic field (CEM) of 60 Hz during 2, 4, 17 and 21 hours separately. After the induction of the laser and the eletromagnetic field, the samples of blood were submitted the labeling with ^{99m}Tc . The results show that the presence of EDTA and Heparina in the blood, as anticoagulating, modify the ^{99m}Tc uptake. The induction of the laser promotes a reduction of the capacity of ^{99m}Tc labeling from $3\text{J}/\text{cm}^2$ reducing on around 50% and remaining unchanged until $18\text{J}/\text{cm}^2$. Henceforth, it can be verified that the electromagnetic field algo modifies the capacity of labeling in function of the exposition time, however the inhibition of the red blood cells uptake is less that the laser. The experiment "in vivo" with male mice, after incisions in abdome of the arder of one cm, with posterior application of the energy density laser of $3\text{J}/\text{cm}^2$, in the left incision, were observed 48 hours after, the epithelial and conjunctive tissue showed without inflamation and infection and with a cicatrize superficial than the right incision. Concluded that the laser and the electromagnetic field promote alterations in the labeling on the elements blood, and the laser is capable to speed up the cellular repair.

LISTA DE ABREVIATURAS

- CEM - Campo Eletromagnético
- EGF - Fator de Crescimento Endotelial
- EMC - Matriz Extracelular
- FgFb - Fator de Crescimento Fibrablastico
- IL-1 - Interleucina-1
- InGaAIL-Fosfeto de Índio Gálio e Alumínio
- LBP - Laser de Baixa Potência
- LET - Energia de Transferência Linear
- PDGF - Fator de Crescimento derivado de Plaquetas
- PET - Tomografia por Emissão Positron
- PMN - Polimorfonucleares
- SPECT - Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único
- TNF - Fator de Necrose Tumoral
- VSC - Volume Sanguíneo Cerebral
- TGF - Fator de Transformação do Crescimento

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1	Gráfico da porcentagem da captação do Tecnécio no plasma e nas hemácias frente a indução com o laser.....	46
Fig. 2	Gráfico da porcentagem de captação do Tecnécio nas porções solúveis e insolúveis das células frente a indução com o Laser.	47
Fig. 3	Gráfico da porcentagem de captação do Tecnécio nas porções solúveis e insolúveis no plasma frente a indução com o Laser..	48
Fig. 4	Gráfico da porcentagem de captação do Tecnécio no plasma e nas hemácias frente ao campo eletromagnético de GOH_2	49
Fig. 5	Gráfico da porcentagem de captação do Tecnécio na porção insolúvel das células frente a ação do campo eletromagnético de GOH_2	50
Fig. 6	Gráfico da porcentagem de captação do Tecnécio na porção solúvel e insolúvel do plasma frente a ação do campo eletromagnético.....	52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 Considerações Gerais	13
1.2 O Laser	13
1.2.1 Considerações gerais	14
1.2.2 História do Laser	15
1.2.3 Propriedades da Luz Laser	16
1.2.4 A Radiação Laser.....	17
1.2.4.1 Propriedades Físicas.....	17
1.2.4.2 Emissão Espontânea.....	17
1.2.4.3 Emissão Estimulada.....	18
1.2.5 Classificação dos Lasers	19
1.2.5.1 Tipos de Lasers.....	19
1.2.6 Emissores de Laser	20
1.2.6.1 Cavidade Ressonante.....	20
1.2.6.2 Fonte de Energia	20
1.2.7 Efeitos Terapêuticos da Luz Laser.....	20
1.2.7.1 Efeito Analgésico	20
1.2.7.2 Efeito Antinflamatório	21
1.2.8 Interação Tecidual	22
1.2.8.1 Efeitos Primários ou Diretos	22
1.2.8.2 Efeitos Secundários ou Indiretos	23
1.2.8.3 Aspectos Moleculares	23
1.2.8.4 Bases da Aplicação Terapêutica do Laser	23
1.3 A Ação do Campo Eletromagnéticos sobre Organismos Vivos	25
1.3.1 Campos Elétricos e Magnéticos	26
1.3.1.1 Acoplamento a Campos Elétricos de Baixa Freqüência.....	28
1.3.1.2 Acoplamento a Campos Magnéticos de Baixa Freqüência ..	29
1.3.1.3 Absorção da energia de campos eletromagnéticos	29
1.3.2 Mecanismos de Interação Celular.....	30

1.3.3 Bases Biológicas para Limitar a Exposição (até 100KHz)	30
1.4 Marcação de Hemácias e Proteínas Plasmáticas com Tecnécio 99m.	32
1.5 Processo de Cicatrização Tecidual.....	37
2. OBJETIVOS	41
2.1 Gerais	41
2.2 Específicos	41
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
3.1 Obtenção das Amostras de Sangue	42
3.1.1 Indução do Laser nas Amostras Sangüíneas	42
3.1.2 Indução do Campo Eletromagnético nas Amostras	42
3.2 Método da Marcação das Hemácias e Proteínas Plasmáticas com Tecnécio 99m	43
3.3 Experimento “In Vivo”	44
3.4 Análise estatística	45
4. RESULTADOS.....	46
4.1 Indução das Células Sangüíneas com Laser de Baixa Freqüência utilizando EDTA como Anticoagulante	46
4.2 Indução das Células Sangüíneas com o Laser de Baixa Potência utilizando Heparina como Anticoagulante.....	47
4.3 Indução das Células Sangüíneas com o Campo Eletromagnético de 60 Hz.....	48
4.4 Observações da Reparação de Feridas Cirúrgicas em Camundongos, usando o Laser de Baixa Potência	50
5. DISCUSSÃO	53
6. CONCLUSÕES	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58