

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FISIOLÓGICOS E MOLECULARES DA LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA - LLLT – EM TECIDO ADIPOSEO DE RATOS SUBMETIDOS OU NÃO À SUPLEMENTAÇÃO TERMOGÊNICA.

Arthur Barbosa Vecchi Lopes¹; Juliana do Nascimento Pereira Orphão²; Carla de Brito Teixeira³; Fernando Francisco Pazello Mafra⁴; Michel Monteiro Macedo⁵; Rodrigo Alvaro Brandão Lopes-Martins⁶

Estudante do curso de Educação Física; vecchilopes@gmail.com¹

Estudante do curso de Nutrição; julianaorphao@outlook.com²

Estudante do curso de Nutrição; carlinhadebrito@hotmail.com³

Doutorando em Engenharia Biomédica; fernando.mafra@bol.com.br⁴

Doutorando em Engenharia Biomédica; mm.chel@hotmail.com⁵

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; ralopesmartins@gmail.com⁶

Área de Conhecimento: Biologia Molecular; Física medicinal;

Palavras-chave: laserterapia; tecido adiposo; expressão gênica

INTRODUÇÃO

O tecido conjuntivo adiposo é um tecido composto principalmente por adipócitos e que desempenha uma série de atividades metabólicas e endócrinas. Além de estocar energia em forma de triacilgliceróis, o mesmo contém células neuronais, estroma vascular e componente do sistema imunológico (Kershaw e Flier, 2004). O tecido adiposo não só responde aos sinais do sistema endócrino e do sistema nervoso, mas também sintetiza e secreta hormônios com funções endócrinas importantes como a leptina, citocinas, adiponectina e resistina (Kershaw e Flier, 2004). O tecido adiposo unilocular é um tecido conjuntivo, com predominância de adipócitos. São células que acumulam gordura, que podem ser os triglicerídeos os ésteres de colesterol (Toda et al. 2009). Essas células formam grandes agregados, com um citoplasma preenchido quase totalmente pela gordura. (Trayhurn e Beattie, 2001). Esse é o tecido adiposo mais abundante no corpo humano, e seu acúmulo é influenciado por alguns fatores, por exemplo, sexo e idade do indivíduo (Coelho et al. 2013). A estimulação por LASER de baixa potência desempenha uma série de efeitos celulares. Na literatura já foram demonstrados alguns trabalhos sobre os efeitos da Laserterapia de baixa potência (LLLT - *Low Level LASER therapy*) no tecido adiposo. E com base nos processos lipolíticos supracitados é que se objetiva a pesquisa com o Laser de baixa potência, (LLLT - *Low Level LASER therapy*). Apfelberg (1992), já descrevia em sua pesquisa, resultados positivos para lipólise, como resposta às aplicações do laser. No entanto, os poucos estudos existentes não vislumbram análises moleculares mais detalhadas, o que compromete o melhor entendimento das respostas da LLLT no tecido adiposo.

OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo analisar os efeitos da LLLT no tecido adiposo e suas possíveis implicações no metabolismo lipídico, na presença ou ausência de suplementação termogênica (cafeína).

METODOLOGIA

Materiais: Ratos Wistar machos de 4 semanas (adulto jovem), pesando aproximadamente 200 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade de Mogi das Cruzes, foram

utilizados para experimentação *in vivo*. Os animais foram divididos em 4 grupos> Controle WT (CTL) (n = 5); Animais irradiados com suplementação (CAF (L)) (n = 5); Animais irradiados sem suplementação (CTL (L)) (n = 10); Animais não irradiados com suplementação (CAF) (n = 10). A aplicação do LASER de baixa potência ocorreu em modo de contato direto com a pele na região anatômica onde se encontra o tecido adiposo branco subcutâneo (face posterior da coxa, lado direito e esquerdo). Os grupos experimentais foram irradiados 1 vez ao dia, 5 vezes na semana (segunda-feira à sexta-feira), durante 4 semanas com um cluster de LASER de 904 nm (IRRADIA , SE) contendo 3 diodos de modo a vislumbrar 3 J de energia total por ponto irradiado EM 50s, perfazendo um total de 9J de energia em dois locais, totalizando 18J pro animal. O grupo experimental suplementado recebeu, por gavagem, durante 4 semanas, 6 mg/Kg de cafeína. O sangue dos animais foi coletado através da secção caudal sem anestesia e o soro foi utilizado para quantificação de triglicerídeos e colesterol, através dos kits triglicérides monoreagente (Bioclin - Brasil) e Para a quantificação dos níveis de colesterol séricos, foi utilizado o kit colesterol monoreagente (Bioclin - Brasil), respectivamente. Os animais foram sacrificados através do método de decapitação por guilhotina sem o uso de anestésicos para não ocorressem modulações negativas no tecido adiposo (Mersmann, 1983). O tecido adiposo foi extraído e, submetido a extração de RNA pelo protocolo de Trizol (Life Technologies - EUA) e sintetizado o cDNA através do kit High Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Applied biosystems - EUA). Os genes analisados por PCR em tempo real foram o receptor beta-2-adrenérgico, Lipase Hormônio Sensível, Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF-alfa) e Receptor de Leptina. Os dados obtidos foram apresentados na forma de média \pm erro padrão da média. Foi aplicado análise de variância (One Way ANOVA) seguida de verificação *post-hoc* de Tukey. As diferenças estatisticamente significantes serão consideradas onde o valor de p forem menores ou iguais à 0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Inicialmente foram realizados os testes apenas com a irradiação laser de baixa potência em uma dose de 3 J em 6 pontos diferentes que contemplassem a porção de tecido adiposo do animal. Em um período de 4 semanas de irradiação, é possível verificar que, na média, os animais irradiados apresentaram uma massa de tecido adiposo branco maior do que o grupo controle, sendo esta diferença ligeiramente não significativa ($p = 0,07$). Porém não se observa essa diferença quando comparado os grupos que ingeriram cafeína (irradiados ou não) (Figura 1)

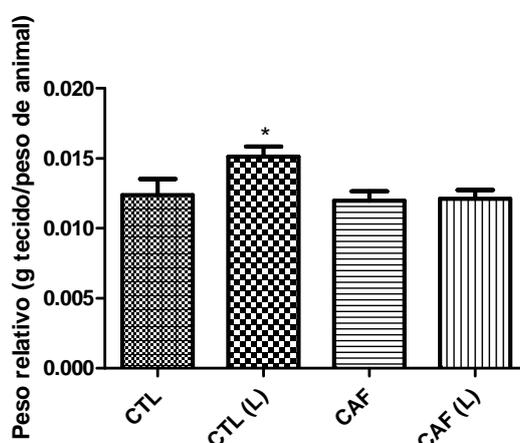


Figura 01: comparação da massa do tecido adiposo branco dos ratos controle (CLT = 5), Cafeína (CAF = 10) e ratos irradiados com 3J/cm² sem cafeína (CTL (L) = 5) e com cafeína (CAF (L) =

10). CTL = $0,01237 \pm 0,00257$; L = $0,0151301 \pm 0,001581$; CAF = $0,0119765 \pm 0,002087$; CAF (L) = $0,0121085 \pm 0,001977$. $p = 0,07$

Em seguida, verificou-se se houberam variações nos níveis de triglicerídeos e colesterol sérico nos animais tratados com LASER, cafeína ou ambos. É possível verificar que há diferença estatística entre os grupos, sendo uma ligeira tendência nos aumentos dos níveis séricos de triglicerídeos e colesterol nos grupos irradiados (DADOS NÃO MOSTRADOS). Por fim, em relação à expressão de genes no tecido adiposo, é possível verificar que o grupo que recebeu radiação com LASER infravermelho e cafeína apresentou uma queda na expressão de todos os genes analisados, porém, o efeito sinérgico de queda na expressão gênica não foi obtida no grupo cafeína mais LASER (Figura 2 A, B, C e D).

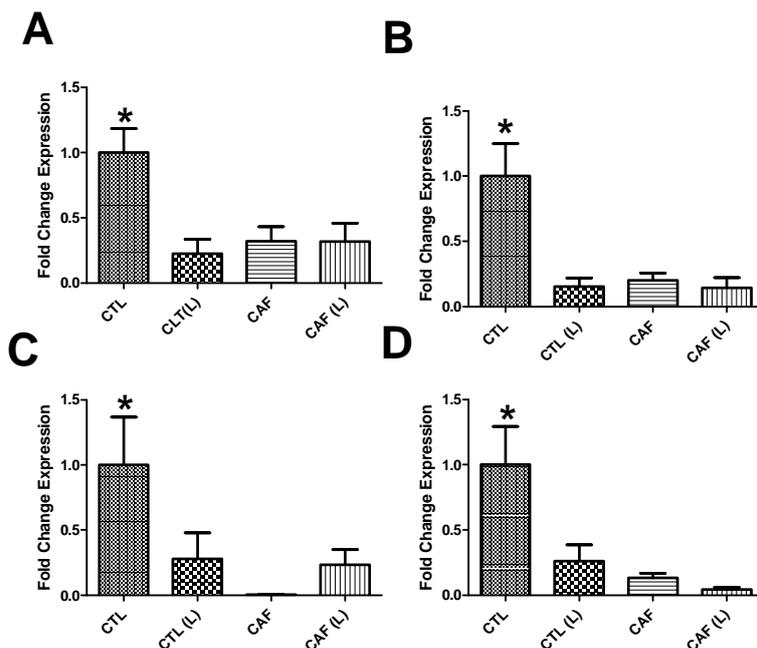


Figura 2: Análise da expressão gênica de produtos do tecido adiposo. **A:** Lipase Hormônio Sensível. CTL = $1 \pm 0,522$; CTL (L) = $0,222 \pm 0,2754$; CAF = $0,3198 \pm 0,3166$; CAF (L) = $0,3186 \pm 0,3710$. **B:** Receptor Beta 2 adrenérgico. CTL = $1 \pm 0,78$; CTL (L) = $0,1536 \pm 0,1655$; CAF = $0,20 \pm 0,1586$; CAF (L) = $0,14 \pm 0,1939$. **C:** TNF-alfa. CTL = $1 \pm 1,162$; CTL (L) = $0,2758 \pm 0,5318$; CAF = $0,005 \pm 0,004$; CAF (L) = $0,2343 \pm 0,3279$. **D:** Receptor de Leptina. CTL = $1 \pm 0,8783$; CTL (L) = $0,2623 \pm 0,3047$; CAF = $0,1337 \pm 0,9618$; CAF (L) = $0,4171$. Em todas as circunstâncias, $p > 0,05$ do grupo controle em comparação aos demais.

CONCLUSÕES:

Foi possível observar no presente estudo que a dose de radiação infravermelha por LASER de baixa potência empregada no tecido adiposo dos animais promoveu uma diminuição na expressão gênica de fatores que desencadeiam respostas catabólicas no tecido adiposo. É fundamental uma análise mais profunda dos resultados para que, posteriormente, seja possível o uso da LLLT com finalidades terapêuticas que promovam o ganho de massa de tecido adiposo em doenças responsáveis por lipodistrofias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Kershaw, E E. and Flier, J S. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, June 2004, 89(6):2548–2556

Trayhurn P, Beattie JH. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc.* 2001 Aug;60(3):329-39.

Apfelberg, D. Laser-assisted liposuction may benefit surgeons and subjects. *Clin Laser Mon.* 1992, 10(12):193-4.