

Efectos de la sobredosificación con láser de arseniuro de galio sobre el cuádriceps de ratas

Effects of gallium arsenide laser irradiation overdose on the quadriceps of rats

Mónica Mercado L,^{1*} Ph.D, Cristina Pallares V,¹ Vet, Sebastián González A,¹ Vet, Marcelo Toledo S,¹ MV.

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas Chorroarin 280 (1417) Capital. República Argentina. *Correspondencia: mercado@fvet.uba.ar

Recibido: Agosto de 2011; Aceptado: Febrero de 2012.

RESUMEN

Objetivo. Obtener información de los efectos de la irradiación con laser con el objeto de determinar dosis en la que se observen efectos deletéreos sobre el tejido muscular. **Materiales y métodos.** Se estudiaron 20 ratas macho Sprague Dawley y fueron divididas aleatoriamente en cuatro grupos de 5 individuos. En todos los grupos se realizó la irradiación con laser, empleando un equipo de diodo de Arseniuro de Galio. Se aplicó en forma puntual 1 vez al día durante 10 días consecutivos. El tiempo de exposición y las dosis diarias siguieron el siguiente arreglo: grupo A, 15 minutos y 24.3 Julios, grupo B, 30 minutos y 48.6 Julios, grupo C, 45 minutos y 72.9 Julios, grupo D, 60 minutos y 97.2 Julios. Se tomaron muestras del cuádriceps para microscopía óptica y microscopía electrónica. **Resultados.** La microscopía óptica no mostró alteraciones en ninguno de los grupos estudiados. Al microscopio electrónico se observaron alteraciones ultraestructurales solamente en el grupo D. **Conclusiones.** El rango entre la dosis terapéutica y la que produce alteraciones ultraestructurales en el tejido muscular es tan amplio que hace del laser un eficiente elemento seguro para la terapia física.

Palabras clave: Laser, músculo, ratas, sobredosis (*Fuente: CAB*).

ABSTRACT

Objective. To obtain information on the effects of laser irradiation in order to determine maximum free of deleterious effects dose on muscle tissue. **Materials and methods.** Twenty male Sprague Dawley rats were studied randomly divided into four groups A, B, C and D. All groups were irradiated with a Laser, using a Gallium Arsenide diode machine. Irradiation was applied in the same point once a day for 10 consecutive days. Groups: A: 15 minutes a day, with a total dose of 24.3 Joules, B: 30 minutes, 48.6 Joules, 45 minutes, 72.9 Joules C: D: 60 minutes, 97.2 joules. Samples from quadriceps were taken for optical and electron microscopy. **Results.** No alterations were exposed under optical microscopy in any of the groups studied. The electron micrographies showed ultrastructural alterations only in D Group. **Conclusions.** The difference between the therapeutic dose and the doses that produce ultrastructural alterations in muscle tissue is so great that it make of laser an efficient and safe element to be used in physical therapy.

Key word: Lasers, overdose, rats, muscle (*Source: CAB*).

INTRODUCCIÓN

La fisioterapia veterinaria emplea con frecuencia la técnica de laser, para el tratamiento de diversas enfermedades musculoesqueléticas. La palabra laser es la sigla de la denominación inglesa: "Light enlargement by stimulated emission of radiation". Posee características físicas como monocromía (una única longitud de onda), coherencia (ondas electromagnéticas emitidas en fases que oscilan en la misma cadencia), emisión direccional (divergencia muy débil) e intensidad (1). Existen distintos tipos de laser. Uno de los más utilizados en terapia física es del tipo de diodo semiconductor de Arseniuro de Galio (AsGa), que emite en la banda infrarroja con longitud de onda comprendida entre los 780 y 905 nm (2). Se genera a través de la aplicación de una corriente eléctrica que excita partículas del material semiconductor, portadoras de cargas positivas y negativas, que luego se neutralizarán. Este proceso genera fotones (3,4) de alta energía, capaces de penetrar los tejidos. Clínicamente actúan como antiinflamatorios y analgésicos, siendo de elección en afecciones musculares, tendinosas y articulares (5,6). A pesar de que esta forma terapéutica se utiliza desde hace más de 20 años, no existen aún suficientes evidencias científicas de su acción sobre los distintos tipos de células y tejidos *in vivo*. Existen discrepancias entre distintos autores respecto a las dosis terapéuticas recomendadas.

La laserterapia se aplica en forma puntual o de barrido. En el humano frecuentemente se utiliza una dosis de 8 a 15 Julios por punto. Algunos autores detectaron que a una dosis acumulativa (4 aplicaciones de una dosis cada 48 h) de 12 y 24 Julios se observa un efecto deletéreo de la radiación sobre el cartílago de crecimiento en ratas (7). Rodríguez-Martín (2) recomienda dosis que oscilan entre 2 y 30 Julios por cada cm² de tejido vivo. La técnica puntual es de elección, ya que la técnica de barrido hace difícil la dosificación.

Del Águila (4) indica que una potencia de 0.84 Julios aplicada en forma puntual continua por un lapso de 2 minutos, provoca necrosis dermoepidérmica tórpida.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la posible producción de lesiones sobre el tejido muscular con dosis superiores a las terapéuticas indicadas en medicina humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio. El experimento se realizó en el laboratorio de la Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires.

Muestra. Se estudiaron 20 ratas, macho, Sprague Dawley de 70 días de edad y de 450 g de peso corporal.

Se dividieron en forma aleatoria en cuatro grupos A, B, C, y D cada uno con 5 individuos. Todos los sujetos presentaban el cuádriceps sin lesiones.

Equipo. Se utilizó un equipo emisor laser de Arseniuro de Galio (AsGa) marca Vip modelo Junior, fabricado en Buenos Aires, Argentina. El mismo emite en una longitud de onda de 904 nanómetros (nm), con una potencia media de 0.027 Watts (W) a una frecuencia de 5000 Hertz (Hz) y con una duración de cada pulso de 200 nanosegundos (nseg).

Aplicación de laser. En todos los grupos se aplicó el laser en forma puntual apoyando el diodo sobre 1 cm² de piel a la altura del tercio medio del fémur sobre el cuádriceps del miembro posterior derecho, utilizándose como control, el miembro posterior izquierdo.

La irradiación se realizó durante 10 días consecutivos, en una sesión diaria. En todos los grupos se aplicó la misma potencia media (0.027 Watts) variando el tiempo de aplicación. Grupo A: 15 minutos; Grupo B: 30 minutos; Grupo C: 45 minutos y Grupo D: 60 minutos, logrando dosis para: G. A: 24.3 Julios, G. B: 48.6 Julios, G. C: 72.9 Julios y G. D: 97.2 Julios, respectivamente.

Finalización del período experimental. Se tomaron muestras del músculo irradiado y del control. Para ello los animales fueron anestesiados con xilazina (15 mg/kg) y ketamina (70 mg/kg). La biopsia muscular tomada fue escisional.

Las muestras para microscopio óptico fueron fijadas en formaldehído al 10% y teñidas con Hematoxilina-Eosina y Tricrómico de Gomori.

Las muestras para microscopio electrónico, siguiendo las técnicas standard, fueron colocadas en glutaraldehído a 4°C inmediatamente, la inclusión se realizó en resina epóxica; los cortes se hicieron con ultramicrotomo y se empleó la coloración doble de Reynolds-uranilo. Las observaciones se efectuaron con un microscopio

de transmisión marca IEÖL 1200 EX, a 85 Kv en aumentos crecientes de 4000 a 150.000X

RESULTADOS

La microscopía óptica mostró estructura histológica normal en todas las muestras procesadas, sin ninguna evidencia de desorganización fibrilar ni alteraciones nucleares (Figuras 1 y 2).

El estudio con microscopía electrónica se

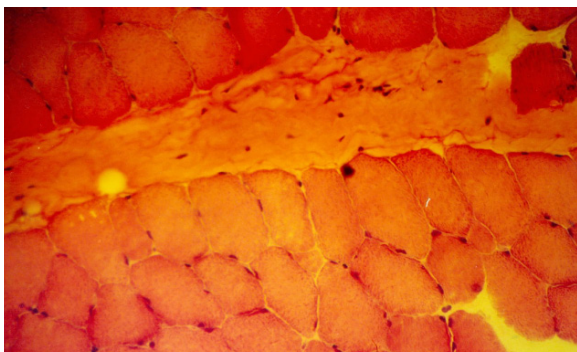


Figura 1. Corte del cuádriceps coloreado con Hematoxilina-Eosina. Grupo control (microscopio óptico- 40X). Técnica de biopsia escisional. Todas las fibras se presentan cortadas transversalmente.

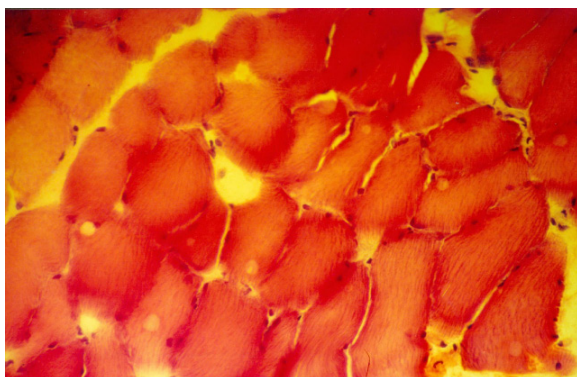


Figura 2. Corte del cuádriceps coloreado con Hematoxilina-Eosina. Grupo tratado. No se observan lesiones. (microscopio óptico- 40X)

realizó incrementando progresivamente la magnificación hasta 100.000X. No se detectaron alteraciones ultraestructurales en los grupos A, B y C (Figuras 3, 4 y 5).

En el grupo D, con un aumento de 12.000X se observaron alteraciones de los organelos en el corte transversal. Se detectó incremento de la distancia interfibrilar y microfragmentación a nivel de las fibras de miosina. En magnificación de 100.000X se evidenciaron alteraciones

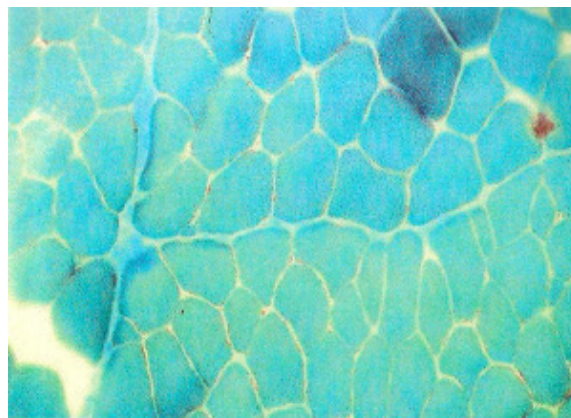


Figura 3. Corte del cuádriceps coloreado con Tricrómico de Gomori. Grupo tratado. Las fibras musculares se ven de color azul y los núcleos rojos. No se observan lesiones.

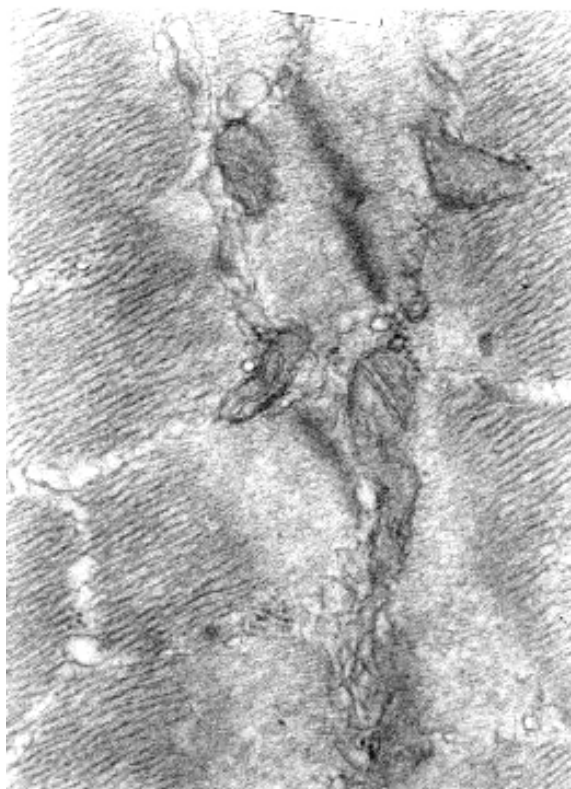


Figura 4. Cuádriceps miembro posterior izquierdo de rata. X30K. Corte transversal. Control. (Microscopio Electrónico)

del retículo sarcoplásmico, consistentes en desintegración de las membranas tubulares y obstrucción tubular. Además, se observó desintegración de las crestas en la mayoría de las mitocondrias (Figura 5, Tabla 1).

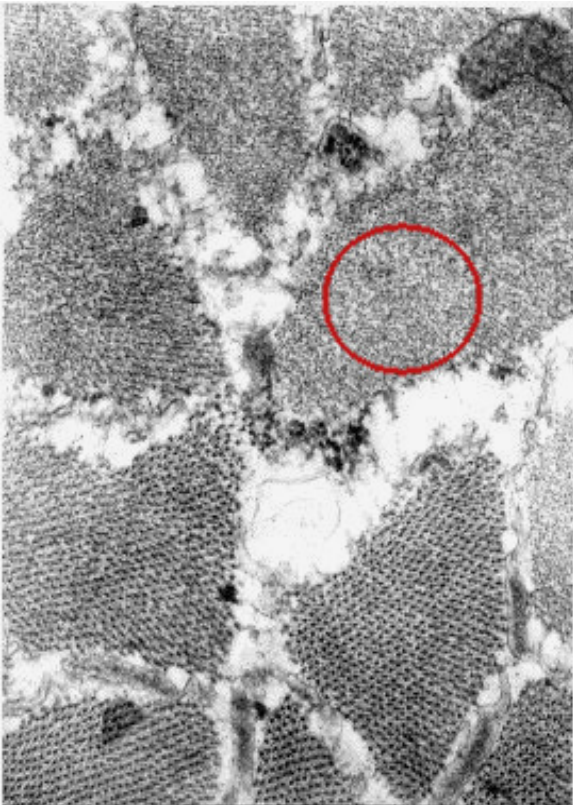


Figura 5. Cuádriceps de rata miembro posterior derecho de rata. X25K. Corte transversal. (Microscopio Electrónico). Obsérvese el edema interfibrilar.

Tabla 1. Efectos de los distintos tratamientos evaluados mediante microscopio óptico y electrónico.

Tratamiento con laser (AsGa) 904 nm. Dosis: Julios y tiempo aplicación en minutos	Microscopio óptico. Tejido muscular	Microscopio Electrónico. Tejido muscular
Grupo A 24.3 Julios. 15 minutos.	No se observan lesiones	No se observan lesiones
Grupo B 48.6 Julios. 30 minutos.	No se observan lesiones	No se observan lesiones
Grupo C 72.9 Julios. 45 minutos.	No se observan lesiones	No se observan lesiones
Grupo D 97.2 Julios. 60 minutos.	No se observan lesiones	Alteraciones ultraestructurales: microfragmentación fibras miosina-actina, alteraciones sistema retículo sarcoplásmico.

DISCUSIÓN

El laser de Arseniuro de Galio posee características físicas que permiten su utilización en fisioterapia. Los efectos beneficiosos observados clínicamente son principalmente analgésicos y antiinflamatorios, lo cual lo convierte en un tratamiento de elección en afecciones articulares, tendinosas y musculares.

En el presente estudio la utilización de laser de diodo de Arseniuro de Galio a dosis terapéuticas no produjo alteraciones. Sin embargo, una dosis superior a la recomendada permitió detectar lesiones ultraestructurales a nivel mitocondrial.

Por más de dos décadas, una serie de estudios efectuados en ratas reveló que los fotones generados por el laser son absorbidos por enzimas de la cadena respiratoria mitocondrial y por la membrana celular (5,8,9). Se determinó que hay activación de enzimas y se inicia la producción de ATP y ADN. También se detectaron modificaciones en la permeabilidad de la membrana. La susceptibilidad del músculo esquelético al tratamiento estaría relacionada con su alto contenido mitocondrial y la presencia de células satélites (6,10).

Rodríguez (2) recomienda dosis entre 2 y 30 Julios en cada cm^2 de tejido vivo. Del Águila (4) estima que, aunque no hay valores establecidos con respecto de la máxima potencia permitida para el haz, no parece posible superar los 1.2 Julios. Recomienda para una aplicación puntual continua, que la máxima exposición para 0.84 Julios no debe ser mayor a 60 segundos.

De los resultados obtenidos puede concluirse que la irradiación con laser de Arseniuro de Galio en dosis iguales o inferiores a 72.9 J/cm^2 por día durante 10 días consecutivos no produce alteraciones ultraestructurales en el tejido muscular de ratas (Figura 1 y 2).

Sin embargo, la aplicación de dosis iguales o mayores a 97.2 J/cm^2 producen alteraciones ultraestructurales caracterizadas por la separación y microfragmentación de los filamentos de miosina y actina; así como alteraciones del sistema retículo sarcoplásmico (Figuras 4 y 5).

REFERENCIAS

1. Barroca E, Zibecchi C. *Electrofisiatría, fundamentos y aplicaciones clínicas*. Buenos Aires, Argentina: Editorial FASTA; 2007. 165-179.
2. Rodríguez Martín J. *Electroterapia en fisioterapia*. Buenos Aires. República Argentina. Editorial Médica Panamericana. 2004. 547-606.
3. Millis D, Levine D, Taylor R. *Canine Rehabilitation Physical Therapy*. St. Louis. Missouri. USA. Editorial Saunders. 2004. 345-355.
4. Del Águila C. *Electromedicina* Buenos Aires. República Argentina. Editorial Hispano Americana S.A HASA. 1994 .103-128.
5. Silveira P, Acordi da Silva L, Fraga D, Freitas T, Streck E, Pinho R. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in muscle healing by low-level laser therapy. *J Photobiol* 2009; 95(2):89-92.
6. Matamala VF, Cornejo UR, Vasconcellos C. Efecto del láser asga sobre la anatomía normal de la articulación témporo mandibular (ATM) de conejos. *Rev Cient (Maracaibo)* 2009; 19(1):31-37.
7. Maestro A, Pérez Casas A, Bengoechea ME, Murcia A. Alteraciones fisiarias tras radiación LÁSER. *Rev Esp Cir Osteoar* 1994; 29(169):15-21.
8. Millis DL, Francis D, Adamson C. Emerging modalities in veterinary rehabilitation. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2005; 35(6):1335-1355.
9. Parra L, Matamala Vargas F, Silva Mella H. Efecto morfológico de la irradiación láser AsGa en el músculo esquelético de rata. *Int J Morfhol* 2007; 25(1):43-50.
10. Bolondi A, Gaggino O, Monesiglio J. *Microscopía electrónica técnicas generales*. Secretaría de Agricultura y Pesca. Centro de investigaciones en Ciencias Veterinarias. Instituto de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires; Argentina: 1987.