

# REPARO ÓSSEO EM OSTEOMIAS EXPERIMENTAIS EM FEMORES DE RATOS UTILIZANDO A LASERTERAPIA COMO TRATAMENTO

**Danillo Barbosa<sup>1</sup>, Phd. Dr Antonio José Guillermo Balbin Villaverde<sup>2</sup>, Phd. Dra Emília Ângela Loschiavo Arisawa<sup>3</sup>, Msc. Ana Maria Barbosa<sup>4</sup>, Mcs. Claudia Maria de Oliveira Monteiro da Silva<sup>5</sup>, Carola Gomes Agréda<sup>6</sup>, Renato Aparecido de Sousa<sup>7</sup>**

<sup>1</sup> UniVap-IP&D- Laboratório de Instrumentação Biomédica

<sup>2</sup> UniVap-IP&D- Laboratório de Instrumentação Biomédica

<sup>3</sup> UniVap-IP&D- Coordenadora Curso Biomédica

<sup>4</sup> UniVap-IP&D- Laboratório de Instrumentação Biomédica

<sup>5</sup> Univap-IP&D- Coordenadora Curso Odontologia

<sup>6</sup> Unesp-São José dos Campos- Departamento de Diagnóstico e Cirurgia

<sup>7</sup> Asmec – Professor de Anatomia

[fdanillobarbosa@yahoo.com.br](mailto:fdanillobarbosa@yahoo.com.br)

**Resumo** -Este trabalho teve com objetivo avaliar a densidade mineral óssea em 15 de ratos da raça wistar, usando duas modalidades terapêuticas de laser (Flash laser III, da DMC®). Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos com 5 animais cada (*G1 controle, G2 tratado com laser 660 nm e tratado com laser 830 nm*). Foi realizada osteotomias nos femores direito de cada animal, com uma broca denominada trefina de 2.8 mm. Os animais do G2 e G3 foram submetidos ao tratamento com o laser imediatamente após os procedimentos cirúrgicos, o G1 foi manipulado da mesma forma, porém não recebeu nenhum tratamento. Os animais foram tratados por 7 dias, perfazendo um total de 3 aplicações, com 48 horas de intervalo entre as aplicações. Após o término deste período os animais foram sacrificados e seus femores retirados. As análises foram feitas no aparelho de raios X digital 765 DC® GENDEX com 65 KVP, 7 Ma, e 0,032 S de tempo de exposição. Para captação das imagens, utilizou-se um sistema de radiografia digital direto. Para determinar as significâncias da diferenças observadas foi utilizada a análise de variância (ANOVA), que determinou significativa a diferença entre os grupos neste estudo ( $P=0.0188$ ). Concluiu-se que o grupo G2 tratado com laser 660 nm apresentou maior densidade óssea quando comparado com os grupos G1 controle e G3 tratado com laser 803 nm, sendo assim, considera-se que o G2 tratado com laser 660 nm, apresentou um desenvolvimento na densidade mineral óssea, significativo em relação aos demais grupos da pesquisa.

## Introdução

O tecido ósseo é o constituinte principal do esqueleto, serve como suporte para as partes moles e protege órgãos vitais, como os contidos nas caixas craniana e torácica e no canal raquidiano. Aloja e protege a medula óssea, formadora das células do sangue. Proporciona apoio aos músculos esqueléticos, transformando suas contrações em movimentos úteis. Constitui um sistema de alavancas que amplia as forças geradas na contração muscular (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2004). Os ossos também têm funções metabólicas, servindo de armazenado primário do cálcio e fósforo (DAMJANOV

1996). Marino (2003) investigou o efeito da Low Intensity Laser Therapy no reparo ósseo em femores de rato e cita a existência de uma suposta ação modulatória sobre o processo inflamatório atribuída à Low Intensity Laser Therapy. Possíveis ações como reabsorção mais rápida de exudatos, controle de liberação de fatores quimiotáticos, aumento da atividade fagocitária e aumento de vascularização, certamente contribuíram para uma osteossíntese inicialmente mais ativa, ao propiciarem a instalação de condições ambientais favoráveis. Trelles e Mayayo (1987) sugeriram que o laser de

baixa potência pode modular a função dos osteócitos, promovendo a aceleração do metabolismo e reação mais rápida do calo ósseo. O laser de baixa intensidade pode promover; maiores velocidades de cicatrização e reparo, aceleração da neovascularização, oclusão de feridas, maior formação do tecido de granulação, maior número de fibroblastos, maior número de fibras colágenas, aumento na síntese de ATP, liberação de histamina, redução do pH intracelular e alterações na proliferação e motilidade celular, fagocitose e reposta imune (KITCHEN; PARTRIDGE, 1991). Este estudo teve como propósito a comparação entre dois comprimentos de ondas (660nm e 830nm), na reparação óssea, utilizando para análise a radiografia digital.

## Materiais e Métodos

Para este estudo foram utilizados 15 animais (*Rattus Norvegicus Albinus*), com idade de até 85 dias, e com pesos de 250 até 300g. Os animais passaram por período de 4 dias de ambientação no biotério da UniVap, com ração e água a vontade.

**Tabela 1.0** – Descrição dos grupos, número das amostras, dias de sacrifícios e número de aplicações durante o período.

Grupos	Amostra	Sacrifícios	Nº Aplicações
Controle	5 ratos	7º dia P.O	0
Tratado 660 nm	5 ratos	7º dia P.O	3
Tratado 830 nm	5 ratos	7º dia P.O	3

Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos (Fig. 1.0); controle 5 animais, tratado laser 660 nm 5 animais e tratado laser 830 nm 5 animais, com sacrifícios previstos para 7 dias. Todos os animais foram submetidos à medicação pré-anestésica com injeção intramuscular de Acepramazina (Acepram 0,2% Univest S.A) na dose de 0,2 ml e Butorfanol na dose de 0,1ml, após 15 minutos aplicou-se o anestésico Zoletil 50<sup>®</sup> na dose de 0,1 mL/100g de massa corporal, através de injeção intramuscular na região do fêmur. Com uma lâmina de bisturi n<sup>o</sup>15, foi realizado um incisão de 3mm na pele e outra incisão na musculatura também de 3mm de comprimento, foi necessário afastar a musculatura para expor a região do fêmur. As osteotomias experimentais foram realizadas nos femores direito de

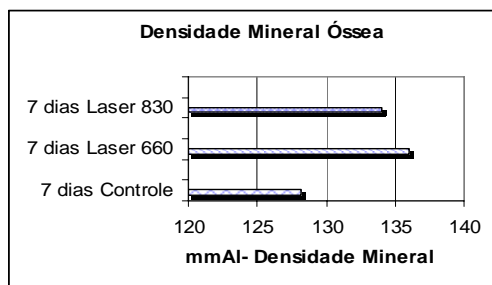
cada animal, com uma broca denominada trefina de 2,8mm, que era acoplada a um micro motor da marca Dentec<sup>®</sup> 405 N com uma frequência de 0,25. Depois de realizada as osteotomias, foi feita a sutura dos tecidos, cada qual em sua ordem. Logo após a sutura foi realizada a 1<sup>a</sup> aplicação de laser no grupo tratado com laser vermelho 660 nm, 100 mW, dosimetria 4 J, fluência 140 Jcm<sup>2</sup>, 40 segundos, 3 pontos, aplicação pontual com contato e no grupo tratado com laser infravermelho 830 nm 100 mW, doseimetria 4 J, fluência 140 Jcm<sup>2</sup>, 40 segundos, 3 pontos, aplicação pontual com contato, os animais do grupo controle passaram pelos mesmos procedimentos de manipulação porém com o equipamento desligado. Ambos os lasers são do equipamento da Flash laser III, da DMC. As aplicações de laser foram realizadas em um espaço de 48 em 48 horas de intervalo, com aplicação de 40 segundos cada ponto. Após 7 dias de tratamento e perfazendo um total de 3 aplicações no grupo tratado com laser 660 nm e o grupo tratado com laser 830, os animais foram sacrificados com zoletil 0,8 ml/kg e após 10 minutos cloreto de potássio intracardíaco 0,5 ml/kg. Os femores dos animais foram retirados e deixados em formol a 10%, para futura análise. Para as incidências radiográficas foi utilizado o aparelho de raios X digital 765 DC<sup>®</sup> GENDEX com 65 KVP, 7 Ma, e 0,032 S de tempo de exposição. Para captação das imagens, utilizou-se um sistema de radiografia digital direto, que emprega o dispositivo de carga acoplado (CCD): o RVG (Trophy Radiologie, Vincennes, Toulouse, France). Este "sistema digital foi acoplado a um computador Pentium III com 1,4 GHz, 128Mb de memória, HD 40Gb, Monitor LG de 17". O sensor CCD foi fixado a uma mesa com o cilindro do aparelho de raios X posicionado a uma distância focal de 40 cm, de forma que o feixe central de raios X incida perpendicularmente ao sensor. Cada peça anatômica foi colocada no sensor com o defeito ósseo ocupando a porção central deste. As imagens obtidas foram armazenadas no formato TIFF, resolução padronizada. Posteriormente, a análise da densidade óptica foi realizada no programa *Image Tool 2.03<sup>®</sup>*, utilizando-se a ferramenta histogram (densidade óptica x número de pixels), onde foi demarcada a região central do defeito ósseo. Com isso, obteve-se um gráfico bidimensional, fornecendo os valores de cinza da imagem

radiográfica. Foram realizadas duas leituras das médias das densidades de cada imagem radiográfica, no intervalo de uma semana cada, pelo mesmo examinador. Os valores obtidos foram submetidos à análise estatística (ANOVA e TUKEY).

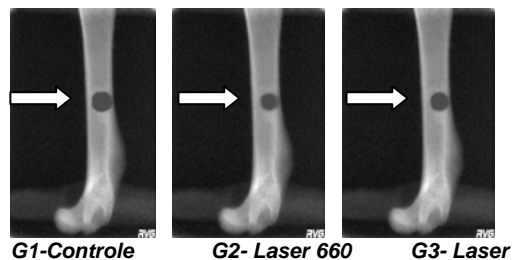
## Resultados

As imagens radiográficas foram analisadas pelo programa Image Tool 2.03<sup>®</sup>, obtendo assim os valores finais da densidade mineral óssea representado em média, (mmAl). A análise estatística dos valores obtidos nos 3 grupos analisados, permite avaliar a existência ou não, de alteração na radiopacidade das radiografias no espaço de tempo de 7 dias com 3 aplicações de laserterapia, para isso foi usado teste de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para avaliação dos resultados isoladamente. Com relação ao grupo G1 (controle), foi observado em valores absolutos as medidas de densidade mineral óssea um aumento gradativo no decorrer do período proposto (7 dias).

**Gráfico 1.0** Densidade Mineral Óssea



Observou-se um nos grupos G2 tratado com laser 660 e G3 tratado com laser 830, uma representação gráfica maior, sendo esse aumento maior no G2, que apresentou um ganho significativamente maior ( $P < 0,05$ ). (Fig. 1.0)



**Fig. 1.0** Apresenta os Radiografias Digitais e o Grau de Preenchimento ósseo, indicadas pela seta.

## Discussão

Segundo (GENOVESE 2000), a laserterapia apresenta como efeito direto, uma ação na resposta inflamatória em sua fase inicial, atuando sobre a microcirculação, podendo na fase do reparo regenerativo, estimular a neoformação celular.

MARINI (2003) investigou o efeito da Terapia Laser de Baixa Potência no reparo ósseo em tíbia de rato e cita a existência de uma suposta ação modulatória sobre o processo inflamatório atribuída a terapia laser. Possíveis ações como reabsorção mais rápida de exudatos, controle de emergência de fatores quimiotáticos, aumento da atividade fagocitária e/ou aumento de vascularização, certamente contribuíram para uma osteossíntese inicialmente mais ativa, ao propiciarem a instalação de condições ambientais favoráveis.

Isso vem ao encontro dos resultados encontrados nesse estudo, que observou, em uma período de 7 dias, um aumento significativo na densidade mineral óssea, de todos os grupos, principalmente dos G2, tratado com laser 660.

Na literatura, observam-se uma grande variedade de protocolos nos estudos *In Vivo*, quanto ao tipo de laser utilizado, a dosimetria e metodologia de irradiação empregadas, dificultando a comparação entre os mesmos (LUGER, E.J. *et al.*, 1998).

Dos poucos estudos sobre terapia laser de baixa intensidade aplicada ao tecido ósseo, à maioria não utilizou métodos quantitativos de análise, ou avaliaram a área

contralateral á irradiada como controle. Esse procedimento é contra indicado devido aos relatos de efeito sistêmico da terapia laser de baixa intensidade (MARINO, J. A.M. 2003).

Foi relatado que o laser de As-Ga-Al emitindo radiação em 660nm é eficiente na estimulação de células. Apesar dos cuidados que se deve ter com as dosimetrias (FUKADA E., YASUDA I., 1957).

Isso vem a acrescentar e firmar a eficiência deste comprimento de onda (660nm), que em nosso estudo demonstrou ser uma forma eficaz de tratamento *In Vivo*.

### Conclusão

Conclui-se que a terapia laser (660nm e 830nm), demonstrou ser uma forma eficaz de tratamento de fraturas nesse estudo, devemos destacar os resultados de G2, tratado com laser 660nm, que apresentou valores significativamente maiores que o G3, tratado com laser 830nm ( $p>0.5$ ).

### Agradecimentos

Departamento de Cirurgia e Diagnóstico da Unesp – São José dos Campos, Faculdade de Odontologia.

### Referências Bibliográficas

– JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Tecido Ósseo. *In*: Histologia Básica. 9ª ed. Guanabara Koogan. 2004.p. 111-28.

– IVAN DAMJANOV. Histopatholog: A color Atlas and Textbook. 1ª ed. Matthey Chasky. 1996. p. 421-46.

– TRELLES, M.A .; MAYAYO, E. Bone fracture consolidates faster with low-power

laser. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 7, p. 36-45, 1987.

– KITCHEN, S.S; PARTRIDGE, C.J. A review of low level laser therapy. *Physiotherapy*, v.77, n. 3, p. 161-68, mar, 1991.

– GENOVESE, W. J. Laser de baixa intensidade : Aplicação terapêutica em odontologia. São Paulo: Lavise. 2000. 175p.

– LUGER, E.J. *et al*. Efectt of low-power irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Laser Surgery Medicine*, v. 22, n. 2, p. 97-102, 1998.

– MARINO, J.A.M. Efeito do laser terapêutico de baixa potência sobre o processo de reparação óssea em tíbia de rato. 107p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

– FUKADA, E.; YASUDA, I. On the piezoelectric effect of bone. *Journal of The Physical Society of Japan*, v.12, n. 10, p.1158-62, oct. 1957.