

EFEITOS DO LASER (AsGa) NA CARTILAGEM AURICULAR DE RATOS SUBMETIDA À LESÃO CIRÚRGICA

Rodrigo de Souza Ferreira¹, Daniel Sonnewend², Jorge L. R. Oliveira³, Renata Amadei Nicolau⁴

^{1,2,3,4} Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Univap

^{2,3} Faculdade de Ciências da Saúde (FCS), Universidade do Vale do Paraíba (Univap), Brasil - 12244-000, Fone: +55 12 3947 1014, Fax: +55 12 3947-1149

Resumo - Este trabalho teve por finalidade avaliar o efeito do Laser (AsGa, 904 nm) na reparação de tecido cartilaginoso em ratos. Para tal os animais foram divididos em quatro grupos com 7 animais cada, sendo 2 grupos controles e 2 grupos irradiados de 14 e 23 dias. Os animais, depois de pesados e anestesiados, tiveram a cartilagem auricular perfurada (1mm de diâmetro). Após a cirurgia os animais do grupo irradiado receberam laserterapia com dose de 10 J/cm² a cada 48 horas. Após 14 e 23 dias os animais foram sacrificados e a região lesada foi biopsiada. Os resultados histológicos demonstram efeitos sobre o processo de reparação cartilaginosa, no que se refere à área de reparação ($p < 0,001$) do grupo irradiado 14 dias comparado ao grupo controle. Com relação à distância entre os bordos da lesão, os resultados demonstram que os grupos irradiados, 14 e 23 dias, apresentam menor distância entre os bordos das lesões ($p < 0,05$). Os dados levam a concluir que o protocolo de irradiação estabelecido neste estudo foi efetivo na biomodulação do processo de reparação cartilaginosa.

Palavras-chave: Laser de AsGa, Cartilagem, Reparação

Área do Conhecimento: IV - Ciências da Saúde

Introdução

A estrutura cartilaginosa é avascular e em seu interior, sua nutrição é realizada pelos vasos sanguíneos dos tecidos conjuntivos que rodeiam por uma difusão. Pode ainda ser nutrida através de capilares do tecido conjuntivo, denominado pericôndrio, ou ainda através do líquido sinovial das cavidades articulares. Não possui nervos e sistema linfático. Devido às características do tecido cartilaginoso trata-se de um tecido de difícil reparação. A cartilagem elástica é encontrada no pavilhão auditivo, no conduto auditivo externo, nas tubas auditivas, na epiglote e na cartilagem presente na laringe. Possui uma semelhança muito grande com a cartilagem do tipo hialina e freqüentemente está associada à mesma, porém além da presença de fibras elásticas finas e ramificadas, a cartilagem elástica também possui pericôndrio e por todos os seus componentes é menos sujeita ao processo degenerativo. As cartilagens que sofrem lesões regeneram-se com dificuldade e freqüentemente de forma incompleta. A reparação cartilaginosa inicia-se fisiologicamente quatro dias após a lesão formando um tecido de granulação composto de um leito denso de macrófagos, fibronectina, colágeno tipo I e tipo II além do ácido Hialurônico. Muitos estudos mostram efetividade na interação do laser de baixa potência com diversos tecidos, promovendo grande ajuda na reparação tecidual. O tipo de laser é determinado pelo tipo de onda usado produzido pelo seu meio ativo. Os lasers terapêuticos mais utilizados clinicamente são:

Arseneto de Gálio (AsGa, 904 nm), Arseneto de Gálio e Alumínio (AsGaAl, 600-970 nm) e o gás Hélio-Neônio (HeNe) cuja emissão se encontra no vermelho (632,8nm). Seu comportamento óptico em tecidos, cromóforos e suas particularidades de absorção, e também o comportamento que exercem algumas moléculas como barreiras ópticas (LUBART, 1997). Não obstante, para se ter algum efeito em tecido, é necessário ser absorvida em tecido. A energia lumínica se converte em energia térmica e bioquímica. Karu (1984) observou a interação de lasers com emissão de radiação na região infravermelho e vermelho do espectro eletromagnético, sobre a atividade mitocondrial, cuja produção de ATP (adenotriofosfato) encontrava-se elevada, levando a síntese de DNA e RNA com conseqüente aumento da produção de proteínas (REDDY, 1998). Ao estudo desta cadeia de reações, foi observado modulação da atividade enzimática levando a alteração do pH intra e extracelular, como também aceleração do metabolismo celular. Considerando os efeitos biomoduladores do laser de baixa potência o presente trabalho objetivou o estudo do efeito da irradiação laser de baixa potência sobre o processo de reparação de cartilagem auricular de rato, por meio de análises histológicas.

Materiais e Métodos

Neste trabalho foram aplicados os princípios éticos da experimentação animal de acordo com a COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Ribeirão Preto Campus Guarujá – SP (UNAERP). Neste estudo foram utilizados 14 ratos machos da raça Wistar (*Rattus norvegicus* variedade albinus), foram pesados em balança analógica Bender® e estavam pesando entre 200 – 250g. Os animais foram obtidos do Biotério da Universidade de Ribeirão Preto – SP. Os mesmos foram mantidos em gaiolas (sete animais por gaiola) em condições automáticas de monitoramento ambientais de temperatura e luminosidade alimentados com dieta padrão Labina® e água ad libidum. Os animais permanecerão por um período de ambientação de 23 dias no biotério de passagem da UNAERP. Os animais foram divididos em quatro grupos com 7 animais cada, sendo 2 grupos de animais controle e 2 grupos de animais irradiados de 14 e 23 dias. Foi realizada a pesagem dos animais e administração de pré-anestésico Butorfanol (Turbogestic, 2mg/kg), associado à Acepromazina (Acepran, 1mg/kg), ambos administrados em dose única via intramuscular. Após 15 minutos serão administrados Zolazepan e Tiletamina (Zoletil 50, 40mg/kg). Os animais foram tricotomizados na região dorsal direita. Após a anti-sepsia da região com álcool iodado, foi realizada uma incisão circular com o auxílio do perfurador de borracha 1mm de diâmetro estéril, na região tricotomizada, com profundidade suficiente para a remoção do epitélio sem danificar os tecidos subjacentes, as lesões circulares estavam todas com características semelhantes no momento em que foram realizadas. Para analgesia após cirurgia foi utilizada a droga Fentanil® por via intra-peritoneal (IP) a uma dose de 0,032 mg/kg a cada 12 horas, por dois dias consecutivos. Após a cirurgia os animais do grupo irradiado receberam laserterapia com dose de 10 J/cm² a cada 48 horas. Utilizou-se um aparelho de laser de baixa potência AsGa (904 mn), empresa KLD Ind. e Com. Ao final de 14 e 23 dias pós-lesão os animais foram anestesiados com administração de pré-anestésico Butorfanol (Turbogestic, 2mg/kg) associado a Acepromazina (Acepran, 1mg/kg), ambos administrados em dose única via intramuscular. Após 15 minutos foram administrados Zolazepan e Tiletamina (Zoletil 50, 40mg/kg) e 10mg/kg Intra-cardíaca de pentobarbital, e sacrificados com dose letal de cloreto de potássio (KCl, 0,4ml/100g de peso) via intra-cardíaca. A região lesionada foi biopsiada, fixada em formol a 10%. Foram obtidas lâminas histológicas, das quais analisou-se a área de cartilagem reparada e distância entre os cotos da lesão. Os dados foram submetidos à análise de

variância (ANOVA), com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Resultados

Os resultados obtidos após a análise estatística quanto à área da lesão, podem ser verificados na figura 1. Comparados os Grupos Controle 14 e Irradiado 14, verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,001$) quanto à área de reparação do tecido cartilaginosa.

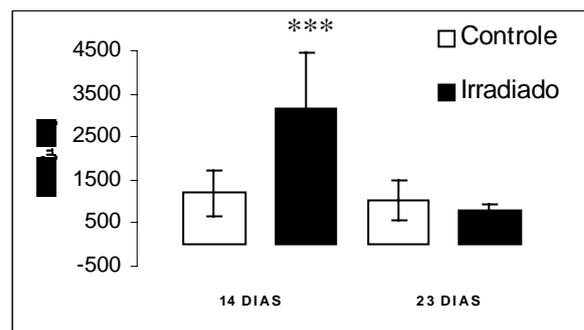


Figura 1: Medida da área da reparação cartilaginosa. *** $p < 0,001$. Os Dados estão expressos em média e desvio padrão.

Através da análise do grupo controle 14 dias, verificou-se presença de fragmentos de tecidos moles na área de lesão, margens de tecido de granulação formado por fibroblastos jovens e volumosos, macrófagos e neovascularização. A análise demonstrou ainda proliferação de tecido conjuntivo formado por fibroblastos secretores e fibras colágenas imaturas, em fase inicial de organização. Após análise do grupo irradiado 14 dias os cortes histológicos apresentaram algumas amostras de formação de anexos da derme e maior quantidade de tecido colágeno em formação. Os dados referentes à análise histológica da área de reparação e distância entre os bordos da lesão encontram-se resumidos na Figura 2. Os cortes histológicos do grupo controle 23 dias mostram proliferação de tecido conjuntivo fibroso, apresentando fibroblastos e fibrocistos no interior de fibras colágenas. Ao passo que os cortes histológicos do grupo irradiado 23 dias mostram fragmentos de tecidos moles apresentado defeito cirúrgico, preenchidos nas margens do mesmo condroblasto jovem e volumoso e formação de grupos exógenos. Toda área central da loja cirúrgica observa-se proliferação de tecido conjuntivo apresentando vasos sanguíneos e anexos da derme.

O segundo parâmetro observado, distância entre os bordos da lesão, demonstrou diferença significativa ($p < 0,05$) na comparação entre os grupos controle 14 x irradiados 14 assim como entre os grupos controle 23 x irradiados 23.

Estes resultados podem ser observados na figura 2.

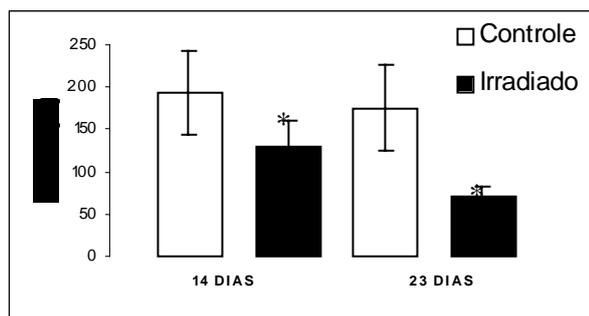


Figura 2: Medida da distancia entre os bordos da lesão. * $p < 0,05$. Os Dados estão expressos em média e desvio padrão.

Discussão

Os resultados obtidos através da análise histológica possibilitaram verificar os efeitos do laser de AsGa sobre o tecido cartilaginoso. Estes resultados demonstram que houve diferença significativa ($p < 0,001$) quanto a eficácia do laser estudado sobre processo de reparação cartilaginosa, haja visto que o grupo irradiado demonstrou uma maior área de neoformação cartilaginosa quando comparado ao grupo controle num período de análise de 14 dias pós-lesão. Estes resultados corroboram com outros estudos como o de TRELLES, (1989) que observou através de seu estudo efeitos antiinflamatórios, reparadores tissulares, antiálgico e analgésico. LIEVENS, (1990) assim como no presente estudo também relata efeito de reparação tissular, com presença de neovascularização e neoformação de fibroblastos, além de reconstituição do epitélio.

Outro parâmetro avaliado neste estudo foi a distância entre os bordos da lesão também nos períodos após 14 dias e após 23 dias. Após esta análise pode-se verificar diferença significativa ($p < 0,05$) na comparação entre os grupos controles e irradiados em ambos períodos de avaliação, ou seja, a distância entre os bordos das feridas foi menor nos animais irradiados com o Laser AsGa. Estes resultados também se mostram similares a outros estudos publicados como o de Bisht (1999), que observou a presença de efeitos biomodulatórios que incluem, epitelização precoce, neoformação de tecido conjuntivo composto basicamente por fibroblastos.

Segundo STEINLECHNER, et al, (1984) e STADLER, (1999) os efeitos de bioestimulação observados com a terapia com laser de baixa potência, são provenientes do aumento na síntese de ATP devido à estimulação mitocondrial promovida pelo laser.

Conclusão

Pôde-se concluir através deste estudo que o Laser AsGa, com comprimento de onda de 904nm e dose de 10 J/cm^2 , promoveu um efeito positivo quanto à neoformação cartilaginosa no período de 14 dias, e também promoveu aceleração no processo de reparação tecidual após análise dos períodos de 14 e 23 dias.

Referências

- Karu, T. I. Effects of visible radiation on cultured cells. *J Photochem Photobiol B: Biol.* 1984; 52: 1089.
- Lievens, P. C. The effect of a combined He:Ne and I.R. laser treatment on the regeneration of the lymphatic system during the process of wound healing. *Laser News.* 1990; 3: 3-9,.
- Lubart R; Friedmann H; Sinykov M et al. The effect of He :He Laser (633 nm) radiation on intracellular Ca^{2+} concentration in fibroblasts. *Laser Therapy.* 1997; 9: 115-120.
- Reddy G K; Stehno-Bittel L; Enwemeka C S. Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit achilles tendons. *Lasers Surg Med.*1998; 22: 281-287,.
- Stadler, J.; Kolb, B.; Evans, R.; et al. The effect of low-level laser irradiation on lymphocytes from peripheral blood. In: Annual meeting of lasers in surgery and medicine, *Annals...* 1999;. 16-18.
- Steinlechner C W B; Dyson M. The effects of low level laser therapy on the proliferation of keratinocytes. *Laser Therapy.* 1993; 5: 65-73
- Terribile W M V; Corti L; Velussi C; et al. Experimental wound healing with coherent and non-coherent radiation. *Laser Technol.* 1992; 2, n.3: 121-134.
- Trelles M A; Mester A; Rigau J; et al. Clinical use of He-Ne laser for wound healing. *J Bloodless Med Surg* 1989b; 7, n. 1: 3-7
- Webb C; Dyson M; Lewis W H P. Stimulatory effect on 660 nm low level laser energy on hypertrophic scan-derived fibroblasts: Possible mechanisms for increase in cell culture. *Lasers Surg Med.* 1998; 22: 294-301.