

# AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO LASER ARSENETO DE GÁLIO – 904nm NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS

Nádia Cristina Buso<sup>1</sup>, Antonio Guillermo José Villaverde<sup>2</sup>, Miguel Angel Castillo Salgado<sup>3</sup> e Ana Maria Barbosa<sup>4</sup>

<sup>1,2,4</sup>Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP  
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D  
São José dos Campos, São Paulo, Brasil – [nadia@buso.com.br](mailto:nadia@buso.com.br), [abv@univap.br](mailto:abv@univap.br),  
[anabar@univap.br](mailto:anabar@univap.br)

<sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista – UNESP  
Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal – Histologia, Faculdade de Odontologia.  
São José dos Campos, São Paulo, Brasil - [miguel@fosjc.unesp.br](mailto:miguel@fosjc.unesp.br)

**Resumo** - Foram utilizados 34 ratos albinos, machos, submetidos à tenotomia do tendão de Aquiles da pata traseira direita e irradiados com laser AsGa. Os animais foram divididos em três grupos A, B e C e sacrificados no 7º, 15º e 21º dia. Os animais dos grupos tratados receberam doses diárias de 4 J/cm<sup>2</sup>, com método pontual. Houve diferença significativa em favor dos tendões irradiados com laser AsGa, considerando aumento do número de fibroblastos na fase inicial e diminuição das células inflamatórias na fase tardia, mostrando que o laser interferiu no processo de reparo do tendão após tenotomia.

**Palavras-chave:** Laser Arseneto de Gálio, Tendão, Reparação.

## Introdução

As lesões de tendões são as maiores preocupações para os cirurgiões que irão reconstruí-los, sendo que, a sutura de um tendão é uma das mais decepcionantes intervenções cirúrgicas, isto se explica pelo deficiente conhecimento do mecanismo de reparação dos tendões e pela aderência que se forma, impedindo a recuperação funcional, sendo que vários anos se passaram e os pesquisadores ainda tentam descobrir a melhor forma de reabilitar as funções e a melhor cicatrização de um tendão (GOFFI, 1996).

Segundo Müller et al. (2004) o tendão de Aquiles, também conhecido como tendão do calcâneo ou calcanear transmite força ao osso calcâneo.

As fases de proliferação e de remodelamento são importantes para uma melhor regeneração tecidual, onde haverá intensa formação celular, células de fibroblastos e alinhamento das fibras de

proliferação de fibroblastos e em consequência, promove uma maior produção de novas fibras de colágeno (CRUAÑES, 1984; ENWEMEKA et al., 1990; REDDY et al., 1998). Com base em vários estudos desenvolvidos com o laser de baixa potência, Matera et al. (2003) afirmam que tem ação analgésica, antiinflamatória e antiedema sobre os tecidos, obtendo melhor retorno as funções. O laser AsGa comparado com o laser Hélio-Neônio (HeNe), apresenta maior penetração no tecido biológico, com diferencial em tendão, onde o índice de penetração é maior do que no músculo (ENWEMEKA, 2001). O potencial terapêutico do laser AsGa é maior em lesões profundas dos tipos: articular, muscular, ligamentar e tendínea (VEÇOSO, 1993).

Foi dirigida grande ênfase à aplicação de irradiação de laser de baixa potência com o objetivo de aumentar as reações celulares e bioquímicas, para contribuir com uma cicatrização mais eficiente da ferida (MACHADO et al., 2000).

## Materiais e Métodos

colágeno no eixo longitudinal do tendão (Enwemeka, 1989). O laser AsGa estimula a

*Animais:* No experimento, foram utilizados 34 ratos albinos, machos, de linhagem

*Wistar*, 90 dias de idade e com peso aproximado de 350 gramas. O presente trabalho está de acordo com os princípios éticos na experimentação de animal e seguiram-se as normas para a prática didática científica (Lei 6638 de 08/05/1979).

**Aparelho laser:** O equipamento utilizado no estudo experimental foi o laser diodo arseneto de gálio (AsGa) pulsado, com comprimento de onda de 904nm, com pico de potência 45W, luz invisível.

**Grupos experimentais:** Foram divididos em três grupos: A, B e C. Nestes grupos, foram divididos aleatoriamente em grupos controle e grupos tratado, contendo 5 e 6 animais por gaiola.

**Procedimento cirúrgico:** Antes do procedimento, todos os animais foram pesados e anestesiados. Sobre a pele foi realizada uma incisão cutânea até chegar ao tendão de Aquiles, sendo exposto e tenotomizado transversalmente na região medial entre a inserção calcanear e a junção miotendínea. Não realizou sutura no tendão. Após a tenotomia, realizou-se a sutura cutânea e assepsia do local.

**Procedimento experimental:** Os animais foram imobilizados manualmente e aplicado dose de 4 J/cm<sup>2</sup> com tempo de 48 segundos, tempo estipulado pelo aparelho laser. O grupo A teve irradiação por 5 dias consecutivos dando intervalo de 2 dias, sacrificados no 7° dia, o grupo B foi irradiado por 5 dias, teve intervalo de 2 dias e sacrificados no 14° dia. O grupo C foi irradiado por mais 5 dias e teve intervalo de 2 dias e sacrificados no 21° dia. Simulou o tratamento feito em clínica de fisioterapia. Todos os grupos controles tiveram simulação da aplicação do laser com o aparelho desligado.

**Sacrifício dos animais:** Para os animais serem sacrificados, receberam anestésicos intramuscular (respeitando o tempo de ação), seguido de anestésico via intracárdica e por fim, cloreto de potássio via intracárdica. Após o sacrifício, foi feita a remoção dos tendões tenotomizados por dissecação, desde a inserção calcanear até a junção miotendínea e colocados em solução de formol 10% para fixação.

**Preparação histológica:** Após a fixação, os tendões foram desidratados e incluídos em parafina, em seguida, foram confeccionados os blocos para serem cortados no micrótomo de forma semi-

seriada, com secções de 6 µm de espessura e corados com HÉ (Hematoxilina e Eosina).

**Método de análise:** Para o estudo e obtenção dos resultados foram selecionados aleatoriamente em nove cortes histológicos correspondentes à região mediana do tendão de Aquiles. Foram reconhecidas e contadas as células de fibroblastos e células inflamatórias. Os resultados foram obtidos pela contagem das células presentes em três áreas microscópicas selecionadas, não sobrepostas na região da cicatrização de cada corte histológico.

**Análise estatística:** Os valores obtidos foram tabelados e testados utilizando o teste *t-Student* para análise de variância, com nível de significância estatística ( $p < 0,05$ ). Os números de fibroblastos e células inflamatórias foram contados em uma área de 0,9mm<sup>2</sup> na região da cicatrização.

## Resultados

Os resultados foram calculados com base nas médias, erro da média (*SEM-Standard Error of Median*) e teste *t-Student* (FONSECA et al., 1992). Encontrou-se a partir das médias e desvio padrão a significância entre os grupos tratados e os grupos controle nos diferentes tempos.

Os resultados da análise do número de fibroblastos dos animais controle e tratado encontram-se na Tabela 1 e células inflamatórias está representado na Tabela 2.

Tabela 1 - Resultados dos diferentes tempos.

Fibroblastos			
	Controle	Tratado	nível-p
7 dias	133±5,2	167±5,9	p<0,05
14 dias	103±1,5	97±1,9	p<0,05
21 dias	92±3,1	73±3	p<0,05

Tabela 2 - Resultados dos diferentes tempos.

Cél. Inflamatória			
	Controle	Tratado	nível-p
7 dias	6±0,3	3,5±0,4	p<0,05
14 dias	3,1±0,4	1,7±0,2	p<0,05
21 dias	1,4±0,08	0,1±0,03	p<0,05

Observa-se aumento do número de células de fibroblastos na primeira semana, com diminuição dos fibroblastos nos próximos dias de sacrifício, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos nos diferentes períodos do tratamento. Já as células inflamatórias, apresentaram decréscimo em todos os períodos do tratamento, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

## Discussão

O estudo experimental sobre a regeneração de tendão de Aquiles, após tenotomia, segue os mesmos parâmetros descritos pelas literaturas (REDDY et al., 1998a; REDDY et al., 1998b), promovendo na porção média do tendão de animais, uma incisão transversal no tendão exposto.

Utilizou-se como modelo biológico experimental o rato, por permitir obtenção de resultados em período de tempo mais curto, devido seu metabolismo acelerado.

A tenotomia induzida nos tendões de Aquiles de ratos, foi utilizada para investigar o efeito do laser AsGa no processo de cicatrização tendínea, mostrando ser essencial para adquirir resultados reprodutíveis.

O aparelho laser AsGa foi utilizado por apresentar um comprimento de onda maior e nível de penetração maior que o do laser HeNe (ENWEMEKA, 2001).

Foi observado por Baxter, (1994), Reddy et al., (1998b) e Enwemeke et al., (1998), que o uso de intensidades relativamente baixas é capaz de modular determinados processos biológicos, em especial a fotobioestimulação no processo de cicatrização de tecidos biológicos.

De acordo com Enwemeke et al., (1998), Reddy et al., (1998a) e Enwemeke et al., (2000) foi descrito que a laserterapia estimula a síntese de fibroblastos na região de cicatrização do tendão na fase inicial do reparo. O processo inflamatório apresentou diminuição em todos os períodos com diferença significativa entre os grupos, comprovando que a laserterapia apresenta ação antiinflamatória e analgésica (MATERA et al., 2003). Os estudos histológicos enriquecem o esclarecimento da relação do laser AsGa com a cicatrização do tendão.

Com a existência de grande diversidade de dados na literatura quanto a doses, tempo

de irradiação e tipos de lasers que possam influenciar na proliferação de fibroblastos e células inflamatórias, é fundamental que se obtenham parâmetros específicos de tratamento, adequando dosagens e tempo estimado para um melhor reparo tendíneo.

## Conclusão

Os resultados sugerem que a aplicação precoce do laser AsGa em tendões tenotomizados diminui o processo inflamatório, tanto em fase inicial como em fase tardia, aumentando o número de fibroblastos no período inicial, com diminuição nos períodos tardios, podendo afirmar que o laser interfere no processo de cicatrização do tendão.

## Referências bibliográficas

- BAXTER, G. D. **Therapeutic lasers: theory and practice**. New York, Churchill Livingstone, 1994.

- CRUAÑES, J. C. **La terapia láser, hoy**. Barcelona : Centro Documentación láser de Meditec, p. 164, 1984.

- ENWEMEKA, C. S. Inflammation, cellularity and fibrillogenesis in regeneration tendon: Implications for tendon rehabilitation. **Physical therapy**, V. 69, p. 816-825, 1989.

- ENWEMEKA, C. S.; RODRIGUEZ, O.; MENDONSA, S. The biomechanical effects of low – intensity ultrasound on healing tendons. **Ultrasound Medical Biology**, V. 16, p. 801-807, 1990.

- ENWEMEKA, C. S.; REDDY, G. K.; BITTEL, L. S. Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit achilles tendons. **Lasers in Surgery and Medicine**, V. 22, p. 281-287, 1998.

- ENWEMEKA, C. S.; REDDY, G. K. The biological effects of laser therapy and other physical modalities on connective tissue repair processes. **Laser Therapy**, V. 12, p. 22-30, 2000.

- ENWEMEKA, C. S. Attenuation and penetration of visible 632.8nm and invisible infra-red 904nm light in soft tissues. **Laser Therapy**, V. 13, p. 95-101, 2001.

- FONSECA, J. S.; MARTINS, G. A. **Curso de estatística**. 3. ed. São Paulo: Atlas, 267p, 1992.

- GOFFI, F. S. **Técnica cirúrgica – Bases anatômicas, fisiopatologias e técnicas da cirurgia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, p. 126-252, 1996.

- MACHADO, M. V. M.; VULCANO, L. C.; HUSSNI, C. A.; ALVES, L. G. Efeito da laserterapia em tendinite experimental no tendão flexor digital superficial em eqüinos: Estudo histológico e ultrasonográfico. **Archives of Veterinary Science**, V. 5, p. 111 – 115, 2000.

- MATERA, J. M.; TATARUNAS A. C.; OLIVEIRA S. M. O uso do laser arseneto de gálio (904nm) após excisão artroplastica da cabeça do fêmur em cães. **Acta Cirurgia Brasileira**; V. 18, n. 2, p. 102-106, 2003.

- MÜLLER, S. S.; SILVARES, P. R. A.; PEREIRA, H. R.; SILVA, M. A. M.; SARDENBERG, T.; LEIVAS, T. P. Análise comparativa das propriedades mecânicas do ligamento da patela e do tendão do calcâneo. **Acta Ortop. Brás.**, V. 12, n. 3, p. 134-140, 2004.

- REDDY, G. K.; BITTEL, L. S.; ENWEMEKA, C. S. Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit Achilles tendons. **Lasers in Surgery and Medicine**, V. 22, p. 281-287, 1998a.

- REDDY, G. K.; STEHNO-BITTEL, L.; ENWEMEKA, C. S. Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit Achilles tendons. **Lasers in Surgery and Medicine**, V. 22, p. 281-287, 1998b.

- VEÇOSO, M. C. **Laser em Fisioterapia**. São Paulo, Lovise, 1993.