

Artigo original

Laser arseneto de gálio na estimulação da osteogênese

Laser AsGa in the stimulation of osteogenesis

Juliana Vieira Pes*, Alexandre Mazzanti, D.Sc.**, Aron F. Silveira, D.Sc.***, Jones E. Agne, D. Sc.****, Daniele Leonardo da Ros*****, Kelly Vanessa Trichez*****

.....
Acadêmica do Curso de Fisioterapia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), **Médico Veterinário, Professor Adjunto, UFSM, *Médico Veterinário, Professor Adjunto, Chefe do Departamento de Morfologia, UFSM, ****Fisioterapeuta, Professor Adjunto, UFSM, *****Acadêmicas do Curso de Fisioterapia, UFSM*

Resumo

Com o objetivo de pesquisar os efeitos histológicos da irradiação laser de baixa intensidade na reparação óssea, selecionamos 10 ratos que foram submetidos à fratura de fêmur com fixação intramedular e distribuídos em dois grupos de igual número (grupos I e II). Os animais do grupo II foram submetidos à terapia laser Arseneto de Gálio (10 J/cm²) iniciada imediatamente após a cirurgia, totalizando nove sessões. Os animais foram sacrificados, para a análise histológica, com administração intraperitoneal de tiopental sódico no décimo, vigésimo e trigésimo dia após a cirurgia. Na avaliação histológica verificamos resultados positivos no grupo tratado.

Palavras-chave: laser, osteogênese, fratura.

Abstract

The aim of the present study was to research the histological effects of low-power laser irradiation (LPLI) on fracture healing in rats. Ten Wistar male rats were subjected a femur bone fracture with internal fixation and divided into two groups of the same number (groups I and II). The group II was treated with laser AsGa (10 J/cm²), the laser therapy started after surgery, and had 9 sessions. The rats were sacrificed, for histological analysis, with thiopental sodium administration in the tenth, twentieth and thirtieth days after surgery. Histological analysis demonstrated positive results in the irradiation group compared with control group.

Key-words: laser, osteogenesis, fracture.

Introdução

Sabemos que o modelamento e o remodelamento ósseos podem ser incitados por microlesões, estímulos mecânicos, estímulos combinados ou mecanismos desconhecidos. No entanto, em alguns casos clínicos, regeneração óssea ou aumento de massa óssea não ocorre de forma esperada, o que torna necessário o implemento de métodos coadjuvantes para obtenção dos resultados esperados [1]. A utilização de baixa densidade energética poderá, possivelmente, acelerar a cicatrização óssea intervindo em alguns fatores que influenciam o tempo de consolidação como a diminuição de suprimento sanguíneo que, por sua vez, prolonga o tempo de imobilização [2].

O uso do laser para o tratamento de fraturas não consolidadas foi iniciado na Europa. A maioria dos estudos realizados demonstra que o laser de baixa potência exerce um efeito positivo na bioestimulação óssea, onde não só acelera o tempo de cicatrização como também melhora sua qualidade. Entretanto, o uso da laserterapia em fraturas gera controvérsias [3]. Na breve vida das radiações laser, não existe uma teoria completa sobre seu mecanismo de ação, ou seja, os efeitos biológicos que o laser produz nos tecidos irradiados não estão ainda bem esclarecidos. Para o melhor entendimento dos seus mecanismos de ação, vários experimentos têm sido relatados [4].

Considerando a escassez de literatura no que se refere ao registro de estudos na consolidação de fraturas mediante a

Recebido em 30 de janeiro de 2006; aceito em 28 de agosto de 2007.

Endereço para correspondência: Juliana Vieira Pes, Av. Belém, 468 Centro 89870-000 Pinhalzinho SC, Tel: (49) 8831-8067, E-mail: ju_pes@yahoo.com.br

aplicação de laser, observa-se a necessidade da realização de novas investigações a fim de criar novas perspectivas de terapia física. O objetivo deste estudo foi avaliar, através da análise histológica, a resposta promovida pela laserterapia de baixa potência no processo da osteogênese.

Material e métodos

O equipamento de laser utilizado (patrimônio do Hospital Veterinário da UFSM), foi um modelo clínico portátil de AsGa (904 nm), com pico de potência de 15 W, duração de pulso de 180 ns e frequência de 2000 Hz.

A amostra foi constituída por 10 ratos Wistar *albinus*, machos, adultos, com peso aproximado de 300 gramas, fornecidos pelo Biotério da Universidade Federal de Santa Maria. Durante o experimento, os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno com 05 ratos cada, alimentados com ração granulada e água *ad libitum*. Os animais foram mantidos sob condições adequadas de luz, temperatura, ventilação e umidade.

Os animais foram submetidos à anestesia intraperitoneal com quetamina e xilazina na diluição de 1 ml de xilazina (2%), 1 ml quetamina (10%) e 3 ml de solução salina. Em seguida, foi realizada tricotomia na região do fêmur direito, antissepsia com álcool iodado 4%, incisão de pele e subcutâneo com bisturi e lâmina número 10, afastamento do músculo quadríceps por divulsão para exposição do fêmur. Logo após, foi feita a secção transfemural com disco, acoplado a perfuratriz elétrica, em irrigação de solução salina. Depois da secção, foi feita a introdução de dois mandris de cateter número 20 G no canal medular, em sentido retrógrado na parte proximal, com furadeira de baixa rotação, saindo na fossa trocântérica. Logo em seguida, os segmentos ósseos distal e proximal foram unidos de forma normógrada e manual, os pinos foram introduzidos na parte distal. Após verificação da não existência de movimentos de rotação, foi feita a secção do restante dos pinos e realização da sutura de músculo e pele em padrão contínuo simples, com fio de poliéster 2-0, aplicação de álcool iodado sobre a sutura, sendo esta deixada sem curativos. Feitos estes procedimentos, realizou-se exame radiológico, para verificar o sucesso da técnica cirúrgica, em duas incidências do membro inferior direito dos animais.

Figura 1 - Raio-X pós cirurgico.



A partir disso, os animais foram separados em 2 grupos assim distribuídos:

Grupo I: 05 animais não submetidos à radiação laser.

Grupo II: 05 animais submetidos à radiação laser de arseneto de gálio.

A irradiação foi executada de forma transcutânea, observando o uso de óculos de segurança pelo aplicador. A dose de 5 J/cm² foi aplicada em 2 pontos ao redor do trauma, com a caneta do aparelho posicionada a um ângulo de 90° em relação ao fêmur do animal, sendo 10 J/cm² a dose total por sessão nos animais pertencentes ao grupo II. Os procedimentos foram realizados com a frequência de três dias por semana totalizando 09 sessões, sendo que a primeira sessão foi feita imediatamente após a cirurgia.

Os animais foram sacrificados, através de administração intraperitoneal de tiopental sódico na diluição de 4 e 6 ml (2,5%), sendo dois animais de cada grupo no décimo e vigésimo dia após a cirurgia e um animal no trigésimo dia após a cirurgia. Em seguida, foi feita a dissecação para a retirada do fêmur direito dos animais que foi fotografado. A preparação das lâminas teve a seqüência com fixação e descalcificação com ácido nítrico a 5%, emblocamento em parafina, corte ao micrótomo e coloração com Hematoxilina-eosina. Posteriormente, a leitura em microscopia óptica (400x) e interpretação das lâminas as quais também foram fotografadas (400x).

A análise histológica das lâminas foi feita por observação microscópica, os resultados foram registrados por uma análise semiquantitativa da presença de células inflamatórias, osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, em graus quantificados com valores numéricos que variam de: ausente (0), leve (1), moderada (2) e intensa (3). A estatística descritiva foi realizada a partir destes valores.

Resultados e discussão

Alguns estudos [3,5,7] recomendam a dosimetria de 3 a 6 joules/cm² no tecido ósseo para induzir o estímulo do raio laser à neo-formação óssea com processo de cicatrização por segunda intenção e formação do calo primário de tecido conjuntivo, seguido de invasão de vasos sanguíneos e linfáticos antes da calcificação do calo e estruturação da esponjosa e cortical.

A dose de 10 J/cm² foi utilizada concordando com muitos autores [3] que acreditam que não devemos ultrapassar uma densidade de energia de 12 Joules por unidade de superfície, pois então poderíamos induzir um efeito inibidor. A dosimetria diz respeito à unidade de superfície irradiada e não à totalidade de irradiação do paciente nem da lesão independente [3,5,6].

Abergel *et al.* [8] relataram que o laser infravermelho (arseneto de gálio) é mais frequentemente utilizado em terapêutica, em função da sua alta viabilidade, baixo custo e amplo retorno experimental.

Durante as aplicações, os animais foram apenas imobi-

lizados, evitando-se o uso de sedativos pela expectativa de interferência nos resultados.

Houve a necessidade de excluir uma lâmina do grupo controle referente ao 10ºPO e uma lâmina do grupo laser 20ºPO em que a estabilização não foi eficaz para o componente rotacional, o que não pôde ser observado ao raio-X de controle. Giordano *et al.* [9] concluíram, a partir da análise histológica e bioquímica, que o laser não acelera o processo de consolidação óssea em fraturas fechadas e não imobilizadas de tíbias em ratos.

Supomos que a imobilização adequada é um elemento de suma importância para a consolidação óssea visto que houve grande atraso no processo osteogênico nos exemplares em que a imobilização foi ineficiente, independente do grupo considerado. Para haver a consolidação, duas condições são indispensáveis: vascularização e estabilidade [10].

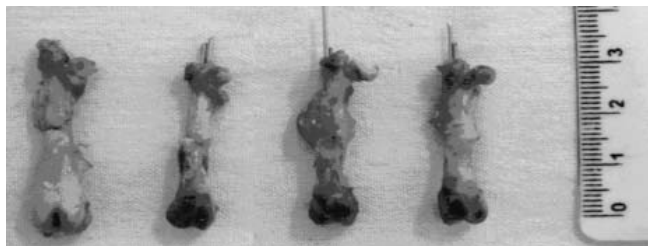
Houve também, a necessidade de exclusão de outra lâmina do grupo laser correspondente ao trigésimo dia, pois a mesma apresentou intensa reação inflamatória, suspeitando-se de contaminação cirúrgica e que possivelmente foi potencializada pela laserterapia que pode ter contribuído para cronificar a resposta inflamatória. Diante de estímulos de intensidade na qual o hospedeiro consiga reagir de modo a tornar esse estímulo de curta duração, presenciar-se-á o aparecimento de exsudações plasmáticas e de neutrófilos, característicos do processo agudo [11]. Por outro lado, a persistência do estímulo, promove o aumento nos graus de celularidade.

As lâminas do décimo dia de pós-operatório no grupo laser arseneto de gálio já não apresentam células inflamatórias e mostram quantidade satisfatória de osteoblastos e osteócitos. No grupo controle há presença de células inflamatórias e a quantidade de células osteogênicas é menor em relação ao grupo tratado da mesma data.

Figura 2 - Tabela ilustrativa do comportamento das variáveis dos grupos controle e laser no 10º dia pós-operatório.

10º PO	Controle	Laser	Laser
céls inflamatórias	2	0	0
osteoblastos	1	3	3
osteócitos	1	3	3
osteoclastos	0	0	0

Figura 3 - Figura macroscópica do 10º dia PO. Os dois exemplares da esquerda pertencem ao grupo controle e os da direita ao grupo laser.



No grupo Laser AsGa do vigésimo dia de pós-operatório, podemos ver a presença de osteoclastos, em quantidade leve, o que indica avanço no processo de remodelação, já no grupo Controle, observa-se menor quantidade de células inflamatórias e maior quantidade de osteoblastos e osteócitos, ainda não há presença de osteoclastos.

Figura 4 - Tabela ilustrativa do comportamento das variáveis dos grupos controle e Laser no 20º dia pós-operatório.

20º PO	Controle	Controle	Laser
céls inflamatórias	1	0	0
osteoblastos	2	2	2
osteócitos	2	3	3
osteoclastos	0	0	1

No trigésimo dia de pós-operatório, o grupo controle apresenta tecido ósseo primário adaptado às duas extremidades ósseas com osteoclastos em leve quantidade, mesma quantidade apresentada no grupo Laser do 20ºPO.

Ao comparar os grupos Laser AsGa e Controle podemos verificar aceleração do processo de formação de calo ósseo no grupo tratado até o 20º PO, pois a última data não pôde ser comparada em função da contaminação de uma das amostras.

Considerando apenas as amostras em que a estabilização foi satisfatória, sugere-se que a Laserterapia de baixa intensidade desempenhou papel importante no processo de consolidação, pois foi possível observar a aceleração do mesmo. Estes achados são similares a outros estudos [1,12-16]. Entretanto, é importante relatar que em outros estudos [7,9,17-19] essas diferenças não foram constatadas.

Conclusão

Este estudo procurou contribuir para esclarecer o comportamento da osteogênese sob o uso do laser arseneto de gálio, visto que a aplicação da laserterapia de baixa intensidade ainda gera controvérsias quanto ao seu uso a fim de acelerar o processo cicatricial ósseo.

Considerando os resultados obtidos no décimo e no vigésimo dia de pós-operatório, o laser arseneto de gálio, 904 nm, utilizado na dose de 10 J/cm², foi capaz de promover a aceleração do processo cicatricial ósseo em fraturas de fêmur com imobilização interna em ratos.

Referências

1. Carvalho DCL, Rosim GC, Gama LOR, Tavares MR, Tribioli RA, Santos IR, et al. Tratamentos não farmacológicos na estimulação da osteogênese. Rev Saúde Pública 2002;36(5):647-54.
2. Turek SL. Ortopedia princípios e sua aplicação. 4a ed. São Paulo: Manole; 1991.
3. Veçoso MC. Laser em Fisioterapia. 1a ed. São Paulo: Lovise; 1993.

4. Wanderer C. Avaliação clínica, macro e microscópica dos efeitos das radiações laser sobre o processo de cicatrização cutânea em cães [dissertação]. Santa Maria:Universidade Federal de Santa Maria; 1991. 64p.
 5. Cruañes JC. La terapia láser, hoy. Barcelona: Centro de Documentación Láser de Meditec; 1984.164p.
 6. Agne EJ. Eletrotermoterapia teoria e prática. 1a ed. Santa Maria: Orium; 2004.
 7. Matera JM, Tararunas AC, Oliveira SM. Uso do laser arseneto de gálio (904nm) após excisão artroplástica da cabeça do fêmur em cães. *Acta Cir Bras* 2003;18(2):102-06.
 8. Abergel RP, Meeker CA, Lam TS, Dwyer RM, Lesavoy MA, Ditto J. Control of connective tissue metabolism by laser: recent developments and future prospect. *J Am Acad Dermatol* 1984;11(6):1142-50.
 9. Giordano V et al. Influencia do laser de baixa energia no processo de consolidação de fratura de tíbia: estudo experimental em ratos. *Rev Bras Ortop*, 36(5): 174-178, 2001.
 10. Hebert S et al. Ortopedia e traumatologia - princípios e prática. 3ª ed. São Paulo: Artmed; 2003. 438p.
 11. Guidugli-Neto J. Elementos de patologia geral. São Paulo: Santos; 1997.
 12. Luger EJ et al. Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers Surg Med* 1998;22(2):97-102.
 13. Nicolau RA, et al. Effect of low- power laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. *Lasers Med Sci* 2003;18:89-94.
 14. Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone*1998;22(4):347-354.
 15. Pinheiro ALB et al. Effect of low level laser therapy on repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Braz Dent J* 2003;14(3):177-181.
 16. Yaakobi T, Maltz L, Oron U. Promotion of bone repair in cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (He- Ne) irradiation. *Calcif Tissue Int* 1996; 59:297-300.
 17. David R, Nissan M, Cohen I. Effect of low-power HeNe laser of fracture healing in rats. *Lasers Surg Med* 1996;19(4):458-64.
 18. Mazzanti A. Homoinplante ortotópico conservado, associado à terapia "soft laser" na reparação tenopatelar em cão. *Ciência Rural*. Santa Maria 2004;34(2): 429-437.
 19. Witz MI. O laser arseneto de gálio no tratamento de fistula oronasal iatrogênica, associado a enxerto ósseo autógeno em caninos. Santa Maria [dissertação]. Santa Maria: Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria; 1992.
-