

Artigo original

Efeitos do laser de 660 nm no reparo de ruptura parcial do tendão calcâneo de ratos

660 nm laser effect on repair of partial rupture of Achilles tendon in rats

Ana Claudia Bonome Salate*, Gisele Barbosa*, Paulo Sérgio Bossini*, Nivaldo Antonio Parizotto*

*Laboratório de Eletrotermofototerapia, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP

Resumo

O objetivo deste estudo foi analisar os efeitos do laser de baixa intensidade após ruptura parcial do tendão calcâneo. Dezoito ratos machos foram submetidos à lesão com queda de 186 gramas de uma altura de 20 centímetros sobre o tendão direito. Estes foram divididos em 3 grupos: 1 (n = 8) tratado com laser AsGaAl de 660 nm, com 10 mW, durante 10 segundos; 2 (n = 8) recebeu tratamento placebo e 3 (n = 8) não recebeu nenhum tratamento. No 8º dia após a lesão, os animais foram sacrificados e analisados qualitativamente. Os resultados mostraram que os tendões tratados com laser apresentaram melhor qualidade de reparo, com melhor organização das fibras colágenas, menor quantidade de células inflamatórias e aceleração do processo de cicatrização do tecido comparado com os demais grupos. Assim, concluímos que o laser foi eficaz no tratamento após lesão parcial do tendão calcâneo quando comparados com os grupos placebo e sem tratamento.

Palavras-chave: laser de baixa intensidade, tendão calcâneo, reparo tecidual, ruptura tendínea.

Abstract

The aim of this study was to analyze the low-level laser effect after partial rupture of Achilles tendon. Eighteen male rats were submitted to lesion by a falling of 186 g from a height of 20 cm above the right tendon. They were divided into 3 groups: 1 (n = 8) was treated by GaAlAs laser of 660 nm with 10 mW, during 10 seconds; 2 (n = 8) received sham treatment and 3 (n = 8) did not receive any treatment. On the 8th day of lesion, the animals were euthanized and analyzed qualitatively. The results showed that the groups treated with laser presented better repair quality with high collagen organization, low inflammatory cells, and accelerated tissue repair compared with other groups. Then, we have concluded that laser was an efficient form to treated partial ruptures of Achilles tendon in rats when compared with group control and non-treated group.

Key-words: low level laser therapy, Achilles tendon, tissue repair, tendon rupture.

Introdução

Nas últimas duas décadas aumentou a atenção dos clínicos na evidência biológica para acelerar o reparo tendíneo e esta informação tem mostrado uma grande influência nas estratégias adotadas para o tratamento das lesões [1].

O uso do laser de baixa intensidade no reparo de lesões tendíneas vem sendo estudado por vários pesquisadores [2,3,4], pois parece influenciar de forma benéfica a

aceleração do processo de cicatrização e a melhora da qualidade do reparo, proporcionando redução das possíveis seqüelas e o retorno rápido do indivíduo às suas atividades funcionais.

Baseada nos estudos científicos, esta modalidade terapêutica vem ganhando cada vez mais aceitação tanto no campo de pesquisa como na área clínica, o que reforça a importância de estudos bem controlados sobre seus reais efeitos e indicações.

Recebido 15 de fevereiro de 2005; aceito 15 de novembro de 2005.

Endereço para correspondência: Ana Claudia Bonome Salate, Rua Décimo Cassetari, 78 Vila Carmelo 18609-540 Botucatu SP, Tel: (16) 33715872/ (14) 38825807, E-mail: acbsalate@ig.com.br

A ruptura do tendão calcâneo tem recebido bastante atenção por vários pesquisadores. Esta atenção é baseada no fato de que, além de ser uma lesão grave, é uma das mais comuns dentre as lesões tendíneas [3].

Enquanto a maior parte dos tecidos moles cicatriza essencialmente por proliferação celular, os tendões requerem ao menos três processos separados, porém relacionados, que são: fase inflamatória, quando existe a presença de infiltrado inflamatório, fase proliferativa, onde ocorre intensa angiogênese e proliferação fibroblástica e a fase de remodelamento, onde é observada grande organização de fibras colágenas, hipocelularidade e recuperação da inervação normal [5, 6]. A fase inicial do reparo requer de 7 a 10 dias para ocorrer e a reabilitação completa pode exigir semanas ou meses [6].

Algumas pesquisas [7,8], relatam que o laser atua sobre o processo inflamatório, modulando a neovascularização e a proliferação fibrosa. Porém, estudos sobre os efeitos biológicos do laser ainda estão em um estágio em que mais evidências devem ser demonstradas [7,9].

Além disso, a grande dificuldade encontrada na prática clínica para definição de parâmetros como a dose e a potência mais adequadas e o tipo de laser mais efetivo para os diferentes tecidos biológicos em condições fisiológicas especiais, bem como a ação dessa forma de terapia na aceleração do processo cicatricial, proporcionando o retorno rápido do indivíduo às atividades funcionais, torna visível a necessidade de realizar mais pesquisas nesta área.

Assim, a proposta deste estudo foi analisar os efeitos do laser de baixa intensidade no reparo tecidual, objetivando determinar um modo eficaz de promover um tratamento adequado após uma lesão parcial do tendão calcâneo.

Materiais e métodos

Foram utilizados 18 ratos machos da raça Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com massa corporal variando entre 235 e 270 gramas ($249,15 \pm 11,83$), mantidos em gaiolas de polipropileno com três animais em cada, em ambiente higienizado com ciclo claro/escuro de 12 horas, recebendo água e ração balanceada *ad libitum* durante todo o procedimento.

Todos os animais foram lesionados e divididos aleatoriamente em 3 grupos: grupo 1 (n = 6) que sofreu irradiação por 7 dias com laser AsGaAl, 660nm de 10 mW, durante 10 segundos; grupo 2 (n = 6) submetido ao tratamento placebo com o aparelho desligado; e grupo 3 (n = 6) não recebeu tratamento algum, sendo considerado controle sem tratamento.

Procedimento de lesão

Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de Ketamina (35 mg/kg) e Xilazina (4mg/kg) e em seguida a perna direita foi levemente tracionada e o tendão posicionado no equipamento de lesão (Figura 1).

Figura 1 - Modelo de lesão parcial do tendão calcâneo.



Um peso de 186 gramas foi solto, de uma altura de 20 cm sobre o tendão e em seguida foi removido, resultando em energia potencial de queda de 364,9 mJ. O peso e a altura foram determinados em estudos prévios neste laboratório, porém não publicados. Estes estudos mostraram que a localização da lesão foi na região profunda do tendão.

Equipamento laser

Foi utilizado um equipamento portátil de laser AsGaAl da marca MMOptics, modelo Twin Laser, classe 3B, com comprimento de onda de 660 nm na faixa vermelha do espectro, modo contínuo e área do feixe de 4,0 mm².

Os animais do grupo 1 receberam a primeira irradiação no mesmo dia, aproximadamente 6 horas após a lesão e as subsequentes durante os próximos 6 dias com intervalo de 24 horas entre cada aplicação, totalizando 7 irradiações. Foi utilizada a técnica de contato e potência de saída de 10 mW, durante 10 segundos, proporcionando densidade de energia de 2,5 J/cm². O grupo 2 recebeu tratamento com o equipamento desligado durante 10 segundos, sendo, portanto, considerado placebo. Já os animais do grupo 3 permaneceram todos os dias dentro das gaiolas sem receber nenhum tratamento.

No 8º dia após a lesão, os animais de todos os grupos foram sacrificados com inalação excessiva de éter etílico e os tendões retirados e mantidos em formol a 10 % para análise morfológica.

Preparação das amostras

O material foi submetido a banhos de desidratação e diafanização em soluções de álcool e xilol, respectivamente e colocados em parafina. Foram feitos cortes de 7 micrômetros e as lâminas posteriormente coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) para a análise.

Os tendões foram analisados qualitativamente em microscópio de luz comum da marca Olympus, onde foram observadas a presença de infiltrado inflamatório e organização das fibras de colágeno e condições do tecido.

Resultados

De acordo com a análise qualitativa efetuada, o grupo irradiado mostrou que os tendões tratados com laser apresentaram melhor qualidade de reparo, com melhor organização das fibras colágenas em relação aos grupos placebo e controle sem tratamento após 7 dias.

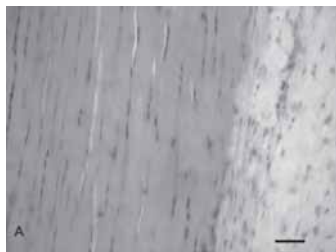
Além disso, foi também evidenciada menor predominância de células inflamatórias no grupo irradiado em relação aos demais grupos.

O grupo placebo apresentou menor predominância de células inflamatórias e melhor organização das fibras colágenas em relação ao controle sem tratamento. Entretanto, a qualidade do reparo tendíneo no grupo placebo foi inferior ao do grupo irradiado como demonstrado na Figura 2 A, B e C abaixo.

A Figura 2 A demonstra o grupo tratado com laser, evidenciando um tecido mais organizado, com maior quantidade de fibroblastos em relação ao grupo placebo (FIGURA 2 B) e sem tratamento (Figura 2 C).

Figura 2 - Fotomicrografia do tendão calcâneo de ratos (HE). A: Tendão calcâneo irradiado com laser 10 mW, mostrando organização de colágeno e pouca quantidade de células inflamatórias. **B:** Tendão calcâneo que recebeu tratamento placebo, com desorganização de fibras e maior número de células inflamatórias. **C:** Tendão calcâneo que não recebeu tratamento algum, com grande desorganização de fibras e maior número de células inflamatórias.

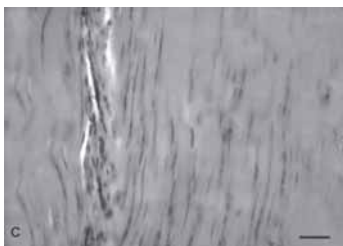
A:



B:



C:



Discussão

Os resultados deste estudo demonstraram que a irradiação com laser de baixa intensidade foi um meio de tratamento eficiente durante os primeiros 7 dias após lesão parcial do tendão calcâneo de ratos, podendo evidenciar aceleração no reparo tecidual devido à menor predominância de infiltrado inflamatório e maior organização das fibras colágenas quando comparados com os grupos placebo e controle sem tratamento.

Algumas pesquisas [2,3,4,6], sugerem que a fotostimulação laser de baixa intensidade pode estimular o reparo tendíneo por favorecer a liberação de fatores de crescimento dos fibroblastos e estimular o processo cicatricial, além de aumentar a síntese de ATP, promover a produção de ácidos nucléicos e aumentar a divisão celular.

O aparecimento precoce da morfologia ondulada nas fibras colágenas de tendões lesados induzidas pela irradiação laser propicia uma influência significativa na performance funcional dessa estrutura corporal [2,3,4]. Também é reportado que a LLLT aumenta a microvascularização ao mesmo tempo em que acelera a proliferação fibroblástica, melhorando assim a qualidade do reparo [10]. Os resultados deste trabalho corroboram os dados da literatura, sob as condições aqui estudadas.

Segundo Mester *et al.* [11], o laser de baixa intensidade aumenta a proliferação celular e acelera a formação precoce do tecido de granulação. Os mesmos autores sugerem que as vias metabólicas são as responsáveis por este efeito cicatrizante em decorrência principalmente do aumento da disponibilidade de energia química (ATP) nas células. Outros autores [12], consideram que com o aumento da proliferação de fibroblastos, a fase proliferativa do reparo pode ser acelerada.

Paolini & Paolini-Pisani [11], observaram um efeito positivo do laser de He-Ne (632,8 nm) no tratamento de tendinite de tendões do manguito rotador, quando comparado com o tratamento com diodo laser não-coerente (660 nm) e o uso de antiinflamatórios não esteroidais. Além disso, outros autores [2], estudaram o efeito do laser de He-Ne (632,8 nm) e da estimulação elétrica em tendões tenotomizados de coelhos mostrando melhora na performance biomecânica e bioquímica desses tendões após a terapia combinada.

Schmitt *et al.* [8], realizaram um experimento em trinta cães que foram submetidos a tenotomia e tenorrafia do tendão calcâneo de ambas as patas. Os autores relataram que macroscopicamente os tendões tratados com laser Arseneto de Gálio (904 nm) apresentaram melhor vascularização, com redução de aderências e ótimo aspecto estético de cicatrização.

De acordo com Longo & Mester [10], permanece ainda uma lacuna de conhecimentos sobre as melhores condições de atuação do laser de baixa intensidade no reparo tecidual

[10], mas neste estudo, pode ser observada uma demonstração de que este método terapêutico influencia positivamente a etapa inicial do processo de reparo das lesões tendíneas.

Devido à grande diversidade de resultados e ausência de padronização de protocolos de tratamento, ainda há dificuldade na interpretação dos dados e a relação destes com os efeitos da laserterapia em cada tecido. Porém, este meio de tratamento tem um grande futuro na prática clínica, necessitando de estudos mais detalhados para determinar mais precisamente os efeitos proporcionados no tecido biológico.

Conclusão

Com base neste estudo, pode-se concluir que a terapia com laser de baixa intensidade foi eficaz na promoção de melhor qualidade de reparo tendíneo após ruptura parcial induzido por um trauma.

Referências

1. Palmes D *et al.* Achilles tendon healing: Long-term biomechanical effects of postoperative mobilization and immobilization in a new mouse model. *J Orth Res* 2002;20: 939-46.
2. Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS. Laser Photostimulation of collagen production in healing rabbit Achilles tendons. *Las Surg Med* 1998;22:281-87.
3. Stehno-Bittel L, Reddy GK, Gum S, Enwemeka CS. Biochemistry and biomechanics of healing tendon: Part I. effects of rigid plaster casts and functional casts. *Med Sci Sports Exe* 1998;30:788-793.
4. Enwemeka CS, Rodriguez OO, Gall NG, Walsh NE. Morphometrics of collagen fibril populations in HeNe laser photostimulated tendons. *J Clin Laser Med Surg* 1990;8:47-62.
5. Enwemeka CS. Inflammation, cellularity, and fibrillogenesis in regeneration tendon: implications for tendon rehabilitation. *Phys Ther* 1989;69:816-25.
6. Soma CA, Mandelbaum BR. Repair of acute Achilles tendon ruptures. *Orth Clin N Am* 1995;26:239-47.
7. Honmura A, Yanase M, Obata J, Haruki E. Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. *Las Surg Med* 1992;12:441-9.
8. Schmitt I, Raiser AG, Graça DI, Castagna CD, Gehver C, Maiorka P. Os efeitos da radiação laser de arseneto de gálio (AsGa) sobre a regeneração de tendões em cães. *Braz J Vet Res Anim Sci* 1993;30:145-9.
9. Kipshidze N, Nikolaychik V, Keelan M, Shankar LR, Khanna A, Kornowski R, Leon M, Moses J. Low-power helium: neon laser irradiation enhances production of vascular endothelial growth factor and promotes growth of endothelial cells in vitro. *Las Surg Med* 2001;28:355-64.
10. Longo L, Mester A. Present and future of laser cicatrization. In: *Proceeding 2nd Congress World Association for Laser Therapy*. Kansas City, Missouri, USA; 1998. p. 10-11.
11. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Las Surg Med* 1985;5:31-9.
12. Young S *et al.* Macrophage responsiveness to light therapy. *Las Surg Med* 1989;9: 497-505.
13. Paolini DE, Paolini-Pisani LE. Tratamiento de la lesion del tendon manguito de los rotadores con laser de baja potencia – estudio prospectivo. [citado 2004 may 25]. Disponível em URL: <http://www.laser.nu/llt/llt-science7.htm#5>.
14. Enwemeka CS, Reddy K. The biological effects of laser therapy and other physical modalities on connective tissue repair processes. *Laser Ther* 2000;12:22-30.