LESÕES TRAUMÁTICAS EM FEMORES DE RATOS
"AVALIAÇÃO RADIOLÓGICA APÓS TRATAMENTO COM *LASER* DE BAIXA POTÊNCIA"

Danillo Barbosa[1], Luíz Henrique Gomes Santos[2], Renato Aparecido Souza[3],
Andrey Pereira Pernanbuco[4], Roberta Avelar Araújo[5]
[1,3] UNIVAP; [1,4,5] UNIFOR; [2] UNIFEG, [3] ASMEC; [3] UNIVÁS; [3] UNIPAC[3]

RESUMO

Estudos realizados sobre lesões no atleta profissional relatam que traumas diretamente no sistema ósseo são responsáveis por 45% dos afastamentos de atletas, sendo esses traumas fechados ou abertos. A radiação laser de baixa potência tem apresentado efeitos positivos na cura de fraturas ósseas, baseado em medidas morfogênicas, bioquímicas, radiográficas e ao microscópio eletrônico. Desta forma, o presente estudo objetivou avaliar radiologicamente o processo de regeneração óssea utilizando dos comprimentos de ondas diferentes (660nm e 830nm), com o intuito de diminuir o tempo de afastamento dos atletas com fraturas ósseas. Os animais foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos: Controle n=15, G660 Grupo Tratado n=15 e G830 Grupo Tratado n=15. Todos os animais foram submetidos à osteotomias no fêmur direito utilizando a trefina de 2.8mm de diâmetro. Os tempos experimentais instituído foram de 7 e 21 dias. O tratamento consistiu no emprego da laserterapia com intervalos de 48 horas entre as aplicações, sendo a 1ª aplicação imediatamente após o término dos procedimentos. Os parâmetros utilizados foram: densidade de energia 40Jcm^2, Potência 5,0 x 10^{-3}W, comprimento de onda 660nm e 830nm, área do feixe 0,08cm^2, distância da pele 01cm e tempo de 40 por ponto. Para as tomadas radiográficas utilizou-se o parelho de raios X digital 765 DC® Gendex. Os valores obtidos das médias das densidades ópticas de cada uma das amostras foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de comparação múltiplia (Tukey-Kramer). Os resultados observados nas tomadas radiográficas mostram-nos que os grupos GC, G660 e G830 no tempo experimental de 7 dias apresentaram uma evolução óssea significativa entre si $p<0,0116$, destaca-se o G830 que apresentou a maior densidade óptica. No tempo experimental de 21 dias observa-se o melhor desenvolvimento de todos os grupos com uma maior reparação óssea principalmente dos G660 e G830 apresentando valores significativos $p<0,0169$. Sugere-se que a terapia laser de baixa potência com o comprimento de onda de 830nm demonstrou ser mais eficaz nos 2 períodos experimentais no estudo, de acordo com as tomadas radiográficas digitais que apresentaram um maior aumento na radiopacidade e uma melhor morfologia das amostras.

Palavras chave: Reparo ósseo, Laserterapia e Avaliação Radiológica

INTRODUÇÃO

O laser foi citado por Mester e colaboradores (1985) como uma das descobertas mais significativas do século XX no campo de ciência médica. Isto envolve novas perspectivas nas áreas de pesquisa biológica e aplicação na área médica. O laser de baixa intensidade foi utilizado como estímulo para a proliferação celular por Mester e colaboradores (1985), seu efeito estimulante foi primeiramente utilizado no tratamento de feridas e atualmente este recurso terapêutico é investigado no reparo de diversos tecidos biológicos, incluindo o tecido ósseo, sendo este o menos estudado. Os efeitos da radiação eletromagnética como o laser de baixa intensidade, no crescimento e reparo ósseo, têm sido investigados de maneira limitada, segundo Baruska e colaboradores (1995).

A terapia laser de baixa potência vem sendo usada cada vez mais na medicina em geral e sugere-se que seu efeito pode ser benéfico na resolução de muitas condições patológicas diferentes como na ortopedia, neurologia e reumatologia (KHADRA, 2005).

Os mecanismos biológicos relacionados a irradiação em tecido ósseo ainda não estão claramente bem definidos. Uma hipótese foi descrita por Lubart *et al.* 1992; e Freitas *et al.* 2000, onde os mesmos descrevem que a energia laser excita as porfirinas e os citocrómos, que são

cromóforos intracelulares, promovendo um aumento da atividade celular, aumentando a concentração de adenosina trifosfato (ATP), fosfatase alcalina e liberando cálcio.

O laser de baixa intensidade pode promover maior velocidade nos processos de cicatrização e reparo, aceleração da neovascularização, maior formação do tecido de granulação, aumento no número de fibroblastos, maior número de fibras colágenas, aumento na síntese de ATP, liberação de histamina pré-formada, redução do pH intracelular e alterações na proliferação e motilidade celular, fagocitose, reposta imune e respiração (KITCHEN; PARTRIDGE, 1991).

Trelles e Mayayo (1987) sugeriram que o laser de baixa potência pode modular a função de osteócitos, promovendo a aceleração do metabolismo e formação mais rápida do calo ósseo. A radiação laser de baixa potência tem apresentado efeitos positivos na cura de fraturas ósseas em animais baseado em medidas morfogênicas, bioquímicas, radiográficas (LUGER *et al.,* 1998), a laserterapia não só diminuiu o tempo de reparo como também produziu uma maior área de reparo ósseo (FREITAS *et al.,* 2000). A utilização da radiação laser de baixa potência no reparo tecidual pode ser observada em alguns estudos em ratos como modelos experimentais apresentando resultados positivos (YAAKOBI, MALTZ, ORON, 1996; NICOLAU, 2003).

Esta pesquisa objetivou avaliar a ação da laserterapia utilizando dois comprimentos de ondas diferentes (660nm e 830nm) em traumas nos femores de ratos, sendo o foco principal do estudo a observação do processo de reparo ósseo através de tomadas radiográficas digitais, intuito de diminuir o tempo de afastamento de atletas por fraturas de pequeno ou grande porte.

DESCRIÇÃO METODOLÓGICA

Amostra Experimental

O presente trabalho foi desenvolvido em obediência as Normas para Experimentação Animal e de acordo com os Princípios Éticos de manuseio e cuidado com animais de laboratório preconizados pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), descritos por Cardoso (2004). Além disto, adotou as normas para prática didático-científica de vivissecção de animais (Lei 6638 de 08/05/1979), obtendo aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade do Vale do Paraíba sob o protocolo n^{o} L213-2006.

Para este estudo foram utilizados 45 ratos Wistar, *Rathus Norvegicus* e peso de 250 gramas. Os animais passaram por período de quatro dias de ambientação no Biotério de passagem do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D) UNIVAP, em ambiente climatizado (23° C), umidade relativa (40 a 60%) e fotoperíodo (ciclo de 12 horas claro-escuro) controlados, sendo os mesmos alimentados com ração e água a vontade. Os animais foram divididos aleatoriamente, em 3 grupos, descritos na tabela 1:

Tabela 1 – Grupos Experimentais

Grupos	n	Procedimentos	Tempos Experimentais			Tratamento
			7 (n)	14 (n)	21 (n)	
Controle (C)	**15**	**Osteotomia**	**5**	**5**	**5**	**Nenhum**
Laser (L660)	**15**	**Osteotomia**	**5**	**5**	**5**	**48hs-48hs**
Laser (L830)	**15**	**Osteotomia**	**5**	**5**	**5**	**48hs-48hs**

Procedimentos Cirúrgicos

Os procedimentos foram realizados em sala cirúrgica IP&D, sendo realizada uma cuidadosa desinfecção da sala cirúrgica utilizando-se álcool 70%. Todos os envolvidos no procedimento utilizaram vestimentas adequadas como aventais, gorros, luvas e máscaras. Todos os materiais utilizados nas cirurgias foram colocados em embalagens adequadas devidamente seladas, passando por processo de esterilização em autoclave (Sercon) ciclo 2, por 45 minutos à 120ºC. No dia da cirurgia os animais receberam uma medicação pré-anestésica com injeção intramuscular (seringa e agulha estéril descartável – BD®) de Acepromazina (Acepran 0,2% Univest S.A.) na dose de 0,02ml/Kg e Butorfanol® (Lab Forte Dodge Ltda) na dose de 0,01ml/Kg. Após 15 minutos foi aplicado o anestésico Zoletil 50® (Virbac) na dose de 0,1ml/Kg através de injeção intramuscular com seringa de insulina descartável (Becton Dickson Indústrias Cirúrgicas Ltda) na região medial do quadríceps contralateral. Todos os animais foram submetidos à realização da osteotomia na região do fêmur direito. Após a anestesia descrita anteriormente, os animais foram submetidos à tricotomia na região com uma navalha e aplicação de solução tópica de polividona Iodo - PVP-I 10% (LM FARMA®).

Para a aplicação da laserterapia os animais não receberam nenhuma medicação. Eram posicionados em decúbito lateral sobre uma plataforma e imobilizados manualmente. A laserterapia foi realizada a cada 48 horas, sendo que a 1ª aplicação se deu imediatamente após o procedimento cirúrgico. Foram irradiados 3 pontos na região desejada com 40 segundos cada ponto. Os animais do grupo controle receberam o mesmo tipo de manipulação que os animais irradiados, porém com o equipamento desligado.

Protocolo de Irradiação do laser

Parâmetros de Irradiação	Valores
Densidade de Energia (DE)	40 J/cm2
Potência	$5,0 \times 10^{-3}$W
Comprimento de Onda	660nm/830nm
Área de Feixe	0,8cm^2
Distância da Pele	01cm
Tempo	40 segundos
Número de Pontos	3 pontos por animal

Períodos Experimentais

Após o período de tratamento instituído para cada grupo experimental de 7 e 21 dias, os animais dos respectivos grupos foram submetidos à eutanásia. Para tanto os animais receberam uma medicação pré-anestésica, cujo intuito era de promover a anestesia por ação depressora no Sistema Nervoso Central (SNC), deixando os animais sem qualquer tipo de estresse advindo do meu externo. Após uma injeção intramuscular de Acepromazina (Acepran 0,2% Univest S.A.) na dose de 0,02 ml e Butorfanol® na dose de 0,01 ml, passados 10 minutos os animais foram sacrificados através da administração de cloreto de potássio (KCL) 20% intracárdico.

Tomadas Radiográficas

Para as tomadas radiográficas dos femores foi utilizado o aparelho de raios X digital 765 DC® Gendex com os seguintes paramentros: 65 kVp, 7mA, e 0,032s de tempo de exposição. Para captação das imagens, utilizou-se um sistema de radiografia digital direto, que emprega o dispositivo de carga acoplada (CCD): o *RVG (Trophy Radiologie, Vincennes, Toulose, France.*

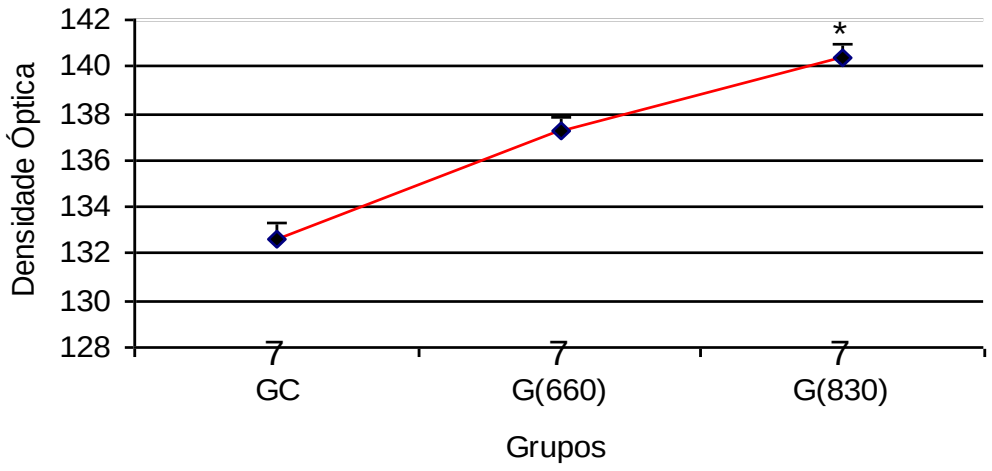
Análise Estatística

Os valores médios das leituras ópticas foram submetidos à análise de variância ANOVA, seguido pelo teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer, quando necessário. Os resultados foram expressos com média ± erro padrão da média (Média ± E.P.M), sendo os valores de $p \leq 0,05$ (5%) considerados significantes.

Descrição dos Resultados

7 dias

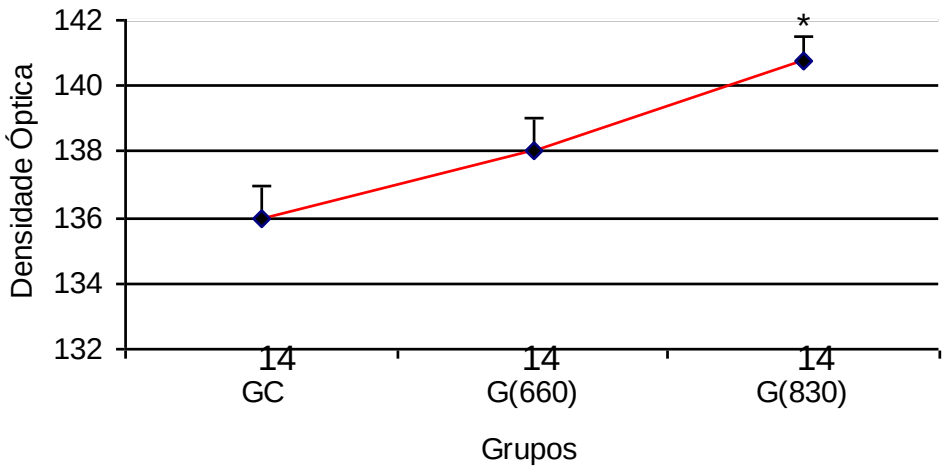
A análise estatística dos valores obtidos referentes a densidade óptica obtida dos grupos em estudo, GC, G(660) e G(830), permitiu avaliar e comparar a existência ou não de alterações na morfologia e na radiopacidade das tomadas radiográficas da amostra de cada espécime no tempo experimental de 7 dias. A obtenção das médias absolutas de densidade óptica revelou um aumento gradativo na morfologia e um aumento na radiopacidade das tomadas radiográficas.



Valores médios da densidade óptica em relação ao tempo experimental de 7 dias, média ± E.P.M. GC, G660 e G830 respectivamente. (n=5 e P< 0,0001).

14 dias

Os grupos GC, G660 e G830 no tempo experimental de 14 dias e com 5 aplicações de laserterapia, foi observado uma mudança perceptível na morfologia da amostra dos espécimes, ressalta-se o aumento na radiopacidade das tomadas radiográficas, expressando um resultado estatisticamente significativo.



Valores médios da densidade óptica em relação ao tempo experimental de 14 dias, média ± E.P.M. GC, G660 e G830 respectivamente. (n=5 e P< 0,0116).

CONCLUSÃO

Desta forma, este estudo sugere que:

- A terapia laser de baixa potência com o comprimento de onda de 660nm, nos parâmetros utilizados no presente estudo, demonstrou acelerar o processo de reparo ósseo em defeitos ósseos cirúrgicos quando comparado ao grupo controle.
- A terapia laser de baixa potência com o comprimento de onda de 830nm, nos parâmetros utilizados no presente estudo, demonstrou acelerar o processo de reparo ósseo em defeitos ósseos cirúrgicos quando comparado ao grupo controle.
- A terapia laser de baixa potência com o comprimento de onda de 830nm, nos parâmetros utilizados no presente estudo, demonstrou ser a mais eficaz em todos os tempos experimentais estudados, apresentando aumento significativo na densidade óptica e melhor morfologia final da loja cirúrgica.
- Com isso, podemos considerar que em fraturas em ossos longos ou curtos provocados por trauma, podemos estar utilizando como tratamento principal a terapia laser de baixa intensidade para diminuir o tempo de afastamento de atletas de profissionais ou não.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARUSKA, O.; YAAKOBI, T.; ORON, U. Effect of low-energy laser (He-Ne) irradiotion on the process of bone repair in the rat tibia. **Bone**, v. 16, n.1, p. 47-55, 1995.

FREITAS, I.G.F.; BARANAUSKAS, V.; CRUZ-HOFLING, M.A. Laser effects on osteogenesis**.** **Applied Surface Science**, v.5, n. 12, p. 548-551, 2000.

KHADRA, M. The effect of low level laser irradiation on implant-tissue interaction. In vivo and in vitro studies. **Swedish dental journal**. v. 172, n. 2, p. 1-63, 2005.

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

LUBART, R. *et al.* Effects of visible and near-infrared lasers on cells cultures**. Journal oh Photochemistry and Photobiology B**. v. 12, n. 3, p. 302-310, 1992.

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

MESTER, E.; MESTER, A.F.; MESTER, A . The biomedical effects of laser application**. Laser in Surgery and Medicine**, v. 5, n.3, p. 31-39, 1985.

NICOLAU, R.A. Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. **Lasers Medicine Science.** v. 2, n. 18, p. 89-94, 2003.

TRELLES, M.A.; MAYAYO, E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 7, n.6, p. 36-45, 1987.

YAAKOBI, T; MALTZ, L; ORON, U. Promotion of bone repairs in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (HeNe) irradiation. **Calfif. Tissue Int**. v.59, n. 12, p. 297-300, 1996.